

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ZENCEFİL EKSTRESİNİN SAFRA YOLLARI BAĞLANARAK
OLUŞTURULAN KARACİĞER HASARINDA KORUYUCU
ETKİLERİ**

**DR. EMRAH ALTUĞ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. KAAAN SÖNMEZ**

**ANKARA
MART 2010**

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi.....	3
Safra yolları Anatomisi ve Histolojisi.....	6
Safra Fizyolojisi.....	8
Transaminazlar.....	13
Apoptozisin tanımı ve Tarihçesi.....	16
Zencefil (Gingiber Officinalis).....	24
GEREÇLER ve YÖNTEM.....	26
BULGULAR.....	33
TARTIŞMA.....	37
ÖZET.....	43
SUMMARY.....	44
KAYNAKLAR.....	45

GİRİŞ

Çocukluk çağında görülen sarılıklarının cerrahi açıdan önemli bir bölümü tıkanma sarılıklarıdır. Tıkanma sarılıkları, karaciğerde yaptıkları hasar ile ciddi mortalite ve morbiditeye sebep olmaktadır. Bunların içinde en sık biliyer atrezi, koledok kisti, interlobüler biliyer hipoplazi (Alagille sendromu), safra tıkaçı sendromu, total parenteral beslenme, ekstrahepatik safra yollarının spontan perforasyonu, dış safra yollarına dışarıdan bası(tümör), intrahepatik safra yollarının konjenital dilatasyonu (Caroli hastalığı) sayılabilir.⁽¹⁰⁾

Akolik gayta, koyu idrar, büyük ve sertleşmiş bir karaciğer ile vaktinde doğan bebeklerde 2 haftayı aşan, prematürelde 3 haftayı aşan sarılıklar aksi ispatlanmadıkça cerrahi tedavi gerektiren tıkanma sarılıklarını düşündürür.⁽³⁾ Dünyada pediatrik grupta yapılan transplantasyonların en sık sebebi biliyer atrezidir.⁽⁷²⁾ Karaciğer, yoğun metabolik aktivitesi nedeniyle organizmanın homeostazının sağlanması açısından önemli organlardan biridir ve karaciğer dokusunda meydana gelen bir hasar tüm vücudu etkiler. Karaciğerde staz sonucu; hepatositlerde dejenerasyon, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, kanama pıhtılaşma sürelerinde uzama, kanama diyatezi riskinin artması, bilirubin yüksekliğine bağlı mental değişiklikler meydana gelir.^(20,35) Bu yüzden, bu hastalıklar sonucunda gelişen veya gelişebilecek karaciğer hasarı ve sirozunu engellemeye ya da azaltmaya yönelik tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur.

Zencefil (*Zingiber officinalis*), Güneydoğu Asya'da yetişen ve yıllardır insanların tıbbi amaçlarla kullandıkları bir bitkidir. Zencefilin yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar, antiplatelet, antioksidan, antimikrobial, antiinflamatuvar, antiemetik, radyoprotektif, gastrokinetik, kolegog (safra akımını artırıcı) etkileri tespit edilmiştir.⁽⁸⁵⁾

Bu çalışma da ratlarda safra yolları bağlanarak tıkanma sarılığı oluşturulan karaciğer hasarı modelinde zencefil ekstresinin koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

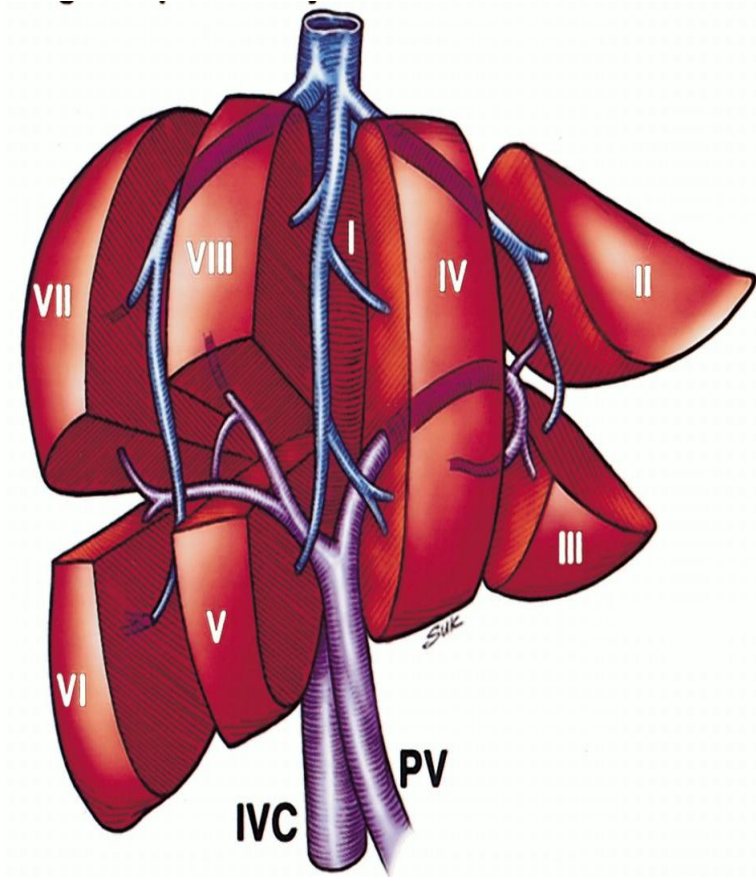
GENEL BİLGİLER

Ortak safra kanalının tıkanıklığı sonrası, barsağa safra akımının engellenmesi, safranin karaciğer hücreleri ve safra kanalları içerisinde birikimine neden olur. Enterohepatik döngünün bozulması sonucu, normalde safra ile atılan zararlı maddeler kanda birikirler. Bunların başında bilirubin pigmenti gelmektedir. Kanda bilirubin düzeyinin artması sonucu deri, skleralar, mukozalar ve vücut sıvılarının sarı bir renk alması sarılık olarak adlandırılır.

Safra yolu tıkanıklığı sonrasında kan bilirubin düzeyi artar, dışkı ve idrarda ürobilinojen azalır veya hiç yoktur. Karaciğer fonksiyon testleri sarılığın ilk devrelerinde normaldir, tıkanma uzun sürerse karaciğer fonksiyonları bozulabilir, Alanin Amino Transferaz (ALT) ve Aspartat Amino Transferaz (AST) tıkanma sarılığında az miktarda yükselirken, Alkalen Fosfataz (ALP) belirgin olarak yükselmiştir. Safra yolu tıkanıklığı durumunda, klinik ve laboratuvar sonuçları, direkt batın grafisi (kalsiyum bilirubin taşları görülebilir), ultrasonografi, MR-CP, bilgisayarlı tomografi ve kolesintigrafi ile desteklenerek tanı konulur.

1- KARACİĞER ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ

Karaciğer, 1200-1600 gr arasında değişen ağırlığı ile vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Sağ hipokondrium ve epigastriumdan sol hipokondriuma doğru uzanım gösterir. Üst yüzü diafragma alt yüzüne uymakta, alt yüzü ise batın üst bölümündeki organların üzerinde yer almaktadır. Karaciğer alt yüzü sağda duodenum, kolon, sağ böbrek ve surrenal ile; solda özofagus ve mide ile komşudur. Arka yüzü v.kava inferior'a bitişik ve diafragmaya doğrudan temas halinde bulunan bir alan dışında (area nuda)tamamen periton ile kaplanmıştır. Karaciğer portal triadın dalları tarafından kanlanan segmentlere ayrılır ve hepatik venler ile drene olur. 1957 yılında Couinaud tarafından tanımlanan bu anatomik ayırımında sol ve sağ loblar arasındaki anatomik bölünme safra kesesi yatağının medial kenarından arkada vena kavaya olan hattı takip eder. Bu sınıflamaya göre üç segmentli sol lob; sol medial segment(segment IV) ve sol lateral segmentleri(segment II ve III) içerir. Sağ lob portal ven ve hepatik arterin dallarına göre dört segmente ayrılır. Anterior-inferior (segment V), posterior-inferior(segment VI), posterior-superior(segment VII) ve anterior-superior(segment VIII). Kaudat lob(segment I) arkada sağ ve sol hepatik loblar arasında ayrı vasküler yapılar ile yerleşmiştir. Segmentler arasında üç ana hepatik ven karaciğerin üst kısmında vena kavaya açılır.⁽⁴⁵⁾



Şekil-1:Karaciğer lobları

A.hepatika kominis, turunkus çöliakus'dan çıkar, hepatoduodenal ligament boyunca yükselir ve hilusta sağ ve sol dallarına ayrılmadan önce a. gastrika dekstra ve a. gastroduodenalis'i verir ve daha sonra karaciğere girer. Karaciğere gelen kanın % 25i a.hepatika ile % 75' i ise v. porta ile gelir. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşır. V.mezenterika superior ile v. lienalis'in birleşmesinden oluşur. Karaciğer lobüllerindeki santral venlerin son ortak yolları hepatik venlerdir. Sol, sağ ve orta olmak üzere üç ana hepatik ven vardır. Orta hepatik ven, sol lobun medial segmenti ile sağ lobun anterior segmentinin alt kısımlarını drene eder. Sol hepatik ven, sol lobun lateral segmentini, sağ hepatik ven ise sağ lobun posterior segmentini ve anterior segmentinin büyük bir kısmını drene eder. Orta

hepatik ven, sol ve sağ hepatik ven ile birleşir ve v.kava inferior'a dökülür. Yüzeyel lenfatikler lobüllerin yüzeyel kısımlarından başlayıp kapsülün altından geçerek diafragma ve karaciğerin asıcı ligamentleri yoluyla posterior mediastene girer. Lobüllerin derin kısımlarından kaynaklanan lenfatikler hepatik venleri takip ederek veya portal venlerle birlikte porta hepatis'e ulaşarak sisterna siliye oradan da duktus torasikus'a drene olur. Karaciğer medulla spinalis'in T9-L1 segmentlerinden gelen sempatik; sağ ve sol vagustan gelen parasempatik liflerle innerve olur.^(45,74)

Karaciğer histolojisi

Karaciğer, elastik ve kollajen dokulardan yapılı kalın bir kapsül ile örtülüdür. Glisson kapsülü adıyla bilinen bu kapsül, tabakalar halinde sıralanmış olan ve aralarında sinüzoid adıyla bilinen bir kılcal sistemin yer aldığı süngerimsi hücre kitlesini örter. Sinüzoidler, iç yüzlerini örten endotelin özel fagositlerle döşenmiş olması Kupffer hücresi ve makromoleküllere karşı daha fazla geçirgenlik göstermesi nedeniyle sistemik kılcal damarlardan ayrılır. Karaciğer hücre tabakaları besin maddeleri ve metabolizma ürünlerinin rahatça alışverişini sağlayacak şekilde sinüzoidlerle ilişki halindedir.

Mikroskopik incelemede karaciğer parankiması, sınırları tam belirli olmayan lobüller halinde görülür. Her lobülün merkezinde karaciğerden kalbe kan taşıyan karaciğer dışı kan akım sisteminin bir dalı olan santral ven yer alır. Bu santral venler giderek genişleyen sublobuler venlerle infrahepatik venlere drene olur ve en sonunda v.kava inferior'a katılan v.hepatika'yı oluştururlar. Periferde bir çok lobül arasında yer alan bir bağ dokusu topluluğu vardır. Portal traktus veya portal triad adıyla bilinen bu doku topluluğu içinde v. porta, a. hepatika ve safra kanalikülleri yer alır. V.porta ve a. hepatika'nın dalları bir seri bölünmeden sonra daha küçük dallara ayrılarak doğrudan sinüzoidlere dökülür. Safra yolları sistemi, hücre zarının bir bölümünü oluşturan ince safra kanalikülleri olarak başlar. Safra, hepatositler tarafından bu kanaliküllere

drene olur. Safra kanalikülleri yoluyla intralobüler duktuslara ve daha sonrada portal traktus içindeki büyük safra kanallarına dökülür.⁽⁴³⁾

2-SAFRA YOLLARI ANATOMİSİ ve HİSTOLOJİSİ

Ekstrahepatik safra pasajı, sağ ve sol hepatik kanallar, ana hepatik kanal, safra kesesi, sistik kanal ve koledoğu içerir (Şekil-2).⁽⁶¹⁾

Safra kesesi, karaciğer'in alt yüzünde sağ ve sol lobları ayıran olukta yerleşmiştir. Erişkinlerde 4-14 cm uzunluğunda (ortalama 8,5 cm) ve 3 cm genişliğindedir. Ortalama kapasitesi 30-50 ml'dir. Fundusu ve gövdenin 2/3'ü periton ile çevrelenmiştir ve görülebilir. Safra kesesi boyun kısmının yapısına göre varyasyonlar gösterir. Boyun kısmı uzunsa, safra kesesi tubuler bir yapıdadır. Boyun kısmı kısa ve genişse, sakküler veya sferik şekildedir.

Safra kesesi değişik varyasyonlarda olabilir: Retroperitoneal, transvers, suprahepatik yerleşimli olması, "vesica divisa" denilen çift safra kesesi, aksesuar safra kesesi, "Rokitansky-Aschoff Sinüs'ü" denilen psödodivertikülüm, genişlemiş intramural uzantı şeklinde olan "Luscka" kanalı, safra kesesi ve sistik kanalın konjenital yokluğu bunlar arasında sayılabilir.

Sistik kanal, 3-5 cm uzunluğunda, 2,4-4 mm genişliğindedir. Pars spiralis denilen başlangıç kısmı, dar, mukoza kıvrıntısı gibidir, kanüle etmek zordur. Sonraki kısım sinüzoid eğim olarak tanımlanır ve ana hepatik kanalla birleşerek ana safra kanalını oluşturur. İnsanların % 75'inde sistik kanal, sağ lateralden, duodenum ile hepatik hilusun arasında, safra kanalının orta segmentine, dorsal veya ventralden, 40° açı ile açılır. Sistik kanalın ana hepatik kanalı önden veya arkadan çaprazlayarak soldan giriş yapması anormal varyasyonlarıdır.

Ana hepatik kanal, 6,5 cm uzunluğunda ve 6,5 mm genişliğindedir. Sağ ve sol hepatik kanalların, porta hepatiste birleşmesiyle oluşur. Sistik kanal ile ana hepatik kanal birleşerek ana safra kanalını (koledok) oluştururlar. Sistik kanal ile ana hepatik kanal, aşağıda, retroduodenal

yerleşimli olabilir veya sağ ve sol hepatik kanalın birleşim yeri ile aynı seviyede yani yüksek yerleşimli olabilir.

Ana safra kanalı, 6-8 cm uzunluğunda, ortalama 7,6 mm genişliğindedir. Çap yaşla artarak 11 mm'ye kadar çıkar. 4 segmente ayrılır:

1 - Supraduodenal segment

2-Retroduodenal segment

3-İntrapankreatik veya retropankreatik segment

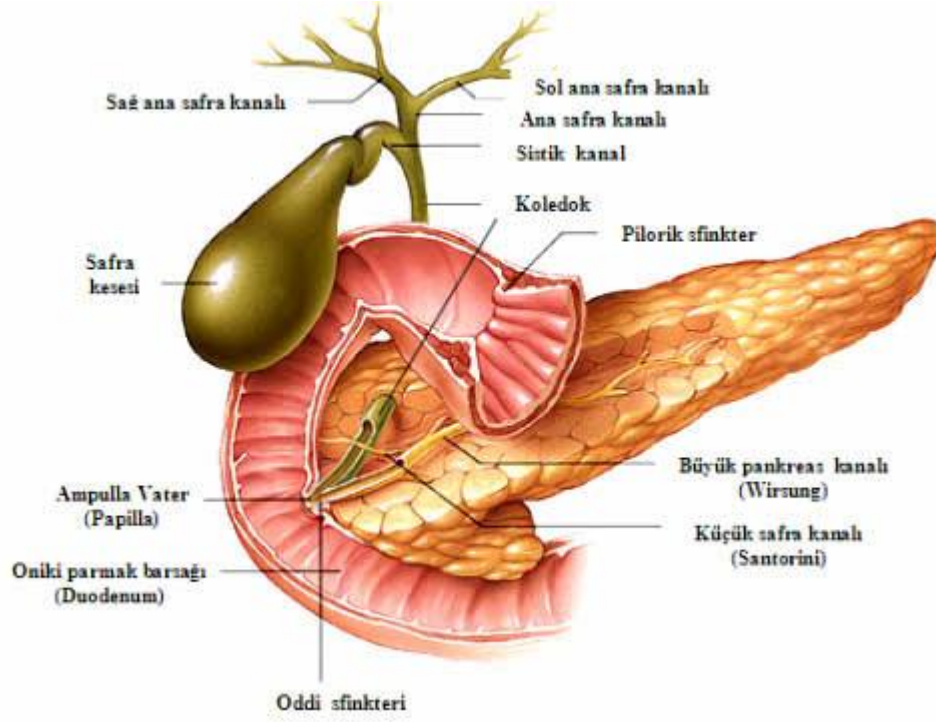
4-İntramural veya intraduodenal segment

Ana safra kanalı, pankreas başına 5-7 mm'lik genişçe bir lümen şeklinde açılır.

Bu kısmın genişliği yaşla artarak (13 mm'ye kadar çıkar) sakkuler dilatasyon gösterir. Kanalın çapındaki ani düşme sonucu (2,9-4,4 mm'e) koledok sfinkteri oluşur. Duodenuma geçişi sağlayan dar lümenli kısım isthmus veya pars preampullaris olarak adlandırılır. Burada safra ve pankreas kanalı ince bir mukozal septumla ayrılır. Hepatopankreatik ampulladan geçen safra kanalı duodenumun 2. kısmındaki papiller ostiuma açılır.

Sistik arter, sağ hepatik arterden ayrılır ve safra kesesini besler. Karaciğer, ana hepatik kanal ve sistik kanalın sınırladığı Callot'un sistik üçgeni içinde bulunur. Karaciğer dışı safra yollarının venöz drenajı v. porta'ya olmaktadır. Safra yolları sisteminin inervasyonu karaciğerinki gibidir. Vagusun uyarılması safra kesesinin kasılmasına, sempatik uyarı ise gevşemesine sebep olur. Sempatik sinirler içindeki afferent lifler, safra koliği ağrısını iletir.⁽⁵⁾

Safra kanalları silendirik epitel ile örtülüdür ve mukus glandları ihtiva eder. Safra kesesi duvarı silendirik epitelden oluşan mukoza, musküler tabaka, subseroza ve serozadan oluşmuştur. Mukus glandları sadece safra kesesinin boyun kısmında bulunur.⁽⁴³⁾



Şekil-2: Safra kesesi anatomisi

3- SAFRA FİZYOLOJİSİ

Karaciğer hücrelerinde yapılan safra, ekstrahepatik safra yolları ile safra kesesine gelmekte ve burada konsantrasyonu artırılarak gerektiğinde barsağa verilmektedir. Safra kanaliküllerine salgılanan safra, konjuge safra asidi tuzları, safra pigmentleri, kolesterol, lesitin, inorganik elektrolitler, az miktarda yağ asidi ve protein, su ve karaciğer metabolizmasının çeşitli ürünlerinin sudaki eriyiğidir. Safra tuzları karaciğerde kolesterolden sentez edilir. Ana safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit, glisin ve taurin ile konjuge edilerek suda eriyebilirlikleri artırılır. Deoksikolik asit ve litokolik asit ise kolik asit ve kenodeoksikolik asitten barsak bakterilerince oluşturulurlar. Litokolik asit suda erimez ve dışkı ile atılır. Diğer safra tuzları ise tekrar emilerek safraya katılırlar. Safra tuzları intestinal kanalda iki önemli görev yaparlar. İlk olarak, besindeki yağ partikülleri üzerinde deterjan etkileri vardır. Partiküllerin yüzey gerilimlerini azaltarak, küçük yağ damlacıklarına parçalanmasına, ve karışmasına yardım

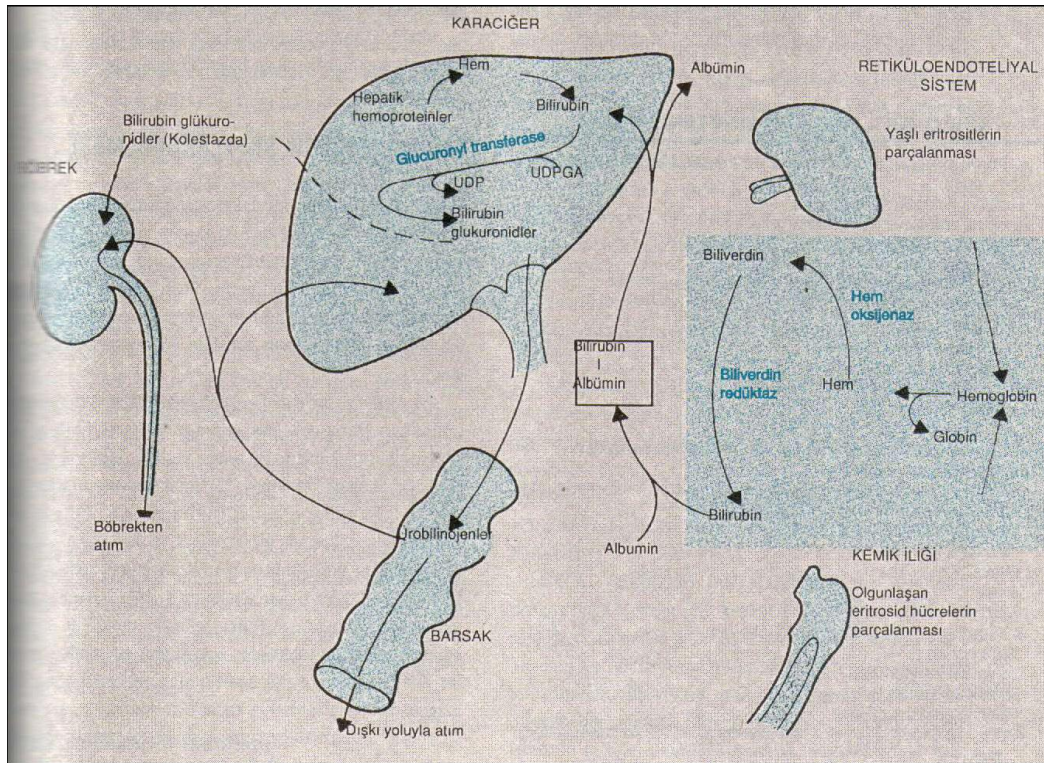
ederler. İkinci ve daha önemli olarak, safra tuzları, yağ asitleri, monogliserid, kolesterol ve diğer lipidlerin barsak kanalında absorpsiyonuna yardım ederler. Barsakta safra bulunmadığı zaman, lipidlerin %40'ı feçesle kaybedilir. Barsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94 kadarı, ileumun distal bölümünden aktif transportla geri emilir. Portal kana geçen safra tuzları böylece tekrar karaciğere döner. Safra tuzlarının bu dolaşımına enterohepatik dolaşım denir.

Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılan safra, normalde safra kesesinde depo edilerek gerektiğinde duodenuma akar. Günlük total safra sekresyonu 700-1400 ml, safra kesesinin maksimum hacmi ise, ancak 30-60 ml kadardır. Bununla beraber 12 saatlik safra salgısı kesede depo edilebilir. Çünkü su, sodyum klorür ve öteki küçük elektrolitlerin çoğu, sürekli olarak safra kesesi mukozasından emilerek, safranın diğer maddelerini, safra tuzları, kolesterol, lesitin ve bilirubini konsantre eder. Safra kesesinin boşalması için iki temel koşul gereklidir:

- 1-Safranın koledok kanalından duodenuma akması için Oddi sfinkterinin gevşemesi,
- 2-Safra kesesinin kasılarak safranın koledok kanalına itilmesi.

Yemeklerden, özellikle de yağ içeriği yüksek bir yemekten sonra incebarsağın ilk bölümlerinden kolesistokinin salgılır. Kolesistokinin safra kesesinde kontraksiyonlara neden olur, vagal uyarı safra kesesinde zayıf kontraksiyonlar yapar, safra kesesinin kasılması sonucu Oddi sfinkteri inhibe olur, duodenumda besin bulunması peristaltik dalgaların şiddetini artırır. Bu Oddi sfinkterinde de bir anlık gevşemeye neden olur ve safranın barsağa akması sağlanır. Açlıkta koledok'un alt ucundaki ampuller sfinkter safra akımına belirli derecede direnç gösterir. Genellikle gevşemiş olan safra kesesi karaciğerden salınan safra ile dolar, ancak bu salınan safranın 1/2 -1/3 ünü oluşturur. Safranın normal salınma basıncı 120-250 mmH₂O arasındadır. Bu basınç safra akımının hareketini sağlar. 300 mmH₂O üzerindeki safra yolları basıncında karaciğerden safra salgısı inhibe olur. Safra kanallarındaki basıncın yükselmesi safra karışımını da etkiler. Basınç yükseldikçe en başta kolesterol olmak üzere safra tuzlarıyla, fosfolipidlerin

karaciğerden salgısı azalır ve rölatif olarak safranın litojenik özelliği azalır. Ancak tıkanma ortadan kalktığında bol miktarda kolesterol salgılanmasına karşılık, safra tuzları ve fosfolipid salgılanması için birkaç güne ihtiyaç vardır. Safra yollarında akımın olması için ekstrahepatik safra yolları basıncının intrahepatik safra yolları basıncından düşük olması gereklidir ve bu basınç normalde 100-150 mm H₂O'dur. (5,11)



Şekil-3: Bilirubin ve safra mekanizması

Bilirubin oluşumu

Bilirubin: Safra ile atılan maddelerden biri de bilirubin pigmentidir. Bilirubin hemoglobinin yıkımındaki son ürünlerin başında gelir. Hücre membranlarında büyük bir erirlik gösterdiği gibi aynı zamanda da çok toksik bir maddedir.

HEM yıkımı: Dolaşımında yaklaşık 120 gün kadar kalan kırmızı kan hücreleri özellikle KC ve dalakta bulunan retiküloendotelyal sistem hücreleri tarafından yıkılırlar. Hücre membranının yırtılması ile serbestleşerek doku makrofajları tarafından fagosite edilen hemoglobin burada globin ve heme ayrılır.

Hem halkası açılarak :

a) Serbest demir (kanda transferrinle taşınır)

b)Dört pirol çekirdeği (düz bir zincir yaparak safra pigmentlerini oluşturur) oluşur.

Oluşan safra pigmentlerinden ilki yeşil pigment biliverdindir. Biliverdin redüklenerek (indirgenerek) sarı-kırmızı renkteki bilirubini oluşturur. Bilirubin plazmada hafifçe çözünür ve albumine kovalent olmayan bağlarla bağlanarak KC'e taşınır. KC hücre membranınca absorbe edilen bilirubin, plazma membranından ayrılarak, KC hücrelerindeki Y ve Z proteinleri adı verilen iki proteinden biri ile birleşir. Ancak, hemen sonra bilirubin bu proteinden ayrılır ve yaklaşık %80'i glukuronik asit ile birleşerek bilirubin glukuronat, %10'u sülfatla birleşerek bilirubin sülfat yapar, %10'u ise çeşitli maddelerle birleşir.

Non-konjuge bilirubin yağda eriyebilir, toksiktir ve albumine sıkı bir şekilde bağlanarak yüksek kan düzeylerinde bile idrarla atılmayan bir form oluşturur. Yüksek kan düzeylerinde dokulara özellikle insanlarda beyine girebilir ve toksik hasara neden olur.

Konjuge bilirubin suda eriyebilir, toksik değildir ve sadece gevşek olarak albumine bağlıdır. Plazmada normalden yüksek oranda bulunduğu (tıkanma sarılıklarında olduğu gibi) idrarla

atılabilir. Bilirubin bu bileşikler halinde aktif transportla safra kanalcıklarına çıkarılır(1).(Şekil-3)⁽⁴⁾

Ürobilinojen oluşumu: Barsaklara geçen bilirubinin yaklaşık yarısı bakteriler tarafından suda kolay eriyen ürobilinojene çevrilir. Ürobilinojenin bir kısmı barsaktan geri emilerek portal dolaşıma geçer ve böbreğe gelerek burada sarı renkli ürobiline çevrilir. İdrara rengini bu madde verir. Dışkıdaki Ürobilinojenin çoğu barsak bakterileri tarafından okside edilerek sterkobiline döner ve dışkının tipik rengini verir.^(4,5,11)

HİPERBİLİRUBİNEMİ NEDENLERİ

I-Non-konjuge(İndirekt) Hiperbilirubinemi

A-Aşın bilirubin yapımı

- 1-Hemolitik anemiler
- 2-Büyük internal hemorajilerden kanın resorbsiyonu
- 3-İnefektif eritropoez

B-Azalmış hepatik alım

- 1-İlaçlar(rifampin, kontrast maddeler)
- 2-Muhtemel bazı Gilbert Sendromu vakaları

C-Bilirubin konjugasyonunda bozulma

- 1-Gilbert sendromu
- 2-Crigler-Najjar Sendromu I ve II
- 3-Yenidoğanın fizyolojik sarılığı
- 4-Diffuz hepatosellüler hastalık (hepatit, siroz)

II-Konjuge(Direkt) Hiperbilirubinemi (kolestatik sarılık)

A-Bilirubinün intrahepatik atılımında azalma

1-Dubin-Johnson sendromu

2-Rotor sendromu

3-İlaçlar (oral kontraseptifler)

4-Hepatosellüler hastalık (viral hepatitler)

5-Primer biliyer siroz

6-Sklerozan kolanjit

7-Sepsis

B-Ekstrahepatik biliyer tıkanma

1-Safra taşları

2-Pankreas başı, ekstrahepatik safra kanalları ve ampulla Vateri Tümörü

3-Safra yolu darlıkları (safra yolu operasyonları, sklerozan kolanjit)

4-Ekstrahepatik biliyer atrezi.⁽⁵⁴⁾

4-TRANSAMİNAZLAR

Transaminazlar, bir amino grubunun, alfa-amino asitin, alfa keto aside transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur. Bunlar mitokondrial enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanma veya parçalanmaya uğrarlarsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görülür.

AST(Aspartat aminotransferaz), ALT(Alanin aminotransferaz):

Transaminazların iki önemli tipi klinikte kullanılmaktadır. Bunlar, serum aspartat amino transferaz (AST) ve serum alanin amino transferazdır (ALT). Bu enzimlerin değerleri Karmen ünitesi olarak ölçülmektedir. Enzimlerin normal değerleri 0-40 arasında olmalıdır. Bu enzimler bütün vücut dokularında bulunur kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla vardır. Karaciğerde daha çok ALT bulunmaktadır. Bu enzimler normal popülasyonun %2-6 oranında yüksek

değerlere çıkabilmektedir. Yapılan bir çok deneysel çalışmada serum enzim düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yaralanması arasında paralellik saptanmıştır.

Akut karaciğer hasarında serum enzim düzeyleri çok yüksek değerlere kadar çıkabilmektedir. Bilinmesi gereken diğer önemli bir indeks de ALT-AST oranıdır. Bu oranın ikiden yüksek olması hepatosellüler disfonksiyonu yansıtmaktadır. Akut karaciğer yaralanmasının olmadığı kronik karaciğer hastalıklarında ise, örneğin siroz olgularında bu enzimler normalin 1-1,5 misli yükselebilmektedir. Tıkanma ve kolestatik sarılıklarda da ALT ve AST 200-300 üniteye kadar çıkmaktadır. Enzim düzeylerinin çok yüksek olması ile prognoz arasında bir ilişki saptanmamıştır. Fulminan hepatitlerde karaciğerde çok fazla hücre kaybı olmasına rağmen enzimler çok yüksek değildir, fakat prognoz çok kötüdür. Bu olgularda enzimlerin yükselmesine neden olacak parankim hücresi kalmamıştır. Akut viral hepatitte ALT, AST den, akut alkolik hepatitlerde ise AST, ALT den daha yüksektir.⁽¹¹⁾

Gama Glutamil Transpeptidaz: Bu enzim karaciğer hastalıklarında oldukça spesifik ve duyarlı bir enzimdir. Hepatobiliyer fonksiyon bozukluğunu çok iyi yansıtmaktadır. Gama glutamil transpeptidaz karaciğer ve böbrekte yüksek konsantrasyonda bulunur. Hepatosellüler hasarlanmalarda, safra yolu malignansilerinde, kolanjit olgularında GGT düzeyleri yüksek seyreder.⁽¹¹⁾

Alkalen Fosfataz: Bu enzim organizmada birçok dokuda, özellikle kemik, barsak, karaciğer, plasenta ve böbrekte bulunur. Normal popülasyonda %2-5 arasında alkalen fosfataz yüksek bulunabilir. Yaşlılarda bu oran %20 ye kadar çıkabilmektedir. Alkalen fosfataz bir enzim değil izoenzim topluluğudur. Normal serumda bulunan alkalen fosfataz karaciğer kaynaklıdır. Kemik ve barsak fraksiyonunun artması bu dokularda yapımın arttığını göstermektedir. Kolestatik sarılıklarda, hepatosellüler yetmezlik olgularından daha da yüksek düzeylere ulaşabilmektedir.

Primer karaciğer tümörlerinde de malign potansiyeli olan hücreler alkalen fosfataz sentez edebilirler. Fizyolojik koşullarda da alkalen fosfataz yükselebilmektedir. Gelişme çağındaki çocuklarda, bu enzim aktivitesi artar ve puberteden sonra normale döner. Plasental izoenzim aktivitesi de hamilelik döneminde yükselir. İzole alkalen fosfataz yüksekliği olan olgularda gama glutamil transpeptidaz normal düzeylerde ise alkalen fosfatazın kaynağının kesin saptanması için 5'- nükleotidaza bakılması gereklidir.⁽¹¹⁾

Kolestazda özetle; Biyokimyasal değerlerde, serum total bilirubini artar, total bilirubin düzeyi 3 mg/L üzerine çıktığı zaman klinik olarak ikter belirir. Total bilirubinin %60'dan fazlasını direkt bilirubin oluşturur. Malign tıkanıklıklarda bilirubin progresif olarak artar. Serum transaminazları aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) normalin 2-3 katı artarken, alkalen fosfataz (ALP) normalin 10 katı artar. Uzamış ekstrahepatik tıkanmalarda ALP'nin normal olması nadirdir. Gama Glutamil transpeptidaz bunlara paralel olarak normalin 2-4 katı artış gösterir.⁽⁶⁴⁾

DİĞER BİYOKİMYASAL PARAMETRELER:

MDA(Malondialdehit): Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonun sonucunda tiobarbitirik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) ortaya çıkar. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü olmamakla birlikte, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.⁽²²⁾

GSH (Glutasyon peroksidaz): Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Prostetik grup olarak Selenyum (Se) taşıyan bir metalloenzimdir. Glutasyon tripeptidini (GSH) oksitlenmiş şekline çevirerek, sitozol ve mitokondrideki SOD tarafından oluşturulan H₂O'yu uzaklaştırır. Ayrıca lipid peroksidasyonunun indirgenmesini katalizler.⁽³⁸⁾

SOD (Superoksit Dismutaz): Metal ihtiva ettiği için metalloenzim grubundadır. Enzim, hücrenin birçok farklı yerinde bulunur. Sitolik enzim, birbirine benzer iki alt birimden

kurulu olup bu alt birimlerin her biri, bir ekivalan 2 Cu⁺ ve 2 Zn⁺ içerirken, mitokondriyal enzim 2 Mn⁺ içerir. SOD bütün temel aerobik dokularda bulur. Organizmada oluşan süperoksit anyonu ilk olarak SOD enzimi ile moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür.⁽³⁸⁾

5-APOPTOZİSİN TANIMI VE TARİHÇESİ

Apoptozis birçok gen ile ilişkili aktif bir sistem olup, Yunancada apo (= ayrı) ve ptosis (= düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuş sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan bir kelimedir.⁽⁶⁸⁾ Tümörlerde sık görülen bir olay olup hücre ölümüne yol açan aktif olarak düzenlenmiş bir hücresel süreçtir. Apoptozise direnç göstermek, hücre kaybını azaltarak tümöre bir avantaj sağlar.⁽⁷²⁾

Yüksek organizmalarda hücre ölümü iki farklı mekanizma ile gerçekleşir, klasik hücre ölümü nekroz olarak adlandırılır. Hücre ölümün diğer şekli olan apoptozis ise çoğunlukla tek tek hücreleri etkiler, birçok fizyolojik ve patolojik koşullarda ortaya çıkar ve genellikle enflamasyon söz konusu değildir.⁽⁶⁷⁾

Hücrenin yaşam süresi tipine göre değişmektedir. Örneğin; bağırsak hücreleri 3–5 günlük bir yaşam süresini takiben ölürken, derinin epidermal hücreleri 20–25 günlük bir süre sonunda ölmektedir. Kalp kası hücreleri veya nöronlar ise ömür boyu yaşarlar. Tüm bu ölümler fizyolojik şartlarda meydana geldiği için, fizyolojik hücre ölümü olarak da adlandırılır.⁽⁸²⁾ Apoptozisle hücre ölümü; enerji kullanılarak hücresel yaralanma ve enflamasyon olmaksızın, ustaca gerçekleştirilir.⁽³⁴⁾ Programlı hücre ölümünün, bütün çok hücreli organizmalarda, gelişmede ve homeostazın sürdürülmesinde vazgeçilmez bir rolü vardır.⁽⁸¹⁾

Apoptozis terimini, ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemleyerek ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek kullanmışlar ve bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmışlardır.⁽⁹¹⁾

APOPTOZİSİN GÖRÜLDÜĞÜ HÜCRE ÇEŞİTLERİ

Apoptotik hücreler organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak oluşmaktadırlar ve bu oluşum ömür boyu devam etmektedir. Böylece ölüm (apoptozis) ve homeostazisini oluşturmak üzere dinamik bir denge halinde süregelir.⁽⁸⁸⁾ Apoptotik hücrelerin uzaklaştırılması ve yerine yenilerinin konması günlük 1×10^{11} hücre olarak tahmin edilmektedir ki yetişkin bir bireyin total vücut ağırlığının her 18 – 24 ayda bir değişimine eşittir.⁽⁸²⁾ Bu doku ve hücrelere ince bağırsaklar, deri, timus, uterus, beyin ve göz örnek olarak gösterilebilir.^(32,33,37,63)

Apoptozis çok hücreli canlıların gelişimi esnasında da görülür. İnsan embriyosunun el parmakları arasında bulunan perdelerin buradaki hücrelerin apoptozisle ölmesi sonucu kaybolduğu düşünülmektedir.^(58,70)

Apoptozisde ana morfolojik olay, nukleusun yoğunlaşması ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır.⁽³¹⁾ İmmun elektroforez yapıldığında ‘ladder pattern’ olarak isimlendirilen merdiven şeklinde bir görünüm oluşur.⁽⁸³⁾ Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma onarılrken, apoptoziste yaklaşık 300000 kırılma meydana gelir ve hücre onarımı yapılamaz.^(66,92)

Apoptozisin erken evresinde hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, özelleşmiş yüzey organellerini kaybeder ve belirgin şekilde büzülür, bir kaç dakikada hacimlerinin 1/3’ünü kaybederler. Bu görünüm muhtemelen plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına bağlıdır.⁽⁸⁶⁾ Apoptotik hücrelerin bulunduğu dokulardan elde edilen kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, hücreler etrafında açık bir parlama şeklinde görülmektedir.⁽⁶⁶⁾

Daha sonra plazma membranında tomurcuklanmalar oluşur ve hücre, sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır. Apoptotik hücreler komşu hücreler ile makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir.⁽²⁴⁾ Apoptotik hücrelerin tanınması, plazma membranındaki değişikliklerle olur. Normalde hücre membranının iç

tabakasında olan fosfatidil serin, aminofosfolipid transferaz enzimiyle membranın dış yaprağına göç eder. Fagositik hücrelerin vitronektin, lektin özelliğindeki reseptörleri fosfatidilserin ile bağlanır ve fagositozu uyarır.⁽⁶⁶⁾

Apoptozis, tek bir hücrede, büzüşme ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Apoptotik uyarımı alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur. Elektron mikroskopunda gözlenen değişikliklerde, öncelikle plazma membranının şekli bozulur ve kabarcıklanmalar oluşur ki bu yapı 'zeiozis' olarak tanımlanır. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır.⁽⁸¹⁾

Fosfolipitler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin ile dış tabakada bulunan fosfatidilkolin asimetric olarak dağılmışlardır. Normal hücrelerde bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz ile aktif olarak korunmaktadır. Apoptozis sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu sonucu fosfatidilserin dış yüzey tabakaya yerleşir. Bu durum apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır. Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyardıktan sonra, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilirler. Apoptozis 30 – 60 dakika gibi bir sürede tamamlanır. Hücre iskeleti apoptozisde önemli bir role sahiptir.⁽⁷⁵⁾ Elektron mikroskopunda apoptozis esnasında, kromatinin yoğunlaşması, sitoplazmanın büzülmesi, plazma membranının kabarması, mitokondri dış membranında şişme, mitokondrial membran aralığında sitokrom c ve bir oksidoredüktaz ile ilişkili flavoprotein olan Apoptozis İndükleyici Faktör salınımı, olduğu bildirilen morfolojik değişikliklerdendir.⁽⁷⁴⁾

APOPTOZİSİN MEKANİZMALARI

Hücrenin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis başlamaktadır.⁽²⁶⁾

Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer başlatılabilir ya da bir uyarı sonucu sekonder olarak gelişir. Hücre dışı uyaranlar arasında; tümör nekroz faktörü (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) (14), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir. Otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL (3), sFas proteinleri, virüsler de (HIV gp120 proteini, influenza virüsü TNF reseptörü üzerinden; adenovirüs hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürmektedir.⁽²⁶⁾ Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır.⁽⁶⁶⁾

Apoptozisi etkileyen hücre içi uyaranlar arasında sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarında artış, tümör nekroz faktör, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpressör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkojenlerin (cmyc gibi) yer aldığı bilinmektedir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler hafif dozlarda apoptoz meydana getirirler. Apoptozda hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de bazen apoptozis dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptozis gelişmesine yol açabilir.⁽⁶⁶⁾

Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı şekilde işleyebilir.⁽⁷⁴⁾ Apoptoz sürecinde belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteindir. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin

şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur.⁽⁷⁹⁾ Günümüzde apoptoz sürecinde rolü olan biyokimyasal ve genetik komponentlerin aydınlatılmasıyla birlikte apoptozun aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir.⁽²⁸⁾

Apoptozis ve Nekrozis Arasındaki Farklar - Nekrozis fizyolojik bir ölüm şekli değildir. Apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir. - Nekroziste hücre şişerken apoptotik hücre tam tersine küçülür. Nekroziste kromatin patterni hemen hemen normaldir. - Apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve yoğunlaşır. Apoptozisin en önemli özgün yönü DNA'nın internükleozomal bölgelerden parçalanmasıdır. - Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder. Apoptotik hücre membranı sağlamdır. - Nekrotik hücre sonradan lizise uğrar. Apoptik hücre küçük cisimciklere parçalanır. - Nekroziste inflamasyon uyarılır. Apoptoziste inflamasyon oluşmaz.^(9,16,40,87)

HASTALIKLARDA APOPTOZİS

Apoptozis birçok patolojik ve fizyolojik olayda etkin rol almaktadır. Fizyolojik olayların başında hücre yapım-yıkımı gelir. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım-yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşlanan hücreler apoptozisle ortadan kaldırılarak yeni hücrelere yer açılır. Patolojik olarak sayılabilecek olaylarda ise; tümörlerde hem regresyon hem de büyüme aşamasında rol oynar. Yine dokularda hormona bağlı patolojik atrofi, bazı kalp hastalıkları, otoimmün hastalıklar, nörodejenaratif bozukluklara bağlı hastalıklarda ve kanserde apoptozis mekanizması devreye girer.^(14,28,36,58,65)

TEDAVİDE APOPTOZİS

Bugün birçok hastalığın hücre ölümü ya da yaşamı ile ilgili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle apoptotik sürece müdahale ederek yeniden düzenlenmesi, önemli tedavi yöntemlerini gündeme

getirmektedir. Potansiyel tedavi yöntemleri üç kategoride toplanmaktadır ki bunlar; gen tedavisi (p53'ün yedeklenmesi vb.), apoptozis moleküllerinin düzenleyicilerini hedefleyen moleküllerin enjeksiyonu (Growth faktörler ve çözülebilir FasL vb.), apoptozisle ilişkin genlerin ifadesini (ekspresyonunu) düzenleyen farmakolojik küçük moleküller (Bcl-2 vb.). Bugüne kadar non-steroidal antiinflamatuvarlar gibi apoptozis düzeyini değiştirdiği bilinen birçok ilaç vardır. Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi programları tümör hücrelerinde apoptozisi başlatır ve apoptozise olan direnç tedavideki başarısızlığı getirir. Üstelik bu tedaviler, normal hücrelerde de apoptozisi başlatır ve kemik iliği üzerinde olumsuz yan etkileri vardır. Bununla beraber son zamanlarda geliştirilen yeni birçok tedavi denemeleri ümit vericidir.^(2,81) Ayrıca virüsler ve bazı intraselüler bakteriler canlılıklarının devamı için farklı stratejiler geliştirmişlerdir. Örneğin; Bcl-2'ye benzer bir protein şifrelemek (Adenovirus); Bcl-2'nin ekspresyonunu uyarmak (Epstein-Barr Virus) Prokaspaz 1 ve 8'i inaktive eden proteaz inhibitörü şifrelemek (cowpox); mitokondriyal sitokrom c'nin sitozol içine salınımına müdahale etmek gibi. Virüs ve bakterilerin bu davranışlarının tedavide kullanılabileceği düşünülmüştür. Örneğin; CrmA ineklerde görülen çiçek virüsünden elde edilen bir proteindir ve başlatıcı kaspazları inhibe eder. Asıl etkisi virüsün ilerleyebilmesi için inflamasyonun ve hücre ölümünün engellenmesidir. p35 ise bir baculovirüs proteindir ve kaspaz aktivasyonu ile etkileşim içinde olan genel bir apoptozis inhibitörüdür.

Tablo-1:Apoptozisle İlgili Hastalıklar.⁽⁸¹⁾

Apoptozisin Artmasıyla İlgili Hastalıklar	Apoptozisin Azalmasıyla İlgili Hastalıklar
Nörodejeneratif Bozukluklar	Kanser
Alzheimer hastalığı	Blastom
Amyotrofik lateral skleroz	Karsinom
Creutzfeld-Jakop hastalığı	Lösemi
Huntington hastalığı	Lenfoma
Parkinson hastalığı	Malign gliom
Retinitis pigmentosa	Sarkom
Spinal muskular atrofi	Seminom

Hematolojik Bozukluklar	Premalign Hastalıklar
Aplastik anemi Fanconi anemisi Hodgkin hastalığı Myelodisplastik sendromlar Polycythemia vera	Ataxia telangiectasia Paroksimal nokturnal hemoglobinüri Myeloblastik sendromlar Xeroderma pigmentosum
Otoimmün Bozukluklar	Otoimmün Bozukluklar
Fulminant hepatit Graft-versus-host hastalığı Hashimoto tiroitisi İnsüline bağımlı diyabet Multipli skleroz Romatoid artrit Skleroderma Sjögren sendromu	Otoimmün lenfoproliferatif sendrom (tip I ve II) Sistemik lupus erythematosus Ateroskleroz Metabolik Bozukluklar Nimann-Pick hastalığı Osteoporoz Wilson hastalığı
İskemik Yaralanma	Viral Enfeksiyonlar
İskemi ve reperfüzyon Böbrek enfarktüsü Miyokardial enfarktüs İnme	Adenoviruslar Baculoviruses Epstein-Barr virüs Herpesvirüsleri Poxvirüsler
Toksinlere Bağlı Hastalıklar	Prematur ve Fizyolojik Yaşlanmada Apoptozis
Alkole bağlı hepatit Pulmonar fibrozis Sepsis	Down sendromu Erken yaşlanma (progeria) Xeroderma pigmentosum
Bakteriyel ve Viral Enfeksiyon	
AIDS Ebola virüsü Chlamydia trachomatis Helicobacter pylori Neisseria meningitidis Salmonella typhimurium Shigella flexneri	
Diğerleri	
Travmatik spinal kord yaralanması Tümör karşı atağı (immün ayrıcalık)	

Özgül olarak, kaspaz 1, 2, 3 ve 4'ü inhibe eder. Bunların dışında apoptozis inhibisyonu yapan başka proteinler olduğu gibi sentetik özgül kaspaz inhibitörleri de üretilmektedir.⁽⁴⁷⁾ Tedavide kaspaz ailesi üyeleri ve Bcl-2/Bax ailesindeki genlerin ekspresyonları da önemli yer tutmaktadır.⁽⁶⁷⁾ Aşağıdaki tabloda apoptozise müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri gösterilmiştir:

Tablo-2: Apoptozise müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri.⁽⁸¹⁾

Mevcut tedaviler	
Aspirin,siklooksijenaz-2 inhibitörleri Antikanser ilaçları, radyoterapi	Non-steroidan anti-inflamatuarların kolorektal adenoma ve kansere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Bu etki siklooksijenaz-2 enziminin inhibisyonu doğrultusunda apoptozisin indüklenmesinden dolayı olabilir Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi normal hücrelerde ve tümörlerde apoptozisi indükler. P53'e bağımlı ve bağımsız mekanizmalar tanımlanmıştır
Yeni tedaviler	
Bcl-2 antisense Rekombinant TRAIL Kaspaz inhibitörleri Antioksidanlar İnterlökin-1 reseptör antagonistleri	İlk klinik çalışmalar, non-Hodjkin's lenfoma gibi bazı hastalıkların olumlu sonuç verdiğini göstermiştir Akciğer, göğüs, kolon ve böbrek kanserlerinin TRAIL'e karşı duyarlı olduğu ve apoptozisi uyardığı prelinik çalışmalarla kanıtlanmış ve desteklenmiştir Travmatik beyin yaralanması, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığında pozitif prelinik hayvan modelleri Pyrrolidinedithiocarbamate ve (E vitamini analogu) floreoçil artışıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükler Sıçan modellerinde iskemik beyin hasarında azalma

Sonuç olarak; doku homeostazı, hücre çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki uyumlu ilişkiye bağlıdır. Apoptozisin önemi, çeşitli biyolojik olaylarda gereksiz, hasarlı ya da zararlı hücrelerin enflamatuar yanıt olmaksızın yok edilmesini sağlamasından ve organizmanın iç dengesinin devamlılığına katkıda bulunmasından ileri gelmektedir.

ZENCEFİL (GINGİBER OFFİCİNALİS)

Zencefil, güneydoğu Asya'da doğal olarak yetişir. Nijerya, Tayvan, Hindistan, Jamaika gibi ülkelerde kültürü yapılmaktadır.

Botanik Özellikleri

Çok yıllık, otsu bir bitki olup boyu 1,5 metreye kadar ulaşabilmektedir. Toprak altında dijital olarak dallanmış rizomları bulunur. Yapraklar lanseolat(5-30 cm uzunluğunda ve 8-20 mm genişliğinde), alternan, yüzeyi düz, soluk yeşildir. Sarımsı mor çiçeklerden oluşan çomak şeklindeki spikanın altında yeşilimsi sarı brakteler vardır. Kaliks tüp şeklinde, bir yandan açılan, 3 dişli, korolla çift ayalıdır. Meyva küçük arilluslu tohumlu bir kapsüldür. ⁽⁸⁵⁾

Kimyasal Özellikleri

İçeriğinin %5-8'i oleorezin taşır. %3 oranında uçucu yağ, oleorezinlerin %20-25'ini oluşturur. Seskiterpenler %30-70 uçucu yağın bileşimine katılır. Oleorezinlerin %25'ini oluşturan acı bileşikler; gingeroller, shogaoller ve ilgili fenolik keton türevlerinden oluşur. Diğer bileşikler de diarilheptanonlar, diterpenlaktonlar, galanolakton (bazı türlerde), 6-gingesülfonik asit ve monoaçıldigalaktozil gliseroller ile nişasta ve müsilajdır. ^(12,18,27)

Farmakolojik Özellikleri

Antienflamatuar ve antiplatelet etki

Zencefilin sulu ekstresinin araşidonik asit, ADP, epinefrin ve kollajenle indüklenmiş platelet agregasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca platelet prostaglandin-endoperoksidazı da düşürmüştür. ⁽⁷⁸⁾ Bununla beraber tromboksan sentaz inhibisyonu ve prostaglandin E2 ve F2 α 'nın beraber artışı olmaksızın prostasiklin seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir. ⁽⁷⁾ Gingerol, gingerdion ve 6-shogaol gibi bazı bileşiklerin 5-lipooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği ve bazılarının (8-paradol,8-shogaol ve 8-gingerol) etkin COX-2 inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. ⁽¹⁸⁾

Antioksidan etki

Zencefilin içindeki 6-gingerol, 6-paradol, fenolik 1,3-diketonlar, zingeron gibi bazı bileşenlerin lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu oldukları gösterilmiştir.⁽¹⁸⁾ İn vitro doza bağımlı bir çalışmada, zencefilin serbest oksijen radikallerini azalttığı ve bunun sonucunda radyoprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir.⁽¹⁷⁾

Antimikrobiyal etki

Zencefilin sulu etanollü ekstresi *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium*, *E.Coli* ve *Candida albicans*'a karşı doza bağımlı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.⁽⁴²⁾

Sitotoksik Özellikler

İnsan T-lenfoma hücre kültürlerinde zencefilin içinde bulunan kurkumin, 6-gingerol ve labdan sınıfı diterpenlerin apoptozisi indükleyici etkileri gösterilmiştir.⁽⁶⁰⁾ Başka bir çalışmada zencefilden izole edilen 6-gingerol ve 6-paradol'un anti-tümoral özellikleri gösterilmiştir.⁽¹⁵⁾

Antiemetik Etki

Shogaoller ve gingeroller 20 ve 50 mg/kg dozda antiemetik aktivite göstermiştir.⁽⁴⁸⁾

Gastrik Motilite etkisi ve kolagog (safra akımını arttırıcı) etki

Zencefilin oral yoldan ratlara verilmesi ile gastrointestinal motilitenin arttığı gözlenmiştir. Bu etki 6,8,10-gingerollerin antiseratoninerjik aktivitesinden kaynaklandığı tesbit edilmiştir.⁽⁸⁹⁾ Zencefilin gastrik motiliteyi artırdığı, kusma ve hazımsızlığı önleme ve azaltmada yararlı olduğu gösterilmiştir.⁽³⁹⁾ Zencefil ekstresinin uçucu yağ içeren aseton formu ratlarda safra salgısını arttırdığı gözlenmiş fakat sulu ekstrenin inaktif olduğu görülmüştür.⁽⁹⁰⁾

GEREÇLER VE YÖNTEM:

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul 26/10/2009 tarihli ve GÜ.ET-09.076 kod numaralı onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde Aralık 2009 tarihinde gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlıkları 200-300 gram arası olan Wistar-albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar sabit oda sıcaklığı ve nem ortamında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık standart laboratuvar şartlarında uygun kafeslerde, şehir suyu ve standart yem ile beslendiler. Hayvanlara uygulanan cerrahi işlemler steril şartlarda ve intramuskuler olarak uygulanan 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorür (alfazyme %2,Ege Vet , Türkiye) genel anestezisi altında gerçekleştirildi.

Her grupta 6 sıçan olmak üzere 7 grupta toplam 42 adet sıçan kullanıldı. Aşağıda tariflendiği üzere her gruba kendine özgü işlemler yapıldı:

- a-) Hiçbir cerrahi işlem ve ilaç verilmeyen kontrol grubu (K)
- b-) Laparotomi yapıp karın içinin sadece 1 cc serum fizyolojik ile yıkandığı ve ilaç verilmeyen Sham grubu (S)
- c-) Obstruktif sarılık oluşturulmadan sadece 100 mg/kg/gün ginger ekstresinin distile su ile eritilmiş formunun 7 gün süreyle oral yoldan günde tek doz verildiği ginger- I grubu (G1)

d-) Obstruktif sarılık oluşturulmadan sadece 200 mg/kg/gün ginger ekstresinin distile su ile eritilmiş formunun 7 gün süreyle oral yoldan günde tek doz verildiği ginger- II grubu (G2)

e-)Laparotomi sonrası koledokün bağlanarak 3. günde obstruktif sarılık geliştirilen ve ilaç verilmeyen çalışma grubu (Ç)

f-) 3. gün sonunda koledokün bağlanmasıyla obstruktif sarılık oluşturulan ratlarda 7 gün süreyle 100 mg/kg/gün ginger ekstresinin distile su ile eritilmiş formunun oral yoldan günde tek doz verildiği Tedavi- I grubu (T1)

g-) 3. gün sonunda koledokün bağlanmasıyla obstruktif sarılık oluşturulan ratlarda 7 gün süreyle 200 mg/kg/gün ginger ekstresinin distile su ile eritilmiş formunun oral yoldan günde tek doz verildiği Tedavi- II grubu (T2)

DeneySEL Tıkanma Sarılığı modeli oluşturulması:

Tüm hayvanların batın ön duvarı tüyleri kesilerek povidon iyot ile saha temizliği yapıldıktan sonra median laparotomi ile batına girildi. Sham grubunda ana safra kanalı bulundu ve bırakıldı. Çalışma ve Tedavi grubu hayvanlarda ana safra kanalı bulundu. Dissektör ile ana safra kanalı dönüldü ve no:4/0 ipek ile ligate edildi. Takiben katlar anatomisine uygun olarak no:5/0 ipeklerle kapatıldı. Sütür hattı povidon iyot ile temizlendi.

Hayvanlar anesteziden çıkmak üzere sıcak ortama alındı. Operasyon sonrası 6'ncı saatte oral beslenmeye başlandı. Deney gruplarında post operatif 3. günde sarılık gelişti ve hayvanların post operatif 3. günden itibaren diyetlerine orogastrik tüp yardımı ile 100mg/kg/gün ve 200mg/kg/gün dozlarında zencefil ekstresi ile hazırlanmış solüsyon eklendi ve 7 gün boyunca günde tek doz olarak devam edildi.

Deneyin 10. gününde tüm hayvanlar ketamin ile sakrifiye edildi. Eski insizyon yerinden girildi ve histopatolojik çalışmalar için karaciğer doku örnekleri ve serum çalışmaları için intrakardiyak olarak kan örnekleri alındı.

Biyokimyasal İnceleme:

Kan örnekleri biyokimya tüplerine alınarak 5 dakika 3500 devirde santrifüj sonrası serumları ayrıldı. Serumlar analiz dönemine kadar -80°C'de saklandı. Örneklerden; AST, ALT, GGT ve bilirubin düzeyleri hazır kitler kullanılarak kolorimetrik yöntemlerle analiz edildi. Bu serum parametreleri dışında serum ve doku MDA, GSH, SOD düzeyleri çalışıldı.

GSH Yöntemi:

Bir miktar doku (yaklaşık 200 mg) 1 mL 0.5 M metafosforik asit ile homojenize edildi. Homojenat 3500 devirde 10 dk santrifüj edildi. Süpernatanda GSH ve protein düzeyi analizi yapıldı. Protein düzeyleri Lowry yöntemine göre yapıldı. GSH ölçümü için 100 µL distile suya 300 µL 1 M potasyum fosfat tamponu (pH=8.0) eklendi. Daha sonra 2400 µL DTNB eklendi ve 410 nm dalga boyunda absorbansı okundu. Ardından 200 µL süpernatant olarak tekrar 410 nm de okundu. Köre karşı okunan sonuçlar aşağıdaki gibi hesaplandı.

Sonuç: A2-A1/protein

Sonuçlar µmol GSH / µg protein olarak ifade edildi.

Serum GSH düzeyleri için süpernatant yerine serum konuldu ve aynı şekilde analiz edildi.

MDA Yöntemi:

Dokular 1/10 oranında soğuk %1.15 KCl ile homojenize edildi. 250 µL homojenat üzerine 1.5 mL %1'lik fosforik asit ve 500 µL TBA eklendi. Karışım vortekslendikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Daha sonra tüpler soğutulup 2 mL butanol eklendi ve iyice vortekslendi. 2500 g'de 5 dk santrifüj edildikten sonra butanol fazı 535 ve 520 nm dalga boylarında n-butanole karşı okundu. Absorbans farkı alınarak sonuçlar nmol MDA/ g doku olarak ifade edildi.

Serum MDA düzeyleri için 250 µL serum üzerine 1.25 mL %20'lik TCA ve 500 µL TBA eklendi. Karışım vortekslendikten sonra 30 dakika kaynar su banyosunda bekletildi.

Daha sonra tüpler soğutulup 2 mL butanol eklendi ve iyice vortekslendi. 3000 g'de 5 dk santrifüj edildikten sonra renkli kısım 532 nm dalga boyunda n-butanole karşı okundu. Standartlarla oluşturulan eğri üzerinden sonuçlar hesaplandı ve nmol MDA/mL olarak ifade edildi.

SOD Yöntemi:

Doku SOD analizi için karaciğer 1/10 oranında distile su ile homojenize edildi. Homojenat 5000 g'de 4 derecede 30 dk santrifüj edildi. Süpernatant kloroform/etanol (3/5) karışımı ile 1/1 oranında karıştırıldı. Daha sonra 4 derecede 5000 g'de 2 saat santrifüj edildi. Süpernatant kısmından SOD ve protein analizi yapıldı. 2.9 mL reaktif karışımı (ksantin, EDTA, NBT, Na₂CO₃ ve BSA) üzerine 50 µL numune ve 50 µL Ksantin Oksidaz enzimi eklendi. 25 derecede 20 dk inkübe edildi. 1mL CuCl₂ eklendi 560 nm dalga boyunda distile suya karşı okundu. Kör ve numune absorbanları üzerinden hesaplama yapıldı.

Serum SOD düzeyleri de aynı yöntem ile analiz edildi.

Sonuçlar Ünite/mg protein olarak ifade edildi.

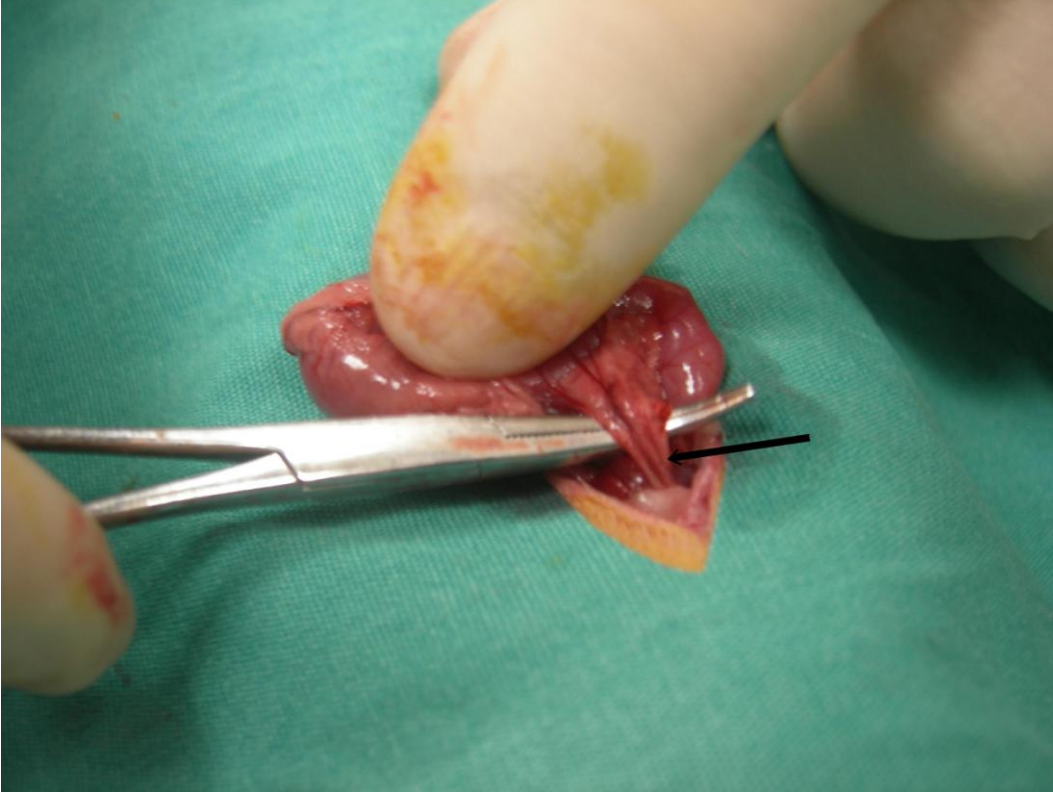
Histopatolojik İnceleme:

Alınan karaciğer doku örnekleri %10'luk formolde 24-48 saat süreyle tespit edildi. Alkol, aseton, ksilen ve parafin işlemlerinden sonra bloklandı. Bloklardan 4 mikronluk kesitler alınarak Hematoksin-Eozin boyası ile boyandı. Preparatlar Olympus BX51 ışık mikroskopunda 40X, 100X, 200X ve 400X büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan Olympus marka fotoğraf makinası ile fotoğraflandı. Apoptag (Chemicon) yöntemi için kesitler deparafinize edildikten sonra PBS (Phosphate Buffer Saline) ile 5 dakika yıkandı. Proteinaz K içerisinde oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Daha sonra distile su ile iki kez yıkandı.

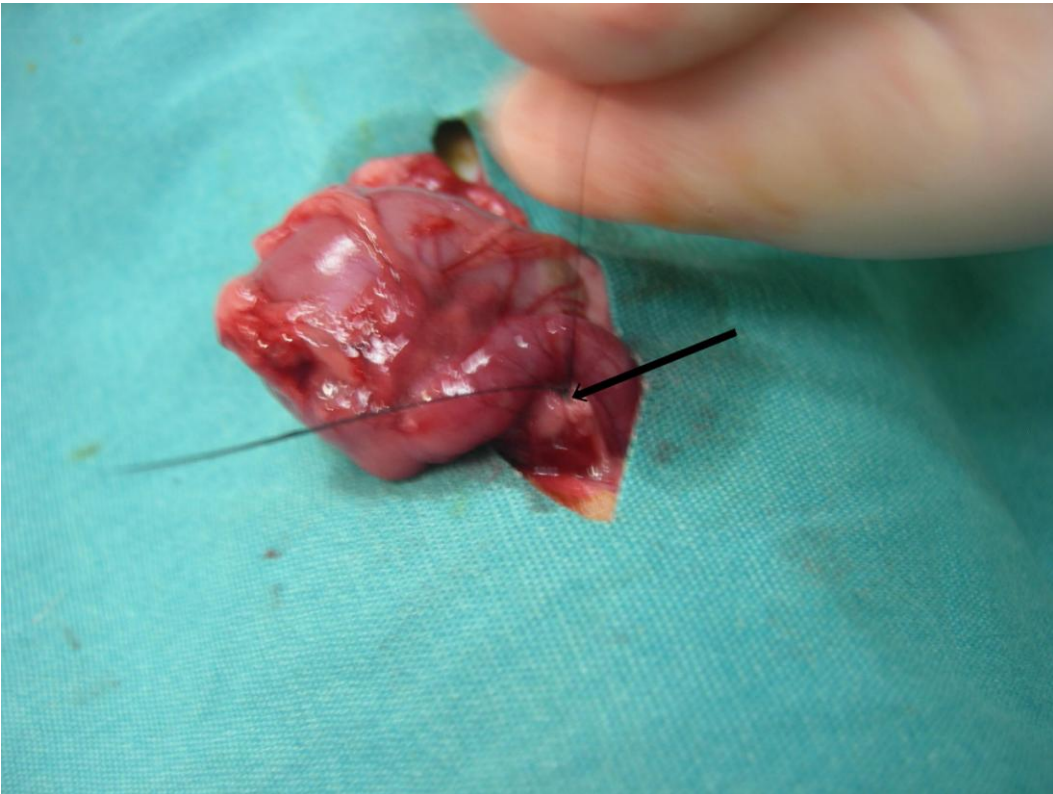
Kesitler %3'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) içinde oda sıcaklığında 5 dakika bekletilip sonrasında PBS ile yıkandı. Dokuların üzerine Equilibration Buffer damlatılıp 10 saniye bekletildi. Dokunun üzerindeki fazla sıvı kurulanıp Working strenght Tdt enzimi damlatıldı. Bu şekilde 37 Santigrat derecede 30 dakika nemli ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası stop/wash buffer içinde ilk 15 saniye iyice sallamak koşuluyla 10 dakika bekletildi. Dokuların etrafındaki fazla sıvı kurutma kağıdı ile temizlendikten sonra Anti-Digoksigenin konjugat damlatılıp 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra yine PBS ile yıkandı. Peroksidaz substrat konularak oda sıcaklığında 3-6 dakika bekletildi. Distile su ile üç kez yıkandı; zıt boyama için %1'lik metil yeşilinde 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu işlem sonunda da distile su ile iyice yıkanıp alkolde dehidrate edildi. Ksilende birkaç dakika bekletilip, balzam ile monte edilerek kapatıldı. Preparatlar Olympus BX51 ışık mikroskobunda 40X, 100X, 200X ve 400X büyütme ile değerlendirildi. Mikroskoba bağlı olan Olympus marka fotoğraf makinası ile fotoğraflandı.

İstatistiksel İncelemeler:

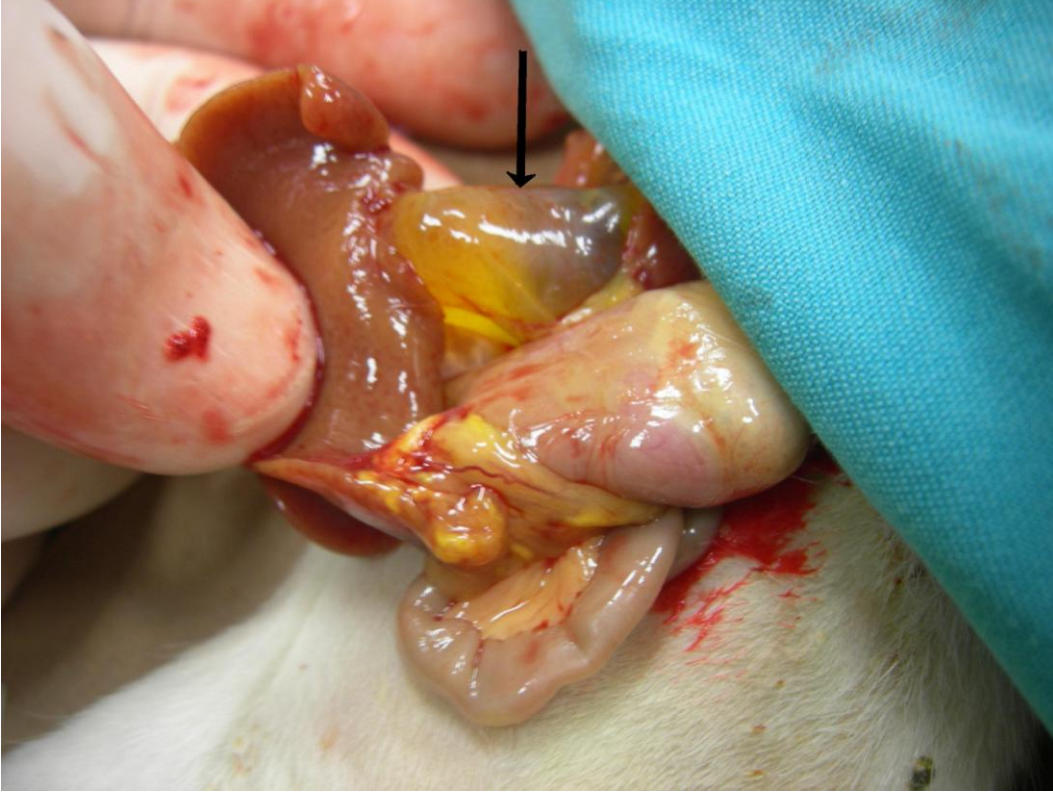
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.5 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken Mann Whitney -U test kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.



Resim-1:Koledok eksplorasyonu



Resim-2:Koledok bağlanması

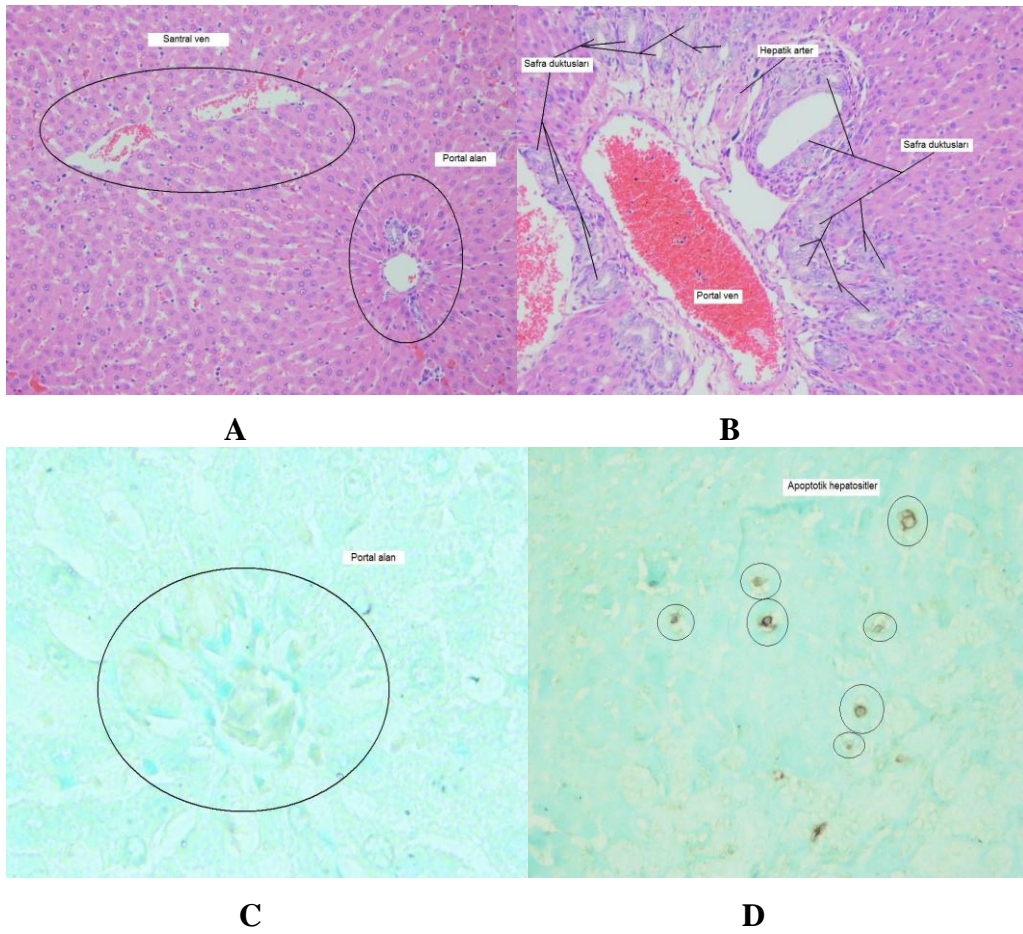


Resim-

3:Koledok bağlandıktan sonra kolestaz ve sarılık gelişimi

BULGULAR

Gruplar arasında apoptotik hücre sayısı açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Sham (S), Kontrol (K), Ginger 1 (G1) ve Ginger 2 (G2) grupları arasında apoptotik hücre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışma (Ç), Tedavi 1 (T1) ve Tedavi 2 (T2) gruplarında apoptotik hücre sayısı S, K, G1 ve G2 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). T1 ve T2 grupları arasında, apoptozis açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır.



Resim-4:A: Normal karaciğer parankimi: Portal alan ve santral ven (H&E x 200) **B:** Portal alanda duktüler proliferasyon (H&E x200)

C: Normal karaciğer parankimi: Santral ven çevresi (TUNEL x400)

D: Apoptotik hepatositler (TUNEL x200)

Kontrol grubuyla, Sham, Ginger1 ve G2 grupları arasında serum total bilirubin, GGT, ALT, AST, MDA ve GSH açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Fakat kontrol grubunda serum MDA Ginger 1 grubuna göre daha düşük düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Kontrol grubunda , Çalışma, T1 ve T2 grubuna göre -Kontrol ve T1 arasındaki serum GSH ve kontrol ve T2 grubu arasındaki GSH ve ALT düzeyleri hariç- bütün parametreler istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Ginger 1 grubunda Çalışma, T1 ve T2 grupları arasında serum parametreleri -G1 ve T2 arası MDA ve ALT düzeyleri hariç- düşük bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Ginger 1, G2 ve Sham grupları arasında serum değerleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Fakat G1 grubunda AST ve Sham grubuna göre, G2 de G1'e göre MDA daha düşük düzeyde bulunmuştur ($p<0,05$).

Ginger 2 grubuyla Tedavi 1 grubu arasında GGT, AST ve GSH açısından anlamlı farklılık saptanmamışken fakat Ginger 2 grubunda Total bilirubin,,ALT ve MDA Tedavi 1 grubuna göre daha düşük düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Ginger 2 grubuyla Tedavi 2 grubu arasında ALT, AST açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır fakat Ginger 2 grubunda Total bilirubin,GGT,GSH ve MDA Tedavi 2 grubuna göre daha düşük düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Ginger 2 ve Sham gruplarında Çalışma grubuna göre bütün parametreler düşük bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Sham grubunda serum Total bilirubin, GGT, ALT ve MDA Tedavi 1 grubuna göre daha düşük düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). İki grup arasında AST ve GSH açısından fark saptanmamıştır.

Sham grubuyla Tedavi 2 grubu arasında ALT, AST ve GSH açısından anlamlı farklılık saptanmamışken serum Total bilirubin, GGT ve MDA düzeyleri Tedavi 2 grubuna göre daha düşük düzeyde bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Çalışma grubuyla Tedavi 1 ve T2 grupları arasında biyokimyasal parametreler açısından -Serum AST düzeyinin T2 grubunda çalışma grubuna göre düşük olması hariç-anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Doku GSH düzeyleri incelendiğinde en düşük değer T1 grubunda bulunurken en yüksek değer ise G1 grubunda bulundu (tablo 3). GSH değerleri incelendiğinde Sham ile Kontrol, Çalışma ve G1 grupları karşılaştırıldığında sham grubu aleyhine değerler istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p<0.05$). Kontrol ve çalışma gruplarının değerleri T1 ve T2 gruplarına göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Ayrıca G1 grubu değerleri tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek GSH değerlerine sahiptir ($p<0.05$). Diğer gruplar arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Çalışma dahilindeki gruplar için doku SOD değerleri incelendiğinde en düşük değer Sham grubunda en yüksek değer ise G1 grubunda bulunmuştur (tablo3). Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç farkı saptanmamıştır.

Serum SOD değerleri incelendiğinde en düşük değer T1 grubunda en yüksek değer ise G2 grubunda bulunmuştur (tablo3). Fakat gruplar arasında G2 ile T1 ve Sham grupları arası hariç istatistiksel olarak anlamlı sonuç farkı saptanmamıştır.

Doku MDA değerleri açısından en yüksek değer Kontrol grubunda en düşük değer ise sırasıyla G1 ve G2 gruplarında tespit edilmiştir (tablo 3). Sham ile G1 ve G2, Çalışma ile G1

ve G2 arasında ve G1 ve T2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var iken diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Tablo-3: Gruplar arasında karaciğerde apopitozisin ortalama hücre sayısı ve doku GSH, MDA ve SOD ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Kontrol	Ginger 1	Ginger 2	Sham	Çalışma	Tedavi 1	Tedavi 2
Apoptozis (hücre)	0,66±0,51	0,66±1,03	1,16±1,16	1,33±0,51	9,66±5,85	13,16±10,36	14,16±6,0
dGSH (µmol /µg)	0,18±0,03	0,20±0,08	0,15±0,06	0,11±0,03	0,19±0,09	0,10±0,06	0,10±0,03
dMDA (nmol/g)	0,11±0,08	0,04±0,02	0,05±0,01	0,08±0,01	0,08±0,02	0,07±0,03	0,10±0,05
dSOD (U/mg)	17,01±2,43	19,47±2,36	19,12±2,30	16,72±4,46	19,35±1,68	19,35±2,08	18,07±4,10

Biyokimyasal incelemeler

Tablo-4: Gruplar arasında serum biyokimyasının ortalama değerleri ve standart sapmaları

	T. Bil (mg/dl)	GGT (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	MDA (nmol/ml)	GSH (µmol/g)	SOD (U/mg)
Kontrol	0±0	5,50±3,67	33,33±3,66	80,83±26,55	29,73±1,72	1,32±0,375	11,63±5,12
Ginger1	0±0	6,00±4,89	33,50±5,04	72,66±9,83	36,95±3,35	0,94±0,34	12,70±6,66
Ginger2	0±0	11,50±18,37	37,16±6,82	131,33±119,29	31,20±4,24	1,07±0,60	17,42±5,61
Sham	0±0	5,16±1,83	29,66±7,47	132,83±48,44	34,70±6,90	1,40±0,55	9,69±2,96
Çalışma	5,56±3,77	36,83±19,46	93,33±76,41	406,00±339,08	63,80±16,71	2,48±1,05	12,02±5,31
Tedavi1	7,28±5,55	30,66±32,11	68,33±26,31	279,33±119,03	72,95±25,46	2,56±1,43	9,31±5,48
Tedavi2	7,50±4,64	46,83±31,90	41,83±19,36	169,83±73,70	71,01±23,07	2,51±0,86	14,11±4,68

TARTIŞMA

Karaciğer tıkanma sarılığında gelişen hasarın değerlendirilmesinde gingerin koruyucu etkilerinin incelendiği bu deneysel çalışmada, denek olarak Wistar-albino sıçan kullanılmıştır. Deneysel tıkanma sarılığı hasarına karaciğerin verdiği yanıt sıçanlarda çok iyi belirlenmiş ve literatürdeki çalışmaların çoğunda sıçanlar tercih edilmiştir.^(45,59,80) Bu literatür bilgilerinden yola çıkarak bu çalışmada da sıçanlar kullanılmıştır.

Karaciğerde, deneysel tıkanma sarılığı hasarının etkilerinin ortaya çıkması için belli bir süreye gerek vardır. Literatürde genelde sıçan karaciğerinde tıkanma sarılığı modelinde 3 günlük koledok bağlama süresinden sonra karaciğerde hasarın ortaya çıktığı gösterilmiştir.⁽⁵⁹⁾

Tıkanma sarılığı ile birlikte safra tuzlarına bağlı karaciğer hasarı genellikle karaciğer disfonksiyonuna sebep olur ve ciddi morbidite ve mortaliteye yol açar.^(19,51) Safra tuzlarının yol açtığı karaciğer hasarının mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Kolestatik karaciğer hasarında, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hidrofobik safra asitlerinin birikimi, endotoksemi, mitokondriyel geçirgenliğin değişmesi ve serbest oksijen radikallerinin etkileri olası mekanizmalardır.^(19,69) Parasellüler yolakta, safra ile kan kompartmanları arasındaki tek bariyer tight junction'dır (TJ) ve okludin, klaudinler ve sitoplazmik protein ZO-1'den oluşmuştur.^(30,76) Bu tight junctionlar safranın kana oranla 1000 kez daha yoğun olmasını kontrol eder ve konsantrasyon gradientini düzenlerler.⁽⁵⁷⁾ Kan safra bariyeri, safra sekresyonuna kanın karışmasını önlemekle görevlidir.⁽⁵²⁾ Önceki çalışmalarda, hayvan modellerinde kolestaza sekonder bu tight junction'larda yapısal ve fonksiyonel değişiklikler meydana geldiği saptanmıştır.^(56,80) Koledok bağlanmasında, bu tight junctionların bağlarının azaldığı, bağlantıların derinliğinin arttığı ve dramatik olarak endotoksin ve peroksidaz geçirgenliğinin arttığı ve hepatosit apoptozisinin yükseldiği bulunmuştur.^(56,80)

Zencefilin yapılan çalışmalarda antienflamatuar, antiplatelet, antioksidan, antimikrobal, antienflamatuar, antiemetik, radyoprotektif, gastrokinetik, kolekog (safra akımını artırıcı) etkileri tesbit edilmiştir.⁽⁸⁵⁾ Xianglu ve arkadaşları zencefil ekstresinin ratlarda oral gavaj yoluyla 2000 mg/kg doza kadar güvenle kullanıldığını saptamışlar. El-Sharaky ve arkadaşları ratlarda yaptığı çalışmada gingeri oral gavaj yoluyla 100, 200, 300 mg/kg dozda kullanmıştır. Safra yollarını bağlayarak zencefil ekstresinin karaciğer koruyucu etkilerini saptamak amacıyla yapılan bu deneysel çalışmada etkinin doz bağımlı olup olmadığını saptamak için 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında 2 ayrı tedavi seçeneği kullanıldı. Bu çalışmada sham grubu ve kontrol grubu ile ginger grupları arasında çalışılan hem doku hem serum parametrelerinde istatistiki bir anlam bulunmadı (her karşılaştırma için $p>0.05$, Tablo 1). Sadece kontrol grubunda ginger 1 grubuna göre serum MDA düzeyi daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (her karşılaştırma için $p>0.05$, Tablo 1); bu da gingerin tek başına karaciğere zararlı etkisi olmadığını gösterdi.

Biliyer tıkanıklık sonucu, barsak karaciğer aksı bozulmakta ve sonucunda barsak bariyeri yetersiz kalmakta ve kolestatik hasar gelişmektedir.⁽⁵¹⁾ Kolestatik karaciğer hasarında safra asitlerinin dokuda birikimi artmakta ve hepatositlerde safra akımı yavaşlayarak inflamasyonu tetiklemekte ve bu da serbest oksijen radikallerini ve oksidatif hasarı arttırmaktadır.^(19,69) Bunun sonucunda apoptozis indüklenerek hepatositler zarar görmektedir. Karaciğer dokusunda bu serbest oksijen radikallerinin kaynağını, mitokondrial elektron transport zinciri, araşidonik asit metabolitleri, hücre içi kalsiyum iyon artışı, ksantin oksidaz sistemi, demir iyonu vb etkenler oluşturmaktadır.^(59,80) Bunlar birbirini zincirleme şekilde etkileyerek hücre fonksiyonlarını bozmakta, membran yıkımını artırmakta ve endojen toksinleri açığa çıkarmaktadır. Bu hasar sonucunda yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin azalması, hücre içi serbest kalsiyum iyonunu artırmakta ve hücre fonksiyonlarını bozarak hücre zarının parçalanmasına yol açmaktadır. Tıkanma sarılığı modellerinde karaciğer hasarının önlenmesinde, serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ve blokajı, nötrofillerin rolünün engellenmesi ve lipo- ve siklooksijenaz yolunun inhibe edilmesi gibi çeşitli

yöntemler kullanılmıştır.^(6,59) Karaciğer hasarını göstermek için bu çalışmada serum AST, ALT, ALP, GGT, GSH, MDA, SOD değerleri, doku GSH, MDA ve SOD değerleri ve karaciğer hücresi apoptozisi bakılmıştır.

Tıkanma sarılığı oluştuğunda kan biyokimyasında özellikle bilirubin ve ALP değerlerinde artış olmaktadır. Bununla birlikte kolestaz nedeniyle karaciğerdeki hasarlanma sonucunda AST, ALT, GGT seviyelerinde de artış gözlenmektedir.⁽⁶⁴⁾

Yaptığımız çalışmada tıkanma sarılığı oluşturduğumuz ratlarda AST, ALT, GGT ve T.Bilirubin seviyelerinde artış olduğunu saptadık. Kontrol ve çalışma gruplarındaki bu değerler arası farklılıklar istatistiksel olarak da anlamlıydı. Kitani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tıkanma sarılığı oluşturulan hayvan grubuna Ursodeoksikolik asit verilmesini takiben hepatositlerde görülen mikroveziküler yağlanmada önemli azalma buna bağlı olarak AST, ALT ve GGT değerlerinde düşme olduğunu göstermiştir.⁽⁹⁾ Bu çalışmada, tedavi gruplarında bilirubin ve T2 deki GGT değeri hariç serum değerlerinde istatistiksel olmasa da anlamlı bir düşme tespit edilmiştir.

Koledok bağlanması sonrası karaciğer hasarını değerlendirdiğimizde, bir lipid peroksidasyon ürünü olan serum MDA düzeyinin tedavi-1 grubunda en yüksek bulunduğu (72,95 nmol/ml), fakat çalışma (63,80 nmol/ml) ve tedavi- 2 (71,01 nmol/ml) grupları ile arasında istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır. Bu yüzden tıkanma sarılığı sonrası gelişen karaciğer hasarında tedavi amaçlı olarak kullandığımız zencefil ekstresinin beklenen aksine iskemi ve lipid peroksidasyonu üzerine koruyucu etkisi olmadığı görülmüştür. Uz ve arkadaşlarının renal iskemi ve reperfüzyon hasarında MDA değerlerinin incelenmesinde doku düzeyindeki çalışmalarda gingerin I/R hasarını azalttığı gösterilmişken serum MDA düzeyleri I/R ve tedavi gruplarında değişmemiş olarak bulunmuştur. Bu deneysel çalışmada doku MDA değerlerinin, çalışma ve tedavi gruplarında istatistiksel olarak benzer bulunmuş olması koledok bağlanmasında gingerin anti oksidan etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

En düşük doku MDA değerleri sırasıyla G1 ve G2 de tespit edilmiştir ve bu sonuç gingerin sağlam ratlarda antioksidan olduğunu gösteren bir bulgudur.

Serum GSH düzeyleri, tedavi 1 grubunda yüksek çıkmış ve onu sırasıyla T2 ve Çalışma grubu izlemiştir(tablo 4). Fakat gruplar arası istatistiksel fark bulunmamıştır. Doku GSH değeri bu çalışmada en yüksek G1 ve sonra sırasıyla çalışma ve kontrol gruplarında bulunmuştur (tablo 3). En düşük değer ise tedavi gruplarında tespit edilmiştir. Bilindiği gibi GSH sitozol ve mitokondrideki SOD tarafından oluşturulan H₂O'yu uzaklaştırır. Ayrıca lipid peroksidlerinin indirgenmesini katalizler.⁽³⁸⁾ Bu özellikleri ile antioksidan özellik gösterir. Tıkanma sarılığı modellerinde, anti oksidan ve oksidan aktivitenin yükseldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat bu çalışmalarda tedavi amaçlı kullanılan ilaçlar genelde oksidan aktiviteyi düşürürken anti oksidan aktiviteyi artırmıştır. Bu sonuçlara göre ginger MDA düzeylerini değiştirmeyerek oksidan aktiviteyi azaltmamış fakat istatistiksel olarak anlamlı olmasa da serum GSH düzeyini yükselterek antioksidan aktiviteye katkıda bulunmuştur. Doku GSH değeri açısından ise oldukça ilginç değerler elde edilmiştir. Tek başına gingerin 100mg/kg/gün olarak verildiği G1 grubunda antioksidan olan GSH en yüksek iken ginger verilen tedavi gruplarında en düşüktür. Bu sonuçlar, Gingerin bitkisel olarak alındığı normal sağlıklı ratlarda doz bağımlı antioksidan etkisi olduğunu fakat tıkanma sarılığı oluşturulan ratlarda antioksidan etkisinin olmadığını göstermiştir.

Apoptozis, normal hücre döngüsü, immün sistem, embriyonik gelişim, metamorfoz hormona bağımlı atrofi ve kimyasallarla tetiklenen hücre ölümü gibi olaylarda yer alan önemli bir etmendir.^(1,21,49)

Hepatosellüler apoptozis, alkolik veya ilaca bağımlı karaciğer hasarında, viral veya otoimmün hepatitlerde ve kolestatik hastalıklarda çok önemli role sahiptir.⁽⁶²⁾ Karaciğer hasarında, histopatolojik olarak nekrozun sorumlu gibi görülmesine karşın son zamanlarda karaciğer hücre apoptozisi ön plana çıkmaktadır ve çalışmalarda hasarın değerlendirilmesinde

apoptozis tayini yapılmaktadır.^(46,53) Kalsiyum ve mitokondrial homeostazisin bozulması, reaktif oksijen türevlerinin artışı, protein sentezinin sonlanması ve membran hasarı, apoptozis ve nekrozun ortak mekanizmalarıdır.⁽²⁵⁾ Deneysel çalışmalar göstermiştir ki patofizyolojik olaylardaki hepatoselüler apoptozisin nötrofil göçünü uyardığını ve karaciğerde nekroz oluşumuna yol açtığını göstermiştir.⁽⁴¹⁾ Proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin dengesinin bozulması da karaciğer hasarının ilerlemesinde büyük rol oynamaktadır. Bu sitokinlerin dengesini, karaciğerin sabit makrofajları olan ve sitokin kaynağı olan Kupffer hücreleri düzenlemektedir.⁽²³⁾

Zang ve arkadaşlarının, ratlarda koledoğu bağlayarak oluşturduğu ekstrahepatik kolestaz modelinde artmış hepatosit apoptozisi saptanmıştır.⁽⁵⁹⁾ Tedavi edilmezse, kolestaz, karaciğer disfonksiyonuna sebep olmakta ve buna bağlı fibrojenesis gelişmekte ve siroza ilerlemektedir.⁽⁶⁾ Tight junction'lar portal sisteme safranın geçişinin engellenmesinde önemli rol oynamaktadır.^(50,77) Koledoğun bağlanması safra lümeninin genişlemesi ve mikrovillusların kaybolması gibi yapısal değişiklikler izlenmiştir.⁽⁷⁷⁾ Koledoğun bağlanmasından 10 gün sonra tight junction'ların sayısının azaldığı, bağlantılarının kaybolduğu ve düzensiz ağ yapıları haline dönüştüğü izlenmiştir. Floresan incelemelerde, okludin ve ZO-1 patenlerinde düzensizlikler görülmüştür.⁽⁸⁾ Tight junction'ların bu düzensizliğindeki muhtemel etken endotoksinlerdir. Dolaşıma geçen yüksek miktardaki endotoksinler, sitokinlerin ve TNF-alfa, IL-1 ve serbest oksijen radikalleri gibi pro-inflamatuvar mediatörlerin salınımı ile karakterize sistemik inflamatuvar yanıtı oluşturmaktadır.^(29,55) Apoptozisteki artışın sebebi ise koledoğun bağlanması sonrası gelişen bu olaylar (proinflamatuvar sitokin salınımı, T lenfosit aktivasyonu) veya bakteriyel toksinlerin direkt etkisi ile açıklanabilir.⁽¹³⁾ Bu çalışmanın planlanmasında gingerin, teorik olarak, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ile apoptozis ve biyokimyasal parametreler üzerinde etkili olabileceği öngörülmüştür.

Bir antioksidan olan süperoksit dismutaz aktivitesi serum ve dokuda çalışıldığında doku açısından tüm gruplar istatistiksel olarak benzer değerlere sahipken serum düzeyleri en yüksek G2 de çıkmıştır. Fakat çalışma grubu ile T1 ve T2 grupları açısından fark tespit edilmemiştir. Halbuki deneysel kolestatik sarılık yapılan Padillo'nun çalışmasında melatonin verilmesi hem apoptozis hem SOD açısından çalışma grubu aleyhine anlamlı sonuçlar bulunmuş ve antioksidan aktivitenin arttığı görülmüştür.⁽⁶⁹⁾ Bu çalışmada ise gingerin böyle bir etkisi tespit edilmemiştir. Tek başına normal ratlarda alındığında antioksidan etkiyi arttırmıştır.

Bu çalışmada gingerin tıkanma sarılığı modellerinde apoptozise yönelik koruyucu etkisi saptanmamıştır. Hatta, tedavi gruplarında apoptozis daha yüksek olarak saptanmıştır. Gingerin daha önceki çalışmalarda antienflamatuar, antioksidan, safra akımını arttırıcı, iskemi-reperfüzyon hasarını önleyici etkileri gösterilmiş olmakla beraber, deneysel tıkanma sarılığı sonrası gelişen karaciğer hasarın üzerine gingerin etkilerinin literatürde ilk kez bakıldığı bu çalışmada zencefil ekstresinin serum ve doku değerleri ve karaciğer hücresi apoptozis değerlerine bakılarak yapılan incelemeler sonucunda bu hasarı koruyucu, engelleyici yada azaltıcı bir etkisi saptanamamıştır.

ÖZET

Çocukluk çağında görülen sarılıklarının cerrahi açıdan önemli bir bölümü tıkanma sarılıklarıdır. Bu çalışmada zencefil ekstresinin (ginger), sıçanlarda safra yolları bağlanarak oluşturulan karaciğer hasarı üzerindeki etkilerini araştırılmıştır.

Bu çalışmada, 42 adet Wistar Albino sıçan her grupta 6 hayvan olacak şekilde 7 gruba ayrıldı; Kontrol (K) grubuna hiçbir işlem yapılmazken, Sham (S) grubuna sadece laparotomi yapıldı. Ginger-1 ve 2 (G1 ve G2) gruplarına cerrahi işlem yapılmadan sırasıyla 100 ve 200 mg/kg/gün ginger, 7 gün boyunca verildi. Çalışma (Ç) grubunda sadece koledok bağlandı. Tedavi-1 ve 2 (T1 ve T2) gruplarına koledokun bağlanmasını takiben post operatif 3. günden itibaren 7 gün süresiyle sırasıyla 100 ve 200 mg/kg/gün ginger verildi. Çalışma bitiminde serum AST, ALT, GGT, bilirubin ve hem doku hem de serum SOD, GSH, MDA ölçümleri ve karaciğer hücre apoptozis değerlendirilmesi için intrakardiyak ponksiyon ile kan ve doku örnekleri alındı.

Zencefil, serum ve doku düzeylerinde çalışma grubu ile tedavi grupları arasında ölçülen parametreler ve apoptozis açısından istatistiksel anlamlı (T2 grubunda AST değeri hariç) bir fark oluşturmamıştır. Doku GSH düzeyleri ve serum SOD değerleri sadece ginger alan gruplarda (G1 ve G2) hafif yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, zencefil ekstresinin serum ve doku değerleri ve karaciğer hücresi apoptozisi bakılarak yapılan incelemeler sonucunda tıkanma sarılığı ile oluşturulan hasarı koruyucu, engelleyici ya da azaltıcı bir etkisi saptanamamıştır.

SUMMARY

Obstructive jaundice is one of the most important surgical causes of childhood jaundices. The aim of this study is to investigate effects of ginger(*Gingiber officinalis*) extracts on liver damage in obstructive jaundice produced by experimentally ligating the choledochus.

Forty two Wistar-albino rats were randomly allocated into 7 groups (n=6). Nothing was performed in the control (K) group. Only laparotomy was performed in the sham (S) group. The ginger 1 and 2 (G1 and G2) groups received only 100 and 200 mg/kg/day dose of ginger extract for 1 week orally. In study group, common bile duct ligation was done. In treatment 1 and 2 (T1 and T2) group common bile duct ligation was followed by administration of 100 and 200 mg/kg/day dose of ginger extract for 1 week orally from the third post operative day. Blood samples and liver were harvested in order to evaluate the serum AST, ALT, GGT, bilirubin, SOD, GSH, MDA and liver tissue SOD, GSH, MDA levels and liver apoptosis. Ginger administration did not result in any differences of serum or tissue levels of the studied parameters and liver apoptosis between the groups statistically (except AST levels in group T2). Tissue GSH and serum SOD levels were only mildly increased in groups receiving ginger alone. In conclusion, there is no evidence for protective, inhibitive and decreasing effects of ginger extract on liver injury in experimental obstructive jaundice with these findings.

KAYNAKLAR

1. Allen RT, Hunter WJIII, Agrawae DK. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 37: 215–228.(1997)
2. Almasan A, Ashkenazi A (2003): Apo2L/TRAIL; Apoptosis signaling, biology and potential for cancer therapy. *Cytokine & Growth Factor*, 14: 337–348.
3. Altman RP,Chandra R Lily JR and Stolar CHJ:Pediatric Hepatobiliary Disease *Surg Clin North AM* (65(5) 1245-1267, (1985).
4. Andreoli T, Bennett J.C, Carpenter C.J, Plum F, Smith L.H: jaundice. *Cecil essentials of medicine* 1995; chapter 5,323-327.
5. Aran Ö: Safra yolları hastalıkları. Sayek İ.(ed)Temel cerrahi 1996;cilt 2: 1299.
6. Assimakopoulos SF, Scopa CD, Charonis A, Spiliopoulou I, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Experimental obstructive jaundice disrupts intestinal mucosal barrier by altering occludin expression: beneficial effect of bombesin and neurotensin. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 748-757.
7. Bacon J, Ginger: inhibition of thromboxane synthetase and stimulation of prostacyclin: relevance for medicine and psychiatry. *Med. Hypotheses*, 20, 271-278 (1986).
8. Bailey ME. Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1976; 63: 774-778.
9. Barisic K, Petrik J, Rumora L (2003): Biochemistry of apoptotic cell death. *Acta Pharm.*, 53: 151-164.

10. Başaklar Can, Bebek ve çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları Cilt 1. Ankara (2006), 899-926
11. Batman F, Arslan S: Karaciğer fizyolojisi. Sayek İ.(ed). Temel cerrahi 1996; cilt 2: 1205.
12. Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), ilaveli 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (1999).
13. Bemelmans MH, Gouma DJ, Greve JW, Buurman WA. Cytokines tumor necrosis factor and interleukin-6 in experimental biliary obstruction in mice. Hepatology 1992; 15: 1132-1136.
14. Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M, Hsueh A J W (1995): Apoptosis in testis germ cells; developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages. Endocrinology, 136 (1): 5-12.
15. Bode AM, Ma WY, Surh YJ, Dong Z, Inhibition of epidermal growth factor-induced cell transformation and activator protein 1 activation by 6-gingerol, Cancer Res. , 61, 850-853 (2001).
16. Brouckaert G, Kalai M, Krysko D V, Saelens X, Vercammen D, Ndlovu M et al. Phagocytosis of necrotic cells by macrophages is phosphatidylserine dependent and does not induce inflammatory cytokine production. Molecular Biology of the Cell, 15: 1089-1100 (2004).
17. Cao ZF, Chen ZG, Guo P, Zhang SM, Lian LX, Luo L et al. Scavenging effects of ginger on superoxide anion and hydroxyl radical, Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 18, 750-751, 764 (1993).

18. Chrubasik S, Pittler MH, Roufogalis BD, Zingiberis Rhizoma: A Comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 12, 684-701 (2005).
19. Chuang JH, Chang NK, Huang CC et al (2004) Biliary intervention augments chemotactic reaction and aggravates cholestatic liver injury in rats. *J Surg Res* 120(2):210–218.
20. Clement WDB, Halliday I, Me Caigue MD, et al: Effects of extrahepatic obstructive jaundice on kupffer cell clearance capacity. *Arch Surg* 1993 128: 200- 205.
21. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*.1997;326:1–16.
22. Czyrko C, Steigman C, Turley DL, Drott HR, Ziegler MM: The role of reperfusion injury in occlusive intestinal ischemia of the neonate: malonaldehyde-derived fluorescent products and correlation of histology. *J Surg Res* 51(1):1-4, (1991).
23. Dahle, M. K., Overland, G., Myhre, A. E., Stuestol, J. F., Hartung, T., Krohn et al.(2004). The phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway is activated by lipoteichoic acid and plays a role in Kupffer cell production of interleukin- 6 (IL-6) and IL-10. *Infect Immun* 72, 5704–11.
24. Dayan Y B, Kaveri S V, Kazatchkine M D, Shoenfeld Y (2000): Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies? *Medical Hypotheses*, 55 (2): 103–108.
25. Eichhorst, S. T. (2005). Modulation of apoptosis as a target for liver disease. *Expert Opin Ther Targets* 9,83-99.

26. Erdoğan B B (2003): Apoptosis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. Akciğer Arşivi, 4: 165-174.
27. ESCOP Monographs 2nd ed. Thieme, New York, NY (2003).
28. Estaquier J, Idziorek T, Bels F D, Sinoussi F B, Hurtrel B, Aubertin A M (1994): Programmed cell death and AIDS; significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. Immunology; 91: 9431-9435.
29. Farhadi A, Banan A, Fields J, Keshavarzian A. Intestinal barrier: an interface between health and disease. J Gastroenterol Hepatol 2003; 18: 479-497.
30. Furuse M, Fujita K, Hiragi T et al (1998) Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. J Cell Biol 141(7):1539–1550.
31. Galle P R (1997): Apoptosis in liver disease. Journal of Hepatology, 27: 405-412.
32. Gavrieli Y, Sherman Y, Shmuel A, Sason B (1992): Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. The Journal of Cell Biology, 119 (3): 493-501.
33. Giannetti L, Consolo U, Magnoni C, Muzio L L (2004): Apoptosis; escaping strategies in human skin cancer. Oncology Reports, II: 401-405.
34. Guimaraes C A, Linden R (2004): Programmed cell death; apoptosis and alternative deathstyles. Eur. J. Biochem., 271: 1638–1650.
35. Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chemistry 1995; 41 (12): 1819-1828.

36. Gürbilek M, Dağlar C, Aköz M, Topçu C (2004): Diabetes mellituslu hastalarda hastalık süresinin eritrosit membranı Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve DHEA(S), glukoz, lipid düzeyleri üzerine etkisi. Turkish Journal of Biochemistry, 29 (3): 237-242.
37. Güvenç T, İnfeksiyöz bursal hastalığın immunoperoksidaz tekniği ile tanısı ve B lenfositlerde apoptozisin incelenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara. (2002)
38. Halliwell B: Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause or consequence? Lancet 344:721-724, (1994).
39. Hashimoto K, Kase Y, Murata P, Kido T, Nakai Y, Sakakibara L et al. Pharmacological evaluation of Shokyo and Kankyo. Biol. Pharmaceut Bull, 25, 1183-1187 (2002).
40. Huppertz B, Frank H G, Kaufmann P (1999): The apoptosis cascade; morphological and immunohistochemical methods for its visualization. Anat. Embryol., 200: 1-18.
41. Jaeschke, H., Fisher, M. A., Lawson, J. A., Simmons, C. A., Farhood, A., and Jones, D. A. (1998). Activation of caspase 3 (CPP32)-like proteases is essential for TNF-alpha-induced hepatic parenchymal cell apoptosis and neutrophil-mediated necrosis in a murine endotoxin shock model. J Immunol 160, 3480–86.
42. Jagetia GC, Baliga MS, Venkatesh P, Ulloor JN, Influence of ginger rhizome (Zingiber officinale roscoe) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole body exposure to gamma radiation, Radiat. Res. 160, 584-592 (2003).

43. Januire LC, Carneio J, Long JA: Digestive Tract Basic Histology Fifth Edition, Californiya 1996; 354-379.
44. John L Cameron: Liver, anatomy: Current Surgery 2001; 309.
45. Kadioğlu M. B. Tıkanma sarılığı oluşturulan modelde ursodeoksikolik asit ve glutamin'in bakteriyel translokasyon, karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer histopatolojisine olan etkileri. Uzmanlık Tezi. S. B. Kartal Eğitim ve Araştırma Hast. 2005.
46. Kasahara I, Saitoh K, Nakamura K. Apoptosis in acute hepatic failure: histopathological study of human liver tissue using the tunel method and immunohistochemistry. J Med Dent Sci 2000; 47: 167-175.
47. Katano H, Pesnicak L, Cohen J I (2004): Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. PNAS, 101: 4960-4965.
48. Kawai T, Kinoshita K, Koyama K, Takahashi K, Antiemetic principles of Magnolia obovata bark and Zingiber officinale rhizome. Planta Medica, 60, 17-20 (1994).
49. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biology phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26: 239-257.
50. Kimmings AN, van Deventer SJ, Obertop H, Rauws EA, Huibregtse K, Gouma DJ. Endotoxin, cytokines, and endotoxin binding proteins in obstructive jaundice and after preoperative biliary drainage. Gut 2000; 46: 725-731.

51. Kismet K, Sabuncuoglu MZ, Kilicoglu SS et al (2008) Effect of propolis on oxidative stress and histomorphology of liver tissue in experimental obstructive jaundice. *Eur Surg Res* 41(2):231–237.
52. Kojima T, Yamamoto T, Murata M et al (2003) Regulation of the blood–biliary barrier: interaction between gap and tight junctions in hepatocytes. *Med Electron Microsc* 36(3):157–164.
53. Kuhla A, Eipel C, Siebert N, Abshagen K, Menger MD, Vollmar B. Hepatocellular apoptosis is mediated by TNFalpha-dependent Fas/FasLigand cytotoxicity in a murine model of acute liver failure. *Apoptosis* 2008; 13: 1427-1438.
54. Kumar V, Cotran R.S, Robbins S.L: Karaciğer ve safra yolları. *Temel Patoloji* 1992; bölüm onaltı, 525.
55. Kuzu MA, Kale IT, Col C, Tekeli A, Tanik A, Koksoy C. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation in humans. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2159-2164.
56. Lora L, Mazzon E, Martines D et al., Hepatocyte tight-junctional permeability is increased in rat experimental colitis. *Gastroenterology* 113(4):1347–1354 (1997).
57. Maly IP, Landmann L (2008) Bile duct ligation in the rat causes upregulation of ZO-2 and decreased colocalization of claudins with ZO-1 and occluding. *Histochem Cell Biol* 129(3):289–299.
58. Mcphie DL, Coopersmith R, Peralta AH, Chen Y, Ivins KJ, Manly SP, Kozlowski MR, Neve KA, Neve RL (2003): DNA synthesis and neuronal apoptosis caused by familial alzheimer disease mutants of the amyloid

precursor protein are mediated by the p21 activated kinase PAK3. *The Journal of Neuroscience*, 23 (17): 6914–6927.

59. Ming Zhang, Xiao-Qiong Wang, Yu-Kun Zhou, Yan-Lei Ma Effects of oral *Lactobacillus plantarum* on hepatocyte tight junction structure and function in rats with obstructive jaundice. *Mol Biol Rep.*9-10, (2009) .
60. Miyoshi N, Nakamura Y, Ueda Y, Abe M, Ozawa Y, Uchida K et al. Dietary ginger constituents, galanals A and B, are potent apoptosis inducers in human T lymphoma jurkat cells, *Cancer letters*, 199, 113-119 (2003).
61. Müslümanoğlu M. Safra kesesinin selim hastalıkları: Genel cerrahi/ İ.Ü.T.F. temel ve klinik bilimler ders kitapları 2002; cilt II,sf 1177.
62. Neuman, M. G. (2001). Apoptosis in diseases of the liver. *Crit Rev Clin Lab Sci* 38, 109–66.
63. Nishihara H, Kondoh S K, Insel P A, Eckmann L (2003): Inhibition of apoptosis in normal and transformed intestinal epithelial cells by cAMP through induction of inhibitor of apoptosis protein (IAP)-2. *PNAS*, 100: 8921-8926.
64. Nychytailo Mİu, Malyk SV: Biochemical markers in diagnosis and prognosis of obturative jaundice. *Klin Khir.* 2004 ; ;(8):13-18.
65. Ozeki N, Mogi M, Nakamura H, Togari A (2002): Differential expression of the Fas-Fas ligand system on cytokine-induced apoptotic cell death in mouse osteoblastic cells. *Archives of Oral Biology*, 47: 511-517.
66. Öktem S, Özhan M H, Özol D (2001): Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2 (1): 91-95.

67. Öztürk F (2002): Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9 (2): 143-148.
68. Özvaran M K (2004): Malign mezotelyomada gen tedavisi. Toraks Dergisi, 5 (2): 110-115.
69. Padillo FJ, Cruz A, Navarrete C et al (2004) Melatonin prevents oxidative stress and hepatocyte cell death induced by experimental cholestasis. Free Radic Res 38(7):697–704.
70. Piret J P, Arnould T, Fuks B, Chatelain P, Remacle J, Michiels C (2004): Caspase activation precedes PTP opening in TNF-a-induced apoptosis in L929 cells. Mitochondrion, 3: 261-278.
71. Prem Puri, Michael Höllwarth Pediatric Surgery Diagnosis and Management 2009, 537-545.
72. Rashed M M, Ragab N M. (2004): The pattern of expression of the apoptotic inducer fas and the apoptotic inhibitor bcl-2 oncogenes immunohistochemically in bone-marrow invaded by the non-hodgkin lymphomas. Turk. J. Haematol., 21 (3): 141-147.
73. Ratych ER, SmithWG: Anatomy and physiology of the liver. (Ed) George D. Zuidema GE : Surgery of the Alimentary Tract, Fourth Edition, Philedelphia,W.B Saunders Company 1996;357-374.
74. Roshal M, Zhu Y, Planelles V (2001): Apoptosis in AIDS. Apoptosis, 6: 103–116.
75. Saraste A, Pulkki K (2000): Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. Cardiovascular Research, 45: 528-537.

76. Schmitt M, Horbach A, Kubitz R et al (2004) Disruption of hepatocellular tight junctions by vascular endothelial growth factor (VEGF): a novel mechanism for tumor invasion. *J Hepatol* 41(2):333–335.
77. Scopa CD, Koureleas S, Tsamandas AC, Spiliopoulou I, Alexandrides T, Filos KS, Vagianos CE. Beneficial effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on intestinal bacterial translocation, endotoxemia, and apoptosis in experimentally jaundiced rats. *J Am Coll Surg* 2000; 190:423-431.
78. Srivastava KC, Effects of aqueous extracts of onion, garlic and ginger on platelet aggregation and metabolism of arachidonic acid in the blood vascular system: in vitro study. *Prostaglandins Leukot. Med.* 13, 227-235 (1984).
79. Staley K, Blaschke A J, Chun J (1997): Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 4: 66 -75.
80. Takakuwa Y, Kokai Y, Sasaki K et al (2002) Bile canalicular barrier function and expression of tight-junctional molecules in rat hepatocytes during common bile duct ligation. *Cell Tissue Res* 307(2):181–189.
81. Tomatır A G (2003): Apoptoz; programlı hücre ölümü. *T. Klin. J. Med. Sci.*, 23: 499-508.
82. Ulukaya E (2007): Apoptozis ders notları. Erişim: <http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozisersnotu.pdf>, Erişim tarihi: 04.05.2007.
83. Walker P R, Leblanc J, Smith B, Pandey S, Sikorska M (1999): Detection of DNA fragmentation and endonucleases in apoptosis. *Enzymology*, 17: 329-338.

84. Westerterp-Plantenga, M., Diepvens, K., Joosen, A.M., Berube-Parent, S., Tremblay, A., 2006. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiol. Behav.* 89, 85–91.
85. WHO Monographson Selected Medicinal Plants, Vol. 1, Geneva (1999).
86. Wijsman J H, Jonker R R, Keijzer R, Velde C J H, Cornelisse C J, Dierendonck J H V (1993): A new method to detect apoptosis in paraffin sections; in situ end-labeling of fragmented DNA. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 41 (1): 7-12.
87. Willingham MC (1999): Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 47 (9): 1101-1109.
88. Wright S C, Wei Q S, Kinder D H, Larrick J W (1996): Biochemical pathways of apoptosis; nicotinamide adenine dinucleotide-deficient cells are resistant to tumor necrosis factor or ultraviolet light activation of the 24-kd apoptotic protease and DNA fragmentation. *J. Exp. Med.*, 183: 463-471.
89. Yamahara J, Huang QR, Li YH, Xu L, Fujimura H, Gastrointestinal motility enhancing effect of ginger and its active constituents, *Chem. Pharm. Bull.* 38, 430-431 (1990).
90. Yamahara J, Miki K, Chisaka T, Sawada T, Fujimura H, Tomimatsu T et al. Cholagogic effect of ginger and its active constituents. *J Ethnopharmacol.* 13, 217-225 (1985).
91. Yılmaz İ (2005): Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL

yöntemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul.

92. Zhang J, Xu M (2002): Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. Trends in Cell Biology, 12 (2): 84-89.