

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA TİYOASETAMİDLE OLUŞTURULAN KARACİĞER
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ EKSTRAKTININ
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Serdar AYCAN

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr. Ulvi DEMİREL

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Ulvi DEMİREL

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na adım attığım 23 Aralık 2011 tarihinden itibaren ihtisas sürem boyunca üzerimde çok emeği olan ve her konuda bilgi ve tecrübelerini aktaran İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER'e, tez hazırlığı, yazım ve düzeltme aşamalarında yardımını hiç bir zaman esirgememiş olan, daima sabırla ve güleryüzüyle her türlü soruma cevap veren, kendisinden asistanlığım boyunca çok şey öğrendiğim çok değerli danışman hocam Gastroenteroloji B D. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ulvi DEMİREL'e, her türlü problemime yetişen, hep iyi niyetiyle bana sürekli cesaret veren, Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU'na ve Prof. Dr. Mehmet YALNIZ'a, tezimin oluşmasında katkısını hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Dr. Uğur DEVECİ'ye, usta çırak ilişkisiyle aktarılan bu kıymetli mesleğimizde deneyim ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan tüm İç Hastalıkları AD. Öğretim Üyelerine, gece gündüz demeden hastalara şifa olduğumuz, birlikte sayısız nöbet tuttuğumuz sevgili asistan arkadaşlarıma, tez yapım aşamasında desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili arkadaşım Mübin ÖZERCAN'a ve son olarak, yalnızca asistanlığım süresince değil hayata gözümü açtığım ilk andan itibaren sevgisini, desteğini ve güvenini her zaman yanımda hissettiğim, emekleri herkesten fazla olan sevgili annem ve babam Hacer & Günay AYCAN'a ve sevgisini, ilgisini, desteğini eksik etmeyen biricik kardeşim ve meslektaşım Selin AYCAN KADIOĞLU'na teşekkür ederim.

ÖZET

Akut karaciğer yetmezliği halen mortalitesi yüksek klinik bir tablodur. Günümüzde akut hepatotoksisite durumunda çok az sayıda alternatif tedavi yöntemi vardır. Bu çalışmada tiyoasetamidle (TAA) oluşturulan karaciğer toksisitesinde üzüm çekirdeği ekstraktının (ÜÇE) etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada 63 Wistar albino rat 9 gruba ayrıldı. Grup 1: kontrol grubuydu. Grup 2: sham grubuydu. Grup 3: 7 gün süreyle sadece düşük doz üzüm çekirdeği ekstraktı (DDÜÇE) (150mg/kg) verilen gruptu. Grup 4: 7 gün süreyle sadece yüksek doz üzüm çekirdeği ekstraktı (YDÜÇE) (500mg/kg) verilen gruptu. Grup 5: 2 gün süreyle 100 mg/kg TAA ve eşzamanlı serum fizyolojik (SF) uygulanan gruptu. Grup 6'da 2 gün 100 mg/kg TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle DDÜÇE verildi ve TAA sonrasında DDÜÇE uygulamasına devam edildi. Grup 7'de 2 gün 100 mg/kg TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle YDÜÇE başlandı ve YDÜÇE 7 gün devam edildi. Grup 8'de 2 gün 100 mg/kg TAA ile eşzamanlı DDÜÇE başlandı ve 7 gün devam edildi. Grup 9'da 2 gün 100 mg/kg TAA ile eşzamanlı YDÜÇE başlandı ve 7 gün devam edildi.

Çalışmamızda 2 gün ard arda 100 mg/kg TAA verilerek karaciğer toksisitesi başarıyla oluşturuldu. TAA verilmesi proinflatuar sitokinlerde Nükleer Faktör Kappa B, (NFkB) Nükleer Faktör Eritroid-2-Related Faktör 2 (Nrf2) artış, Adenosin Mono Fosfat-Aktif Protein Kinaz (AMPK) ve Total Antioksidan Seviyede (TAS) azalma, Total Oksidatif Stres (TOS) düzeyinde artma ile sonuçlandı. Tedavi gruplarından toksisite öncesi YDÜÇE tedavi grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında AMPK düzeyi ve karaciğer nekroz ve inflamasyon parametreleri üzerinde anlamlı olmasa da önemli olumlu etkiler göstermiştir. Bu bulgular yüksek doz ve daha uzun süreli ÜÇE tedavisinin kullanıldığı yeni çalışmaların bu konuda önemli bilgiler verebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, tiyoasetamid, üzüm çekirdeği ekstraktı, rat, oksidatif stres

ABSTRACT

THE EFFECTS OF GRAPE SEED EKSTRACT ON THIOACETAMIDE INDUCED LIVER TOXICITY IN RATS

Acute liver failure is a clinical condition stil with high mortality. Today, there are very few alternative treatment methods for acute hepatotoxicity. In this study we aimed to investigate the effects of grape seed extract (GSE) on thioacetamide (TAA) induced liver toxicity.

In this study, 63 Wistar rats were divided into 9 groups. Group 1 was the control group. Group 2 was the sham group. Group 3: treated with low dose of GSE for 7 days (150 mg/ kg). Group 4: treated with high dose of GSE for 7 days (500 mg/ kg). Group 5: 100 mg/ kg TAA and simultaneous saline (SF) was administered for 2 days. In Group 6, low dose GSE was administered 3 days before 2 days TAA administration of 100 mg/ kg dose and application was also continued after TAA. In Group 7, high dose GSE was administered 3 days before 2 days TAA administration of 100 mg/ kg dose and application was also continued 7 days after TAA. In Group 8, low dose GSE was administered simultaneously with 2 days TAA administration of 100 mg/ kg dose and continued for 7 days. In Group 9, high dose GSE was administered simultaneously with 2 days TAA administration of 100 mg/ kg dose and continued for 7 days.

In our study, two consecutive days of 100 mg/ kg TAA was given and liver toxicity was successfully induced. TAA administration was resulted with increase in proinflammatory cytokines such as nuclear Factor kappa B (NFk- B), Nuclear Factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2), Adenosine Mono Phosphate-Activated Protein Kinase (AMPK) and total oxidative stress (TOS) level and reduction in Total Antioxidant Level (TAL). High dose GSE administration was related with positive effects on AMPK levels and liver necrosis and inflammation parameters without significance. These findings suggest that new studies with high dose and long- time GSE treatment can provide important information on this subject.

Keywords: Liver, thioacetamide, grape seed extract, rat, oxidative stres.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Karaciğer Anatomisi	1
1.2. Karaciğerin Sitolojisi	3
1.3. Karaciğerin Fonksiyonları	4
1.4. Karaciğer yetmezliği	5
1.4.1. Patogenez	8
1.4.2. Klinik	9
1.4.3. Hepatotoksisite Patogenezi	11
1.5. İlaçlara Bağlı Hepatotoksisite Tipleri	12
1.5.1. İntrensek Toksisite	13
1.5.2. İdiosenkratik Hepatik Toksisite	15
1.6. Karaciğer Hastalığına Sahip Hastaların Risk Sınıflaması	15
1.6.1. Modifiye Child-Pugh Skorlaması	15
1.7. Tiyoasetamide Bağlı Hepatotoksisite	18
1.7.1. Tiyoasetamid (TAA)	18
1.7.2. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	21
1.7.3. Total Oksidatif Stres (TOS)	21
1.7.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)	21
1.8. Antioksidan Savunma Sistemi	22
1.8.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	23
1.9. Oksidatif Karaciğer Hasarının Önlenmesinde Antioksidanların Yeri	24
1.10. N-Asetil Sistein (NAC) ve Silymarin	25

1.11. Nükleer Faktör Kappa B (NFκB)	25
1.11.1. NFκB'nin İşlevi ve Aktivasyonu	25
1.12. Karaciğer Patolojilerinde NfκB'nin Rolü	26
1.12.1. Oksidatif Stres ve NFκB	27
1.13. NFκB ve Antioksidanlar	27
1.14 Nükleer Faktör Eritroid-2-Related Faktör 2 (Nrf2)	28
1.14.1. Antioksidan maddelerin bulundukları besinler	28
1.15. Üzüm Çekirdeği Özütü (ÜÇÖ)	29
1.15.1. ÜÇÖ'nün etkileri	30
1.15.2. Proantosiyanidinlerin etkileri	30
1.16. Resveratrol	31
1.16.1. ÜÇÖ'nün Yan Etkileri ve Güvenilirliği	32
2. GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi ve Deney Protokolü	34
2.2. Örneklerin Hazırlanması ve Saklanması	34
2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümleri	34
2.4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemiyle Biyolojik Numunelerin Analizleri	35
2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)	36
2.6. Total Oksidan Seviye (TOS)	36
2.7. Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi	36
2.8. İstatistiksel Analiz	37
3. BULGULAR	38
3.1. Gruplar	38
3.2. Biyokimyasal veriler ve ELİSA Sonuçları	38
3.3. Histolojik Bulgular	58
4. TARTIŞMA	62
5. KAYNAKLAR	66
6. ÖZGEÇMİŞ	85

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Karaciğerin fonksiyonları	5
Tablo 2.	Akut karaciğer yetmezliği nedenleri	7
Tablo 3.	Hepatik ensefalopati evreleri	10
Tablo 4.	Akut karaciğer yetmezliğinde etyolojiye yönelik testler	11
Tablo 5.	İlaç hepatotoksitesi tipleri-Patogenez	13
Tablo 6.	Modifiye Child-Pugh Skorlaması	16
Tablo 7.	King's College Kriterleri	17
Tablo 8.	Karaciğer naklinde kontrendikasyonlar	18
Tablo 9.	Karaciğer nakli için rölatif kontrendikasyonlar	18
Tablo 10.	İnflamasyon ve Nekroz	37
Tablo 10.	Gruplarda yer alan ratların deney başlangıcındaki ağırlıkları	38
Tablo 11.	Örneklem grubunun sonuçlarına ilişkin istatistiksel bilgiler	39
Tablo 12.	Örneklem grubunun sonuçlarına ilişkin ortalama değerler	39
Tablo 13.	Normal dağılım testi sonuçları	40
Tablo 15.	Grup 6 ve 7 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	43
Tablo 16.	Grup 5 ve 6 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	44
Tablo 17.	Grup 5 ve 7 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	46
Tablo 18.	Grup 5 ve 8 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	48
Tablo 19.	Grup 5 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	50
Tablo 20.	Grup 6 ve 8 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	52
Tablo 21.	Grup 6 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	54
Tablo 22.	Grup 7 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları	56

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Akut karaciğer yetmezliği patofizyolojisinde rol oynayan etkenler .	8
Şekil 2. İlaça bağlı hepatotoksisitenin mekanizmaları	12
Şekil 3. Tiyoasetamidin yapısı.	18
Şekil 4. Tiyoasetamidin karaciğer hasarına neden olduğu mekanizma	19
Şekil 5. NFκB aracılıklı sinyalin uyarıları	26

KISALTMALAR LİSTESİ

AKY	: Akut karaciğer yetmezliği
ALT	: Alanin aminotransferaz
AMPK	: Adenosin Mono Fosfat-Aktif Protein Kinaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FMO1	: Flavın monooksijenaz 1
GGT	: Gamaglutamil transferaz
GSH	: İndirgenmiş glutation
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
HAV	: Hepatit A virus
HBV	: Hepatit B virus
HDL	: High-density lipoprotein
HDV	: Hepatit D virus
HELLP	: Hemolysis Elevated liver Enzymes Low Platelets
HEV	: Hepatit E virus
IL	: İnterlökin
LDL-K	: Low-Density Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MTX	: Metotrexat
NFκB	: Nükleer Faktör Kappa B
Nrf2	: Nükleer Faktör Eritroid-2-Related Faktör 2
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PDTC	: Pirolidin ditiyokarbamat
SIRT1	: Silent Information Regulator 2-Like Protein 1
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAA	: Tiyoasetamid
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TOS	: Total Oksidatif Stres
ÜÇE	: Üzüm Çekirdeği ekstraktı
ÜÇÖ	: Üzüm Çekirdeği Özütü

1. GİRİŞ

Fulminan karaciğer yetmezliği; ilaçlar, otoimmünite, mantar zehirlenmesi, virüsler, Wilson hastalığı gibi nedenlere sekonder olarak ortaya çıkan mortalite ve morbidite oranı oldukça yüksek bir tablodur (1, 2). Tedavisi karaciğer transplantasyonudur. Ancak bu tedavi yönteminin de yetersiz organ havuzu, ömür boyu immünsüpresif ilaç kullanım zorunluluğu ve maliyetinin yüksek olması gibi istenmeyen özellikleri vardır (3). Sebep ne olursa olsun oluşan karaciğer hasarında artmış oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir (4, 5). Doğal meyvelerde bulunan fenolik bileşiklerin güçlü antioksidanlar olduğu ve sentetik antioksidanlara göre birçok üstünlüğe sahip oldukları gösterilmiştir (6). Bu fenolik bileşiklerin nörodejeneratif hastalıklarda, kardiyoproteksiyonda ve diabetes mellitusda oldukça yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (7, 8). Besinsel kaynaklı fenolik bileşiklerin bu yararlı etkilerini sahip oldukları antioksidan özelliklere ve Adenosin Mono Fosfat-Aktif Protein Kinaz (AMPK) ve Silent Information Regulator 2-Like Protein 1 (SIRT1) gibi yolları modüle ederek gösterdikleri kabul edilmektedir (7). Üzüm çekirdeği ekstraktının da önemli bir doğal antioksidan olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda üzüm çekirdeği ekstraktının vitamin E'den 20 kat, vitamin C'den 50 kat daha iyi bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (9). Karaciğer üzerinde hasar oluşturan faktör ne olursa olsun hepatositin artmış oksidatif stresi bertaraf etmede yetersiz kalmasının birincil rol oynadığı bilinmektedir. Bu bağlamda bilinen antioksidanlara oranla 50 kat daha güçlü antioksidan olan üzüm çekirdeğinin karaciğer hasarını önleyebileceği düşünülebilir. Bu çalışma ratlarda özellikle artmış oksidatif stres yoluyla karaciğer hasarı oluşturduğu bilinen bir hepatotoksik ajan olan tiyoasetamidle (10) oluşturulan akut karaciğer yetmezlik modelinde üzüm çekirdeği ekstraktının etkilerini araştırmak amacıyla dizayn edildi.

1.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, karında sağ üst kadranda yerleşmiştir ve sınırlarını üstte sağda midklavikular hat ile 4. kostanın kesim noktası, solda midklavikular hat ile 6. kostanın kesim noktası; altta sağ midaksillar hat ile 10. kostanın kesim noktasının 1,5 cm aşağısı oluşturur. İnferiorunda duodenum, transvers kolon, sağ böbrek, sağ sürrenal bez,

medialde ise, özofagus ve mide ile komşudur. Karaciğer üst yüzeyi diafragma ile sınırlıdır. Vücudun deriden sonra en büyük organıdır. Karaciğer ağırlığı, 1300-1700 gr arasında değişmektedir ve yenidoğanda toplam vücut ağırlığının yaklaşık 1/20' si iken, yetişkinlerde bu oran 1/50' dir (11).

Porta hepatisteki ve diyafragmatik yüzdeki birer küçük alan dışında karaciğerin tamamı periton ile örtülüdür (11). Tüm karaciğer, ince bağ dokusundan oluşan Glisson kapsülü ile örtülüdür. Glisson kapsülü düzenli sıralanmış tip I, daha az oranda tip III kollogen lifler, fibroblastlar ve küçük kan damarlarından oluşmuştur (11, 12). Karaciğer, kalp debisinin yaklaşık %25'ini alır, böylece 1500 ml/dk kanla sulanır. Karaciğerin kanlanması hem hepatik arter, hem de portal ven aracılığıyla olur. Bu iki ana damar porta hepatis adı verilen bir fissür aracılığıyla sağ lobun alt yüzünden karaciğere girerler. Hepatik arter çölyak arterin bir kolu olup, karaciğere gelen kanın yaklaşık olarak %20-25'ini sağlar. Hepatik arter dallanarak interlobüler arterleri oluşturur (13).

Portal ven sindirim kanalı, dalak, pankreas ve safra kesesinden gelen kanı karaciğere ulaştırır ve karaciğere gelen kanın yaklaşık olarak %75-80'ini sağlar. Portal kan akımı tüm ince barsakların venöz drenajını sağlar. İnce barsaklardan emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşır, sadece şilomikronlar lenfatik yolla taşınır (14).

Böylece ince bağırsakta besin değeri zengin maddeleri ve beraberinde ilaçları ve zehirli maddeleri karaciğere taşır. Karaciğer venlerinde 200-400 ml kadar kan birikir. Bu kan, muhtemel şok veya hipovolemide sistemik dolaşımın takviye edilmesinde kullanılır (15, 16).

Karaciğere gelen kan klasik olarak karaciğer lobülünün çevresinden merkeze doğru akar ve karaciğer içinde portal venüllere ve oradan da sinüzoidlere boşalır (13). Bundan sonra santral vene ulaşır. Karaciğer içindeki santral venler birleşerek hepatik venleri oluşturur (17).

Hepatik vene gelen kan, inferior vena kavaya ulaşarak karaciğeri terk eder (13, 18, 19).

Karaciğerde sentezlenen safra, kanaliküller aracılığı ile intrahepatik safra kanalcıklarına, buradan da sağ ve sol karaciğer safra kanallarına doğru akar. Sağ ve sol safra kanalları porta hepatiste birleşerek ortak safra kanalını (duktus hepaticus

komminis) oluşturur. Karaciğerden çıkan duktus hepaticus komminis safra kesesinden gelen sistik kanalla birleşerek duktus koledokus adıyla, duodenuma boşalır (14, 17).

1.2. Karaciğerin Sitolojisi

Karaciğerde beş tip hücre bulunmaktadır. Bunlar hepatositler, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitelyum hücreleridir. Sinüzoidlerin iç yüzeyini endotel hücreleri ve kupffer hücreleri kaplar (20).

Hepatositler: Hepatositler total karaciğer volumünün %80-88'ini oluştururlar. Yağ asitleri, fosfolipidler ve trigliseridlerin metabolizmasında görev yaparlar. Kolesterol ve safra asitleri burada yapılır (18).

Endotel Hücreleri: Karaciğerde endotel hücreleri aralıklı olarak yerleşmişlerdir. Sitoplazma ve organelleri az olup sitoplazmalarında küçük mikropinositik veziküller bulunur (21).

Damar yönünden oldukça zengin olan karaciğer endotel hücreleri açısından da zengin bir organdır. Sinüzoidler arteriyel kanın yanında venöz kanı da içerirler. Bu nedenle barsaklardan gelen ve organizmaya zararlı olabilecek çeşitli kimyasal maddeler ve mikroorganizmalar için bir filtre görevi üstlenirler (22).

Kupffer Hücreleri: Orjin olarak monositlerden köken alan ve perisinüzoidal alanda yerleşen, lokal makrofajlardır (22). Karaciğer sinüzoidleri içerisinde çok değişik şekil ve yerleşimde bulunabilirler (23).

Von Kupffer 1980'li yıllarda tanımlanan bu hücreler, karaciğerde A vitamini ve yağ depolanmasının yanı sıra tümör hücrelerini fagosite ettiği de gösterilmiştir (24, 25).

Stellat Hücreleri: Sinüzoidlerin duvarında bulunan, yüksek miktarda retinol içeren denizyıldızı görünümündeki hücrelerdir. Aktif hale geldikleri zaman Disse aralığına kollejen salgılayarak fibrotik sürecin başlamasına neden olurlar. Hepatositten salınan metalloproteinaz enzimi, hasar gören alandaki fibrotik dokuyu parçalar ve yok eder. Stellat hücrelerin apoptoza uğratılmasıyla teorik olarak, fibroz doku oluşumunun yavaşlatıldığı veya ortadan kaldırdığı düşünülmüştür (22).

Safra Kanalı Epitel Hücreleri: İki hepatositin bitişik olduğu her yerde, hücrelerin arasında tübüler bir aralık bulunur ve bu aralık safra kanalikülü olarak isimlendirilir (26). Safra kanal sisteminin ilk kısımları olan bu kanaliküller, 1-2 µm çapındaki tübüler boşluklardır.

1.3. Karaciğerin Fonksiyonları

- Karaciğer genişleyebilen bir organ olduğu için, kendi kan damarlarında büyük miktarlarda kan depolanması,
- Hepatik venöz sinüslerde yer alan büyük fagositik makrofajlar olan kupffer hücreleri aracılığıyla kanın temizlenmesi,
- Büyük miktarlarda glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glikoza çevirme (glikoneojenez), karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddelerin oluşturulması,
- Enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu, büyük miktarda kolesterol, fosfolipid ve lipoprotein sentezi, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi,
- Aminoasitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, plazma proteinlerinin oluşumu, vücuttaki metabolik olaylar için önemli aminoasitlerin ve öteki maddelerin birbirine dönüştürülmesi (27),
- B12, A, D, E ve K vitaminlerinin depolanması,
- Safra asitlerinin yapılması (28),
- Faktör VIII ve Von Willebrand Faktör haricindeki bütün pıhtılaşma faktörlerinin sentezlenmesi,
- Kandaki hemoglobinde bulunan demir dışında, demirin büyük bölümünün ferritin şeklinde depo edilmesi,
- İlaç, hormon ve diğer maddelerin vücuttan uzaklaştırılması gibi birçok fonksiyonları vardır (29).

En sık kullanılan karaciğer “fonksiyon” testleri serum bilirubin, Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), albümin ölçümleri ve protrombin zamanıdır. Serum bilirubin seviyesi hepatik konjugasyon ve atılımın bir ölçümüdür, serum albümin seviyesi ve protrombin zamanı da protein sentezinin göstergeleridir. Bilirubin, albümin ve protrombin zamanı ile ilgili bozulmalar hepatik işlev bozukluğu için tipiktir (30). Karaciğerin fonksiyonları Tablo-1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Karaciğerin fonksiyonları (31).

Protein Metabolizması	Aminoasitlerin katabolizması sonucu ortaya çıkan NH ₃ 'ün (amonyak) CO ₂ (karbondioksit) ile birleşerek üreye dönüşümünü sağlar. Plazma proteinleri olan albümini, alfa ve beta globulinleri sentezler ve protein (aminoasit) depolar.
Karbonhidrat Metabolizması	Glikojen depolar, glikoneogeneze, glikojenoliz ve glikojenezde rol alır.
Yağ Metabolizması	Yağ asitlerinin oksidasyonu, asetoasetik asit oluşumu, lipoprotein, kolesterol ve fosfolipid yapımı, karbonhidrat ve proteinlerin yağa çevrilmesinde rol oynar. Ayrıca bir miktar yağ depolanmasında rolü vardır.
Pıhtılaşma Fonksiyonu	Fibrinojen, protrombin, faktör V ve VII karaciğerde yapılır. Ayrıca antikoagülan etki gösteren heparin, dalak, böbrek, bağırsak mukozasında, bazofillerde ve karaciğerde bulunur.
Depo fonksiyonu	A, D, E, K, B12 vitaminlerini depolar. A vitamini eksikliğinin iki yıl, D ve B12 vitamini eksikliğinin üç dört aya kadar tolere edilmesini sağlar. Karaciğer ayrıca B1, B2, niasin, pantotenik asit sentezler, bakır ve demiri depolar.
Hepatopoetik Fonksiyonları	Karaciğer, dalak ve timus ile birlikte intrauterin yaşamın üçüncü ve beşinci ayına kadar eritrositlerin yapımında rol oynar. Daha sonra bu görevi kemik iliği üstlenir. Ancak karaciğer eritrosit yapım özelliğini korur. Bu nedenle büyük kan kayıplarında karaciğerde hematopoetik faaliyete katılır. Bir başka görevi ise eritrosit yıkımı, bilirubin ve demir metabolizmasının sürdürülmesidir.
Detoksifikasyon ve koruma	Karaciğer istenmeyen maddeleri başka maddeler bağlayarak daha az toksik hale getirerek böbreklerden kolay atılabilir hale getirir. Aynı zamanda karaciğer bazı hormonların (androjen, östrojen, aldesteron ve steroid) yıkım yeridir. Karaciğer fonksiyon bozukluklarında hastalarda karşı cins özellikleri belirginleşmeye başlayabilmektedir. Kullanılan ilaçların detoksifikasyonunu sağlar. Özellikle, morfin ve barbitüratlar gibi bazı ilaçlar, karaciğerde yıkılır. Karaciğer hastalıklarında bu ilaçların atılmaması nedeniyle toksik etkileri artar.
Kan depolama ve filtrasyon	Karaciğer vücuttaki toplam kanın 1/4'ünü kullanır. Bu volem kan kayıplarında sistemik dolaşımın kompansementasyonunda önemli rol oynar. Karaciğer, retikuloendotelial sistemin bir parçasıdır. Karaciğerde bulunan kupffer hücreleri, portal dolaşımla gelen bakterilerin %99'unu fagosite ederek sistemik enfeksiyonu önler.
Isı regülasyonu	Isı reseptörlerinin uyarımı ile karaciğerde kimyasal reaksiyonların hızlanması ya da azalması ile vücut ısısı korunması desteklenir.
Safra yapımı	Karaciğer hücreleri tarafından salınan safra, yağların sindirimi ve yağda eriyen vitaminlerin (ADEK) emiliminde önemli rol oynar.

1.4. Karaciğer yetmezliği

Akut karaciğer yetmezliği (AKY) görülme sıklığı az olmasına rağmen hayatı tehdit eden sonuçları nedeniyle gastrointestinal aciller içinde önemli bir yer tutmaktadır. Karaciğer fonksiyonlarının hızlı bir şekilde bozulması sonucu oluşan, koagülopati,

sarılık ve çoklu organ yetmezliğine eşlik eden hepatik ensefalopati ile karakterize bir hastalıktır. Yakın zamana kadar bildirilen mortalite oranı %80'den fazla iken, yoğunbakım olanaklarının gelişmesi ve karaciğer naklinde sağlanan ilerlemeler sayesinde sağ kalım oranı artmıştır. İlk olarak otuz yıl önce Trey ve Davidson tarafından, öncesinde bilinen karaciğer hastalığı bulunmayan sağlıklı bireylerde, başlangıç semptomlarından sonra, ilk sekiz hafta içinde görülen mental durum bozukluğu olarak tanımlanmıştır (32).

Akut karaciğer yetmezliği, sarılığın ortaya çıkmasından sonra ensefalopati gelişme süresine göre farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. Bernau ve ark. (33), sarılık başlangıcından sonraki iki hafta içinde ensefalopati geliştiren vakalar için “fulminant”, sarılıktan 2 hafta-3 ay sonra gelişen ensefalopati için “subfulminant” karaciğer yetmezliği tanımını kullanmışlardır.

“Geç-başlangıçlı” karaciğer yetmezliği 8-24 hafta sonra gelişen ensefalopati için tanımlanmıştır (34). Günümüzde O’Grady ve ark. (35) sınıflandırması daha sık kullanılmaktadır. Buna göre sarılık farkedildikten sonra ensefalopatinin ilk 7 gün içerisinde gelişmesi hiperakut karaciğer yetmezliği; 8-28 gün içerisinde gelişmesi akut karaciğer yetmezliği; 29 gün-12 hafta içinde gelişmesi subakut karaciğer yetmezliği olarak tanımlanır.

Etiyoloji yaşa ve coğrafi bölgeye göre belirgin değişiklik gösterir, aynı zamanda prognozu ve tedaviyi etkilemesi bakımından da önemlidir (Tablo 2) (34, 36).

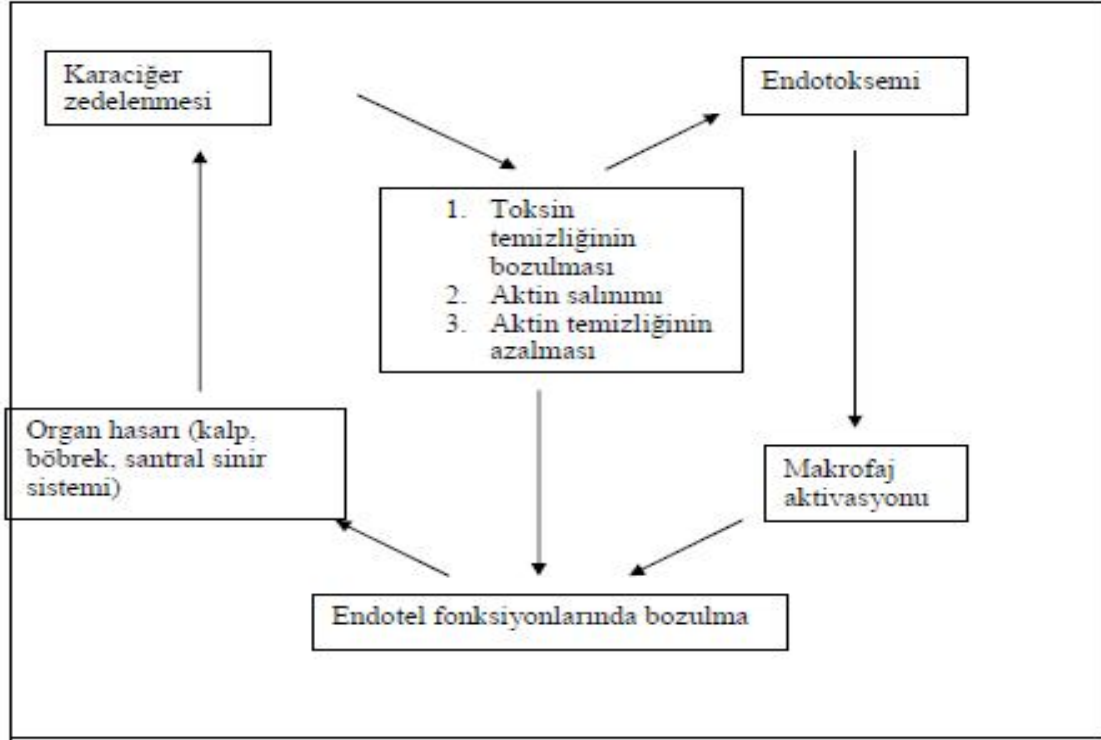
Akut karaciğer yetmezliği, karaciğerde apoptoz veya nekroza yol açan olaylar sonucunda, hepatosit yıkımının, yapımından fazla olduğu durumlarda meydana gelir. Apoptozis, kaspaz (sistein proteaz) sisteminin uyarılmasına neden olur. Kaspaz yolağı, Tumor Nekrozis Faktor alfa (TNF α) ve hepatosit zarı üzerindeki Fas ligand gibi çeşitli sitokinler tarafından uyarılır. Apoptozisi uyarıcı olayların tümü, ATP depolarını tüketen mitokondriyal hasarla sonuçlanıp, aynı zamanda nekroza neden olabilirler. Belirgin oksidatif strese yol açan olaylar daha çok nekrotik hücre hasarı yaratırlar. Hepatosit oluşumunu düzenleyen diğer olaylar, hücrel nitrik oksit, glutatyon gibi antioksidanlar, tirozin kinaz, transkripsiyon faktörleri, interferon, interlekin IL-10, IL-12, IL-5 gibi pro ve antiinflamatuvar sitokinlerdir (37).

Tablo 2. Akut karaciğer yetmezliği nedenleri.

A. Viral		
Hepatit A virüsü	Sitomegalovirüs	Adenovirüs
Hepatit B virüsü	Epstein-Barr virüs	Herpes varisella zoster virüs
Hepatit D virüsü	Hepatit E virüsü	
Herpes simpleks virüs	Kanamalı ateş virüsleri	
B. İlaçlar ve toksinler		
• Doz bağımlı:		
Asetaminofen		Amanita phalloides
CCl4 (karbon tetraklorid)	Sülfonamidler	Bitkisel ilaçlar
Ecstasy (metildioksimetamfetamin)	Tetrasiklin	Sarı fosfor
Bacillus cereus toksini		
• İdiyosenkratik:		
Halotan		
İsoniazid Disulfiram	Valproik asit	Rifampisin
Nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar	Karbamazepin	
• Daha az sıklıkta görülen ilaçlar:		
Fenitoin		
İzofluran	Disulfiram	Propiltiourasil
Enfluran	Metildopa	Ketokonazol
Allopurinol	Amiodaron	2,3-Dideoksiinozin (ddl)
Monoamin oksidaz inhibitörleri	Altın	Trisiklik antidepresanlar
C. Vasküler		
Sağ kalp yetmezliği		Şok karaciğeri (iskemik hepatit)
Budd-Chiari Sendromu		Sıcak çarpması
Venookluzif Hastalık		
D. Metabolik		
Gebeliğin akut yağlı karaciğeri		Tirozinemi
Wilson hastalığı		Neonatal hemokromatozis
Reye Sendromu		Nieman Pick Tip C
Galaktozemi		Mitokondriyal hastalıklar
Hereditör fruktoz intoleransı		Konjenital glikozilasyon defektleri
E. Diğer		
Otoimmün hepatit		
Malign infiltrasyon (karaciğer metastazı, lenfoma)		
Sepsis		
F. Tanımlanamayan		
Karaciğer nakli yapılan hastalarda fonksiyon göstermeyen greft		

Ağır hepatosit hasarına bağlı olarak, karaciğerin metabolik fonksiyonları bozulur. Glukoz dengesi ve koagülasyon faktörlerinin sentezi bozulur, laktat yapımı artar, ilaçlar, toksinler ve bilirubinin yıkımı azalır. Genellikle mikrovasküler zedelenmeye bağlı olarak çoklu organ yetmezliği gelişir (Şekil 1) (38).

Mikrovasküler zedelenmenin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır fakat inflamatuvar mediatörlerin karaciğerden temizlenmesinde azalma veya aktin polimerizasyonunun artmasına bağlı olabilir. Karaciğer zedelendiğinde hepatositlerden aktin monomerleri salınır ve hızla polimerize olurlar. Bu polimerizasyon, monosit ve trombositlerde bulunan aktin bağlayıcı protein olan gelsolin tarafından engellenir. Akut karaciğer yetmezliğinde gelsolin miktarının azalması ile aktin temizliği yapılamaz, aktin polimerizasyonu ile mikrovasküler fonksiyonlar bozulur (38).



Şekil 1. Akut karaciğer yetmezliği patofizyolojisinde rol oynayan etkenler (38) .

1.4.1. Patogenez

Akut karaciğer yetmezliği vakalarında histolojik olarak başlıca iki ana bulgu yer almaktadır. Birinci ve en sık görülen hepatoselüler nekrozdur. Yaygın olarak görülebileceği gibi yama şeklinde de görülebilir. Ancak daha çok massif olarak saptanmaktadır. Hepatoselüler nekroz viral infeksiyon ve ilaçların etkisiyle oluşmaktadır. Histolojik incelemede nekrotik hepatosit alanları hepatik çatının kaybıyla birlikte veya tek başına görülmektedir. Sitotoksikite durumunda yaygın nötrofil infiltrasyonu, sitopatik gelişimde plazma hücreleri ve lenfosit infiltrasyonu, idiyosenkrazik ilaç reaksiyonu vakalarında ise eozinofil infiltrasyonu gözlenmektedir.

İkinci histolojik özellik mikroveziküler yağlanmadır. Bu görünüm Reye Sendromu, gebeliğin yağlı karaciğeri, valproat veya tetrasiklin toksisitesinde saptanabilir. Mikroveziküler yağlanma mitokondriyal yağ asidi ve amonyak metabolizmasının bozulması sonucu hepatositlerde yağ birikimi nedeniyle gelişmektedir (39).

1.4.2. Klinik

Akut karaciğer yetmezliğinin klinik tablosu altta yatan nedene göre değişkenlik gösterebilir. Karaciğer yetersizliğinin erken döneminde sarılığın devamı ve ensefalopatinin derecesi vakalarda değişkenlik gösterebilmesine karşın koagülopati tüm vakalarda saptanmaktadır (40).

Akut karaciğer yetmezliğinin en erken gelişen belirtileri kişilik değişiklikleridir. Hasta konuşma bozuklukları ve davranış bozuklukları gösterebilir. Başlangıç semptomları genellikle halsizlik, iştahsızlık, karın şişliği, idrar renginde koyulaşma ve kusmadır. Karın ağrısı, ateş, baş ağrısı, baş dönmesi, huzursuzluk, deliryum ve nöbet görülebilir (41). Deliryum kendiliğinden veya ışık uyarısı ile meydana gelebilir. Flapping tremor (kollar ekstansiyonda iken bilekte ve metakarpofalangiyal eklemlerde saniyede birkaç kez oluşan ani hareketler olup istirahatte gözlenmez) geçici olabilmekte, ancak fetor hepaticus (bağırsak flora bakterilerinin metiyonini parçalaması ve bunun sonucunda merkaptanların oluşması) genellikle saptanmaktadır. Geç dönemde deserebrasyon, hiperventilasyon, pupilla reflekslerinde anormallik ve ağrılı uyaranlara yanıtsızlık ortaya çıkar. Beyin sapı fonksiyonlarının bozulması ile solunum durması, kardiyak aritmiler ve kardiyak arrest gelişebilir. Hastada nöropsikiyatrik bulgular bazen sarılıktan önce bulunabilir. Karaciğer başlangıç döneminde büyük olabilir, hastalığın ilerlemesi ile küçülmeye başlar. Kronik karaciğer hastalığının deri bulguları genellikle saptanmaz. AKY vakalarında hemodinamik değişiklikler saptanır ve sepsis bulguları vardır. Sinus taşikardisi sıktır, viral etyoloji durumunda miyokard tutulumu nedeniyle relatif bir bradikardi görülür. Vazodilatasyon gelişmesi sonucu hipotansif krizler sorun olabilmektedir. Elektrolit dengesizliği, asidoz, hipoksi, santral kateter takılması sırasında direkt kardiyak irritasyon hastalarda aritmi gelişimine yol açabilir. Pre-terminal dönemde evre 4 ensefalopati, hiperventilasyon, pupillalarda dilatasyon ve ışığa cevapsızlık, dekortike ve deserebre postür, okulovestibüler refleksin alınamaması,

hipotansiyon, aritmi, solunum durması, hipotermi, reflekslerin alınamaması bulgularından birkaçı veya tamamı saptanabilir (42) .

Hepatik ensefalopati duygulanım değişiklikleri, uykusuzluk, konsantrasyon güçlüğünden (evre 1) komaya (evre 4) kadar farklı şekillerde görülebilir. Serebral ödem evre 4 ensefalopatisi olan hastaların çoğunluğunda görülür (43) ve otopsi serilerinde fulminan hepatik yetmezliğe bağlı ölümlerin en sık nedeni olarak bulunmuştur (44). Hepatik ensefalopati evreleri Tablo 3’de gösterilmiştir (45).

Tablo 3. Hepatik ensefalopati evreleri (45).

Evre	Mental durum	Tremor	EEG
I	Öfori veya depresyon, dalgalanma gösteren hafif konfüzyon, algı ve ifadede yavaşlama, anlamsız konuşma, uyku düzensizlikleri	İnce	Genellikle normal
II	Evre I’deki semptomlar belirginleşir, uykuya meyillidir, sfinkter kontrolü sağlanamaz	Mevcut	Anormal, Jeneralize Yavaşlama
III	Çoğu zaman uyur, ama uyandırılabilir, konuşma anlamsızdır, konfüzyon belirgindir	Hasta koopere ise Belirgindir	Anormal
IV	Uyandırılmaz, ağırlı uyaran yanıtı olabilir ya da olmayabilir	Yok	Anormal

Akut karaciğer yetmezliği (AKY) oluşmasından sonra etyolojiyi anlamaya yönelik birçok test mevcuttur. AKY’de etiyolojiye yönelik yapılabilecek testler tablo 4’de gösterilmiştir (46) .

Tablo 4. Akut karaciğer yetmezliğinde etyolojiye yönelik testler (46).

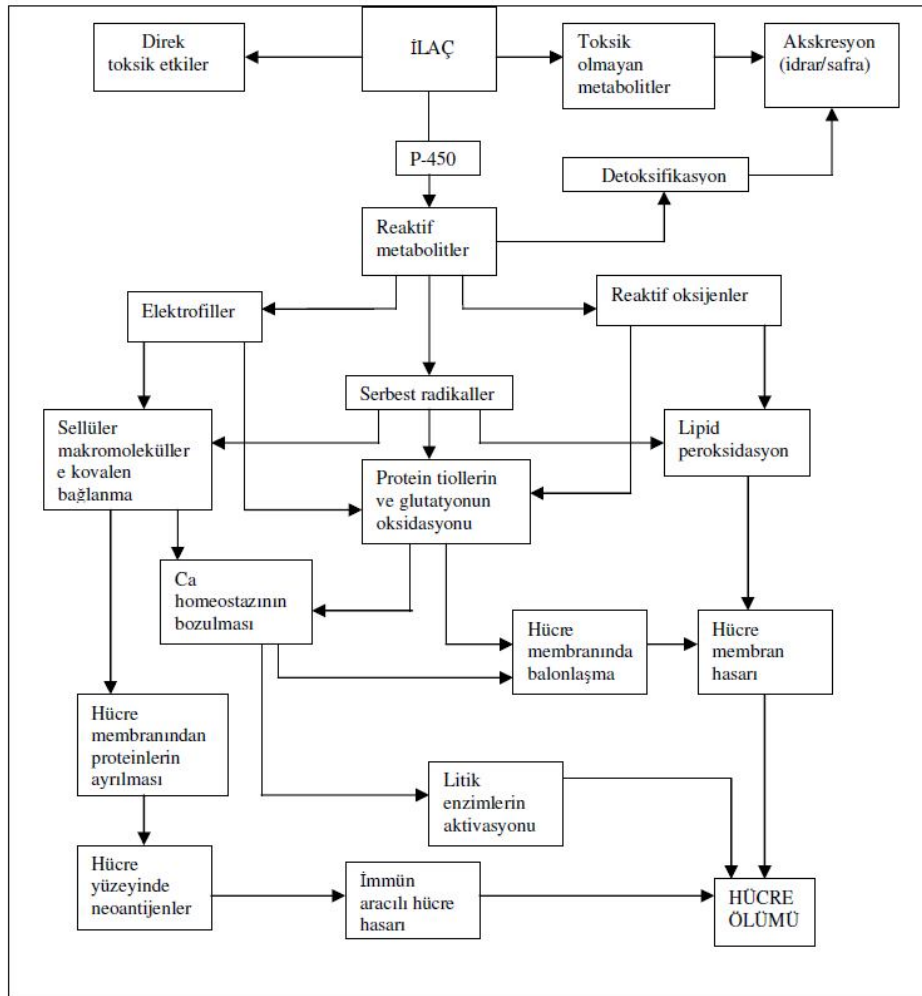
Etyoloji	Testler
HAV	HAV Ig M
HBV, HDV	Hbs Ag (-) olabilir, Anti HbcIg M ve HBV DNA
HEV	Anti HEV
Parasetamol	Kan ilaç düzeyi
İdiosenkrazik ilaç reaksiyonu	Kanda eozinofil sayımı
Otoimmün	Otoantikörler, Ig G
Gebelikle ilişkili durumlar:	
- Yağlı Karaciğer	USG, ürik asit, histoloji
- HELLP sendromları	Platelet sayısı, transaminazlar
Wilson hastalığı	Üriner bakır, seruloplazmin, yarık lamba incelenmesi
Budd- Chiari	Doppler USG veya venografi
Malignite	Görüntüleme / histoloji
İskemik hepatit	Transaminazlar

HAV: hepatit A virus, **HBV:** hepatit B virus, **HDV:** hepatit D virus, **HEV:** hepatit E virus, **HELLP:** “Hemolysis, Elevated liver Enzymes, Low Platelets”

1.4.3. Hepatotoksisite Patogenezi

Normal şartlarda, karaciğerde metabolize edilen ilaçlardan suda erir stabil metabolitler oluşur ve bunlar vücuttan idrar, safra ve dışkı ile atılırlar. Bu arada reaktif (toksik) metabolik ürünler de oluşur. Bu işleme “biyoaktivasyon” denir. Bu toksik metabolitler detoksifikasyon işleminde görevli enzimler tarafından detoksifikasyon işlemine tabi tutulup vücuttan atılırlar.

Genel olarak biyoaktivasyon ile detoksifikasyon arasındaki denge bozulduğu zaman, biriken toksik metabolitler immünolojik ve/veya non-immünolojik mekanizmalarla hepatobiliyer patolojilere neden olurlar. İlaçlara bağlı gelişen hepatotoksisite mekanizmaları Şekil 2’de gösterilmiştir (47).



Şekil 2. İlaça bağlı hepatotoksisitenin mekanizmaları (47).

İlaçlara bağlı karaciğer hasarında ana mekanizmalar şunlardır;

- 1- Stabil-emniyetli metabolit üreten mekanizmalarda eksiklik.
- 2- Reaktif (toksik) metabolitlerin yapımında artış (Faz I enzimleri).
- 3- Detoksifikasyonda eksiklik-yetersizlik (Faz II enzimleri).
- 4- Direkt toksisite.

1.5. İlaçlara Bağlı Hepatotoksisite Tipleri

Karaciğer hasarı yapan maddeler öncelikle iki ana gruba ayrılır. Birinci grup karaciğer hasarı yapacağı tahmin edilebilen intrinsek hepatotoksinlerdir. Diğer grup ise, karaciğer hasarı yapmaları tahmin edilemeyen ve duyarlı kişilerde karaciğer hasarı oluşturan idiosenkratik hepatotoksinlerdir (48). Bu iki tipin farklı özellikleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. İlaç hepatotoksitesi tipleri-Patogenez.

A-) İNTRENSEK TOKSİSİTE:

Direk hepatotoksisite ve indirek hepatotoksisite şeklinde iki tipi vardır. (asetaminofen, aspirin, inorganik Fe, antimikrobik ilaçlar, sitostatikler, anabolik steroidler, tetrasiklin)

- a) Önceden bilinebilir (“predictable”)
- b) Doza bağlıdır ve sık görülür
- c) Deney hayvanlarında oluşturulabilir
- d) Latent dönem sıklıkla kısa ve az değişken

B-) İDİOSENKRATİK TOKSİSİTE

- a) Önceden bilinemez (“unpredictable”)
- b) Doza bağlı değildir ve sık görülmez
- c) Deney hayvanlarında oluşturulamaz
- d) Latent dönem sıklıkla uzun ve çok değişken

1. Aşırı duyarlılık (hipersensitivite) reaksiyonu

İmmünolojik hasar (sülfonamidler, sulindak, dapson, fenitoin)

Latent dönem kısa (1-5 hafta)

Alerjik belirtiler vardır (ateş, deri döküntüleri, eozinofili)

Karaciğerde eozinofilik granulomatöz infiltrasyon

İkinci temasta erken toksisite (ilk dozlarda)

2. Aberan metabolizma (izoniazid, valproat, amiodaron, fenitoin)

Latent dönem değişken (1-2 hafta ile 12 ay)

Alerjik belirtiler yok

İkinci temasta geç toksisite (günler-aylar)

1.5.1. İntrensek Toksisite

İntrensek hepatotoksinlerin hemen tamamı metabolitlerinin toksik etkileri ile karaciğer hasarı oluştururlar. Çok az bir kısmı ise biyotransformasyon olmadan hasar oluşturabilirler. Hasar oluşturan aktif ürün; serbest radikal veya oksijen olabilir. Serbest radikaller hücre zarında lipidlerin peroksidasyonuna neden olarak nekroza yol açar. Elektrofilik radikaller hepatosit proteinlerinin nükleofilik merkezlerine kovalent olarak bağlanır ve hepatosit nekrozuna yol açar. Aktif oksijen ise serbest radikallere benzer şekilde lipid peroksidasyonuna neden olur (49).

İntrensek hepatotoksinler ve metabolitlerinin oluşturduğu karaciğer hasarı iki farklı şekilde meydana gelir;

1. Direkt hepatotoksisite; serbest radikaller veya aktive olmuş oksijen ile direkt olarak hepatosit membranının peroksidasyonu ve bunun sonucunda oluşan fizikokimyasal hasardır.

2. İndirekt hepatotoksisite; toksik madde veya metabolitleri indirekt olarak hücre zarına veya hücre moleküllerine bağlanarak, esansiyel gereksinimlerde azalmaya neden olarak, hücre bütünlüğü için gerekli olan fizyolojik/biyokimyasal reaksiyonları bloke ederek karaciğer hasarına yol açar (48).

1.5.1.1. Direkt Hepatotoksinler

Bu maddeler ve metabolitleri hepatotoksik etkilerini direkt fizikokimyasal etkileri ile ve lipid peroksidasyonu yaparak hücre zarında harabiyete neden olurlar (48, 50). Hücre zarında oluşan hasarı, hücre organellerinin zarlarında oluşan hasar takip eder. Bu organel zarlarının hasarlanması sonucu düz endoplazmik retikulum ve mitokondriden kalsiyum salınmasına yol açar. Hücre sitoplazmasında normalden çok fazla miktarda kalsiyum birikimine neden olur. Bu metabolik durum sitoplazmada kalsiyumun artması ve azalmış potasyum sonucunda meydana gelir. Sonuçta aktifleşen enzim-koenzim mekanizmaları mitokondrilerin hasarlanmasına, lizozomlardan açığa çıkan enzimlerde hücre harabiyetine neden olurlar (51).

1.5.1.2. İndirekt Hepatotoksinler

Bu gruptaki toksik ajanlar, elektrofilik reaktif ara ürünlere dönüşerek hücre zarına veya moleküllere kovalent bağlanarak hasar oluştururlar. Sitotoksik, kolestatik ve mikst olmak üzere üç şekilde karaciğer hasarı oluştururlar. Birçok intrinsek hepatotoksin indirekt olarak karaciğer hasarına yol açar (48, 52).

Bizim çalışmamızda kullandığımız tiyoasetamid de indirekt hepatotoksin grubuna dahil olan ve deneysel amaçla karaciğer toksisitesi oluşturmak için sık kullanılan bir toksindir.

1- Sitotoksik Tip İndirekt Hepatotoksinler:

Bu maddeler steatoz şeklinde hafif karaciğer zedelenmesinden masif karaciğer nekrozuna kadar değişen şekillerde etkili olurlar. Bu grupta bazı ilaçlar, deneysel amaçla kullanılan bazı bileşikler ve botanikte kullanılan toksinler yer alır. Bu toksinlerin etkileri hücre zarı hasarı ile başlar. Reaktif ara metabolitlerin oluşturduğu hasarın

mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücre içi mikroçevrenin değişmesi ve sitoplazmadaki artmış kalsiyum iyonu düzeyi hücre nekrozuna yol açar. İndirekt hepatotoksinlere bağlı gelişen steatoz karışık mekanizmalar sonucu meydana gelir. Bu durum çoğunlukla karaciğerden lipidlerin uzaklaştırılamamasına bağlı olarak gelişir. Apoproteinlerin sentezlenmesindeki yetersizlik; VLDL sentezini ve sonuçta karaciğerden lipid taşınmasını bozar. Sonuç olarak steatoz gelişir. Ayrıca mitokondride yağ asitlerinin oksidasyonundaki azalma da steatoza katkıda bulunur (48).

2- Kolestatik Tip İndirekt Hepatotoksinler:

Bu gruptaki hepatotoksik ajanlar safra kanaliküllerine ekskresyon için gerekli mekanizmaları bozarak etki ederler. Ya safra kanalikül hasarı yaparak ya da hepatik uptake'ı engelleyerek etki ederler (53).

3- Mikst Tip İndirekt Hepatotoksinler:

Bazı durumlarda hepatosellüler ve portal inflamasyon, kolestazla birlikte bulunabilir. Bir ajan başlangıçta kolestatik reaksiyona yol açarken zamanla parankim hasarına da neden olabilir (50).

1.5.2. İdiosenkratik Hepatik Toksikite

Önceden öngörülemeyen bir şekilde ilaçların hepatik hasar oluşturması durumu az sayıda görülür. İdiosenkratik reaksiyon immünolojik veya aberan metabolizma sonucu olarak gelişebilir. Bazı ilaçlar ise her iki mekanizmayı da kullanarak hepatik hasar oluştururlar (54).

1.6. Karaciğer Hastalığına Sahip Hastaların Risk Sınıflaması

1.6.1. Modifiye Child-Pugh Skorlaması

İlk olarak 1960'lı yıllarda Child ve Turcotte, karaciğer hastalığı olan olgularda mortalite ve morbidite üzerine etkisi olan beş parametre belirlemiştir: Asit, bilirubin düzeyi, albümin düzeyi, beslenme durumu ve ensefalopati. Yaklaşık 10 yıl sonra Pugh protrombin zamanını eklemiş ve sayısal değerler oluşturarak toplam skoru sınıflamıştır. Her bir parametre hafif (1 puan), orta (2 puan) ve şiddetli (3 puan) olarak derecelendirilir. Toplam puana göre hastalar A (5-6 puan), B (7-9) ve C (10 ve üstü puan) olarak sınıflandırılır (Tablo 6) (55, 56).

Tablo 6. Modifiye Child-Pugh Skorlaması.

Parametre	1 puan	2 puan	3 puan
Ensefalopati	Yok	Hafif	Şiddetli
Asit	Yok	Kontrol altında	Kontrol edilemiyor
Albümin (g/dL)	> 3.5 g /dL	3.0 –3.5 g/dL	< 2.9 g/dL
Bilirubin (mg/dL)	< 2 mg/dL	2 – 3 mg/dL	> 3 mg/dL
PT uzaması (INR)	< 4 sn (<1.7)	4 – 6 sn (1.7 – 2.2)	> 6 sn (>2.2)

MELD (The Model for End-Stage Liver Disease) Skorlaması

Mevcut karaciğer hastalığının şiddetine bağlı olarak mortalite beklentisine göre hastaların karaciğer nakli için sıralanmasını sağlayan bir skorelama sistemidir. Karaciğerin fonksiyonlarını gösteren laboratuvar değerlerine dayanarak karaciğer hastalığı kaynaklı mortalite riskini hesaplar (55, 57, 58).

Formülü:

$$\text{MELD} = (9.57 \times \log_e[\text{kreatinin mg/dL}] + 3.78 \times \log_e[\text{bilirubin mg/dL}] + 11.20 \times [\text{INR}] + 6.43)$$

Kreatinin için değerlendirmeye alınan maksimum değer 4.0 mg/dL'dir. Hesaplama bu değer üstündeki değerler 4.0 olarak alınır. Diyaliz programında olan hastalar için de aynı değer kullanılır.

Hastaları karaciğer nakline yönlendirmek spontan iyileşmenin değerlendirilmesi temelinde olmalıdır ve bu da çoğu zaman tek bir faktörle ilişkili değildir. Çeşitli çalışmalarda prognoz üzerine etki eden faktörler değerlendirilmiştir. Bu faktörler arasındaki en önemli olanlar hepatik ensefalopati, hasta yaşı ve akut karaciğer yetmezliğine neden olan olaylardır. Düşük ensefalopati derecelerinde spontan iyileşme oldukça yüksektir. Grade I / II hepatik ensefalopatide %65 - 70 iken bu oran grade IV'te % <20 dir. 40 yaş üstü ve 10 yaş altı hastalarda spontan iyileşme bu yaş aralıklarında kalan hastalara göre daha düşüktür. Asetaminofen toksisitesi (şiddetli metabolik asidoz ve progresif koagülopati dışındakiler), HAV ve HBV'ye bağlı akut karaciğer yetmezliklerinde prognoz, idiosenkrazik ilaç reaksiyonları ve Wilson hastalığına bağlı akut karaciğer yetmezliklerine göre daha iyidir.

Akut karaciğer yetmezliğinde, destekleyici tedavilerde ilerlemeye karşın prognozu hala kötü olan olgularda ortotopik karaciğer transplantasyonu ile yaşam şansı artmaktadır. Karaciğer transplantasyonu artık günümüzde AKY'de standart bir tedavi

yöntemi olarak kabul edilmektedir. Postoperatif yaşam şansı 1987-1993 yıllarındaki çalışmalarda %65 olarak bildirilirken, daha sonra transplantasyon kriterlerinin belirlenmesi ve daha seçici davranılması ile post-operatif yaşam şansı %90'a ulaşmıştır. Ölümlerin çoğu transplantasyondan sonraki ilk aylarda görülmektedir. Hasta seçiminde en sık kullanılan kriterler ilerleyen koagülopatiyle birlikte ensefalopatinin gelişmesidir. Acil karaciğer transplantasyonu için hasta seçiminde dikkate alınan King's College Hospital kriterlerinde, prognozu belirleyen kriterler esas alınarak transplantasyon adayları belirlenmektedir (Tablo 7). Acil transplantasyon gereken adayın belirlenmesinde King's College kriterleri sensitivite, kullanım ve uygulama kolaylığının bulunması, ilerlemiş hastalık tablosu ortaya çıkmadan transplantasyon endikasyonunun sağlanabilmesi ve bu şekilde donör organının bulunması için yeteri kadar süreye olanak tanınması gibi önemli avantajlar içermektedir. Bu prognostik değerler transplantasyon yapılmadan da yaşama şansı yüksek olan hiperakut karaciğer yetmezliğindeki genç hasta grubunun belirlenmesi için de yararlı olmaktadır.

Tablo 7. King's College Kriterleri.

Asetaminofene bağlı
Arteriyel Ph<7.3 (ensefalopati derecesinden bağımsız olarak) veya
Grade 3 ya da 4 ensefalopati ve
Protrombin zamanı >100 sn (INR>8) ve
Serum kreatinin >3.4 mg/dl
Diğer nedenlere bağlı
PT >100 sn (INR >8) (Hepatik ensefalopati derecesinden bağımsız olarak) veya
aşağıdakilerden herhangi üç tanesinin bulunması
1.Yaş <10 ya da >40
2. HBV ve HCV dışı viral, haloten veya idiosenkrazik ilaç reaksiyonuna bağlı olması
3.Ensefalopatiden önce sarılık süresinin yedi günden uzun olması
4.PT >50 sn
5.Serum bilirubin >18 mg/dl

Tüm diğer tedavi yöntemlerinde olduğu gibi karaciğer transplantasyonu için de kontrendikasyon listesi yıldan yıla değişebilmektedir. Bu değişim sıklıkla önceden kontrendikasyon listesinde olan bir durumun zaman içinde bu listeden çıkması şeklinde olmaktadır. 1990'ların başına dek HBV enfeksiyonu varlığı operasyon sonrası yüksek nüks oranları nedeni ile karaciğer nakli için kesin kontrendikasyon iken, geliştirilen

proflaksi yöntemleri ile bugün nakil sonrası en yüz güldürücü hastalıklardan biri haline gelmiştir.

Aşağıda olası kesin ve rölatif kontrendikasyonlar gösterilmiştir (Tablo 8) (59).

Tablo 8. Karaciğer naklinde kontrendikasyonlar.

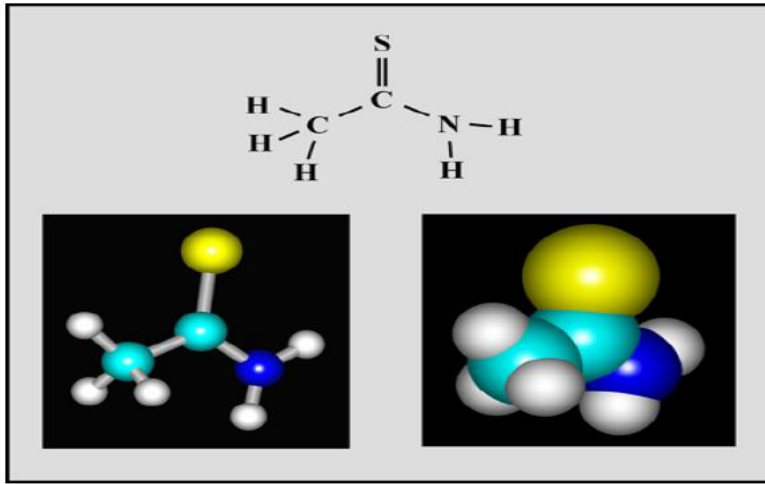
Ekstrahepatik malignite
Makrovasküler ya da diffüz yayılımla beraber olan hepatik malignite
Tedavi edilemeyen sepsis
İleri kardiyopulmoner hastalıklar
Aktif alkol ya da ilaç bağımlılığı
Transplantasyona engel olabilecek anatomik anormallikler

Tablo 9. Karaciğer nakli için rölatif kontrendikasyonlar

Yaş
Portal ven trombozu
HIV
Önceki malignite öyküsü
Aktif psikiyatrik durum

1.7. Tiyoasetamide Bağlı Hepatotoksisite

1.7.1. Tiyoasetamid (TAA)



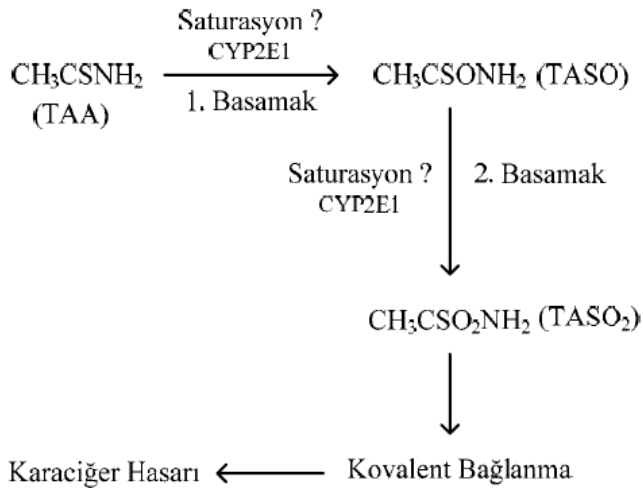
Şekil 3. Tiyoasetamidin yapısı (60).

Tiyoasetamid başlangıçta tekstil sektöründe ve turuncgillerin raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmıştır. TAA nekrojenik (61) ve kanserojen (62), thiono-sülfür içeren, indirekt hepatotoksin grubuna dahil olan bir bileşiktir. Hayvanlarda

özellikle de ratlarda fulminan hepatik yetmezlik ve karaciğer sirozu (63, 64) gibi deneysel modelleri oluşturmak için kullanılır (65). Hepatotoksik ajan olarak bilinen TAA ($\text{CH}_3\text{-C (S)NH}_2$) gerçekte mantar öldürücü (fungisit) olarak kullanılır. Deneylerde içme suyuyla birlikte düşük dozlarda verildiğinde kronik hepatiti takiben siroz meydana gelirken, öldürücü dozlarda verilmesi halinde karaciğerde şiddetli sentrilobüler nekroza neden olur (66, 67). Uzun süreli alınması durumunda ise safra kanallarında proliferasyona ve viral hepatit enfeksiyonlarının neden olduğu sirozdakine benzer histopatolojik değişikliklere neden olur (67, 68). Bu madde alkilasyon yaparak sitozol molekülerine kovalent bağlanır ve sonuçta hepatositte nekroz ve steatoz oluşturur. Yine alkilasyon ile nükleer moleküllere bağlanarak uzun vadede malignite gelişimine yol açar (52) .

Tiyoasetamid, NADPH ve sitokrom P450 gerektiren mikrozomal monooksijenaz sistemi aracılığıyla yoğun metabolik işlemler sonucu (69) zararlı metabolitlerine dönüşüp hepatik makromoleküllere kovalent bağlanması sonucunda karaciğerde hasara neden olur(67, 70) .

Tiyoasetamid serbest oksijen radikalleri (SOR) artışı ve bunun sonucunda gelişen direkt membran lipidlerinin peroksidasyonu ile doku hasarına neden olur (71, 72). TAA'nın hepatik lezyon yapıcı başlıca mekanizmalarından biri lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve doku antioksidan düzeylerinin değişerek oksidatif stresin artmasıdır (72-75).



Şekil 4. Tiyoasetamidin karaciğer hasarına neden olduğu mekanizma (76)

Karaciğerde TAA önce CYP2E1 ile TAA sülfoksit'e (TASO) metabolize olur. TAA sülfoksit (TASO) da ileri metabolizmalarla TAA S-dioksit'e (TASO₂) dönüşür. Karaciğerde asıl hasara neden olan bu iki bileşiktir. TASO; hücre ölümü, mitokondriyal aktivitenin azalması, çekirdek volümü ve kalsiyum iyonunun hücre içi konsantrasyonunun artması, hücre zarı geçirgenliğinde değişiklikler gibi etkilere neden olur (77). TAA aynı zamanda flavin monooksijenaz 1 (FMO1) tarafından da metabolize edilir (76, 78). Yapılan çalışmalarda mikroskopik değerlendirmeler sonucu, tiyoasetamid (200 mg/kg) uygulandıktan dört saat sonra hepatik ödem olduğu, bunu takiben glikojen depolarının azaldığı ve altı saate yakın bir sürede de mitotik aktivitelerde histopatolojik değişimler olduğu bildirilmiştir (79). Ayrıca düşük doz uzun süreli TAA verilmesi, üç ay gibi kısa süre sonra karaciğerde fibrozis, rejeneratif nodüller ve ayrıca sirozun karakteristikleri olan portal hipertansiyon ve hiperdinamik sirkülasyonun gözlemlendiği rapor edilmiştir (80).

Tiyoasetamidin albumin, β -aktin, RNA polimeraz ve sitokrom P450 monooksijenaz içeren birkaç gen ve proteinlerin salınımını etkilediği, aynı zamanda karaciğer hücrelerinde total mRNA'nın miktarını ve aktivitesini arttırdığı da gözlemlenmiştir (68, 81).

Tiyoasetamidnin biyotransformasyonu esnasında hem flavin içeren monooksijenaz (FMO) (69) hem de sitokrom P450 sistemi (82) hidrojen peroksit katalizlenmesiyle oluşan, süperoksit anyonunu dioksijene çevirir. Böylece oksidatif hasarla ilişkili olarak karaciğerdeki bozulmalara öncülük eder. TAA verilmesini takiben karaciğer hücrelerinde tetraploit hücrelerin yok olduğu (83), Malondialdehit (MDA) oluşumunun arttığı (84) ve glutatyonun azaldığı (85) görülmüştür. Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu da TAA indüksiyonlu karaciğer fibrozisinin ilerlemesine neden olur.

Tiyoasetamide bağlı fulminan karaciğer yetmezliğinde, hidroksil radikal temizleyici dimetilsülfoksit ve dimetiltiyoürenin (74) güçlü bir serbest radikal temizleyici olan melatoninin (77), bir antioksidan olan curcuminin (86) sürveyi iyileştirirken, oksidatif stresi, hepatoselüler yıkımı ve hepatik nekroinflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, curcuminin, NF κ B bağlanmasını ve iNOS ekspresyonunu azalttığı da saptanarak, sıçan TAA ile oluşturulan karaciğer yetmezliği modelinde, reaktif oksijen radikalleri yanı sıra, NF κ B ve iNOS'un karaciğer yıkımında

aracı olduğu ileri sür÷lm÷ştür (86). Başka bir sıçan fulminan karaciğer yetmezliğı modelinde ise, bir antioksidan ve NFκB aktivasyon inhibitörü olan pirolidin ditiyokarbamatın (PDTC) karaciğer haraplanmasını azalttığı ve sürveyi iyileştirdiğı gösterilmiştir (75). TAA kronik olarak verildiğı zaman ribozomal aktivitelere etki ederek pankreas ve karaciğerde protein sentezini inhibe eder. Sürekli olarak alınması durumunda çekirdekte genişlemelere ve nükleer RNA polimeraz aktivitesinde artışa neden olur (87).

Tiyoasetamid karaciğer dışında pankreas (81) ve böbreklerde (88) toksik etkilere neden olan bir bileşiktir. Başlıca karaciğerde metabolize olan TAA idrarla dışarıya atılır (89).

1.7.2. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total peroksitlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir.

OSİ'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (90, 91) .

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)} = \frac{\text{Total Oksidatif Stres (TOS)}}{\text{Total Antioksidan Seviye (TAS)}}$$

1.7.3. Total Oksidatif Stres (TOS)

Oksidatif stres; reaktif oksijen ürünlerinin, antioksidan enzim ve maddeleri aşması durumudur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan seviye (TOS) olarak ifade edilir (91).

1.7.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir (92).

Total Antioksidan Seviyesi en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapatan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan

plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutatyon (GSH), flavanoidler, α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidan maddelerin miktarının albumin, ürik asit ve askorbik asit miktarından az olmasından kaynaklanmaktadır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir antioksidan etki oluşmaktadır. Total antioksidan seviyesinin ölçümü, antioksidanların tek tek seviyelerinin ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu yüzden kanın antioksidan düzeyi durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (93, 94). Bu çalışmada da total antioksidan seviye ölçümü tercih edilmiştir.

1.8. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrede lipid, protein, DNA gibi bileşikler üzerine sitotoksik etkileri olan ve hücre ölümüne kadar götüren radikalik tepkimelerin sonlanması için oluşan radikallerin antioksidanlar tarafından indirgenmesi veya oluşumunun engellenmesi gereklidir. Antioksidanlar, bir substratın kısa süre içerisinde oksidasyonunu engelleyici ya da inhibe edici bileşiklerdir ve “antioksidan savunma sistemi” olarakta adlandırılırlar (95). İyi bir antioksidan serbest radikalleri ortadan kaldırabilmeli, metallerle redoks tepkimelerine girebilmeli, gen ekspresyonunu sağlayabilmeli, diğer antioksidanlarla etkileşebilmeli, kolayca absorbe olabilmeli, dokularda ve biyolojik sıvılarda belirli bir konsantrasyonda bulunabilmeli ve hem hücrede hem de sulu ortamlarda işlev görebilmelidir (96).

Antioksidanların ilk belirlenen etkileri, zar yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona karşı korunmasıdır. Antioksidanlar hedef moleküllerdeki oksidan hasarı engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmakta ve bu tanımla bağlantılı olarak antioksidanların etkileri farklı şekillerde olabilmektedir (97, 98).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini dört ayrı şekilde gösterirler (99):

- 1- Scavenging (temizleyici, toplayıcı) etki,
- 2- Quencher (baskılayıcı) etki,
- 3- Zincir kırıcı etki,
- 4- Onarıcı etki.

1.8.1.Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre gruplandırılabilir.

1- Yapılarına göre;

- a) Enzimler
- b) Enzim olmayan proteinler, küçük moleküller

2- Kaynaklarına göre;

- a) Endojen antioksidanlar
- b) Eksojen antioksidanlar

3- Çözünürlüklerine göre;

- a) Suda çözünenler
- b) Lipidlerde çözünenler

4-Yerleşimlerine göre;

- a) Hücre içinde bulunanlar
- b) Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar

Endojen Antioksidanlar

1- Enzimatik antioksidanlar:

Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz, Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon Redüktaz, Glutasyon-S-transferaz, Mitokondrial sitokrom oksidaz, Hidroperoksidazdır (96).

2- Enzimatik olmayan antioksidanlar:

Seruloplazmin, Transferin, Ferritin, Hemoglobin, Miyoglobin, Glutasyon, Sistein, Metiyonin, Glukoz, Ürik Asit, Bilirubin, Albumin, Ubikinon, Melatonin, Selenyum, Lipoik asiti içerir (96, 100, 101).

Eksojen Antioksidanlar

1- Vitamin eksojen antioksidanlar: α - tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat).

2- İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar:

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
- Rekombinant süperoksit dismutaz

- Trolox-C (vitamin E analogu)
- Endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin, dimetil sülfoksit)
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Sitokinler (TNF ve IL-1)
- Barbitüratlar
- Flavonoidler (96, 100, 101)

Mekanizmalarına Göre Antioksidanlar

Antioksidan aktivite üç değişik mekanizma ile etki gösterir (102, 103);

- 1 - Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe ederek,
- 2 - Direkt olarak serbest radikal süpürücüleri ile,
- 3 - Endojen antioksidan savunmayı arttırarak.

1.9. Oksidatif Karaciğer Hasarının Önlenmesinde Antioksidanların Yeri

Yapılmış olan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu bulunmuştur (104). Antioksidanlar, karaciğer dokusunda biriken ve oksidatif hasar içeren bozuklukların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel adaylardır (105). Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Bu nedenle karaciğerde oksidatif hasarı önlemek ve tedavi etmek için çeşitli antioksidanlarla ilgili olarak birçok çalışma yapılmıştır. Diyetle alınan α - tokoferolün lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu olduğu ve sonuçta steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişimine karşı kullanılabileceği bildirilmiştir (106). Sisplatin ile kan ve karaciğerde oluşan oksidatif strese karşı, karotenoidlerden likopenin koruyucu etki sağladığı ortaya konulmuştur (107). Yine metotreksat (MTX) tarafından indüklenen oksidatif karaciğer hasarının düzeltilmesinde N-asetil sistein ile ilgili yapılan çalışmalar, bu ajanın oksidatif karaciğer hasarını azaltabildiği gösterilmiştir (108).

1.10. N-Asetil Sistein (NAC) ve Silymarin

Glutasyon (GSH), vücutta her yerde bulunan esansiyel bir tripeptiddir. Anahtar bir intrasellüler indirgeyici ajandır ve immün modülasyonda ve inflamatuvar durumlarda görev almaktadır (109). NAC, bir sistein donörü bileşiktir. GSH'nin hücrel prekürsörü olarak hareket eder (110-114)

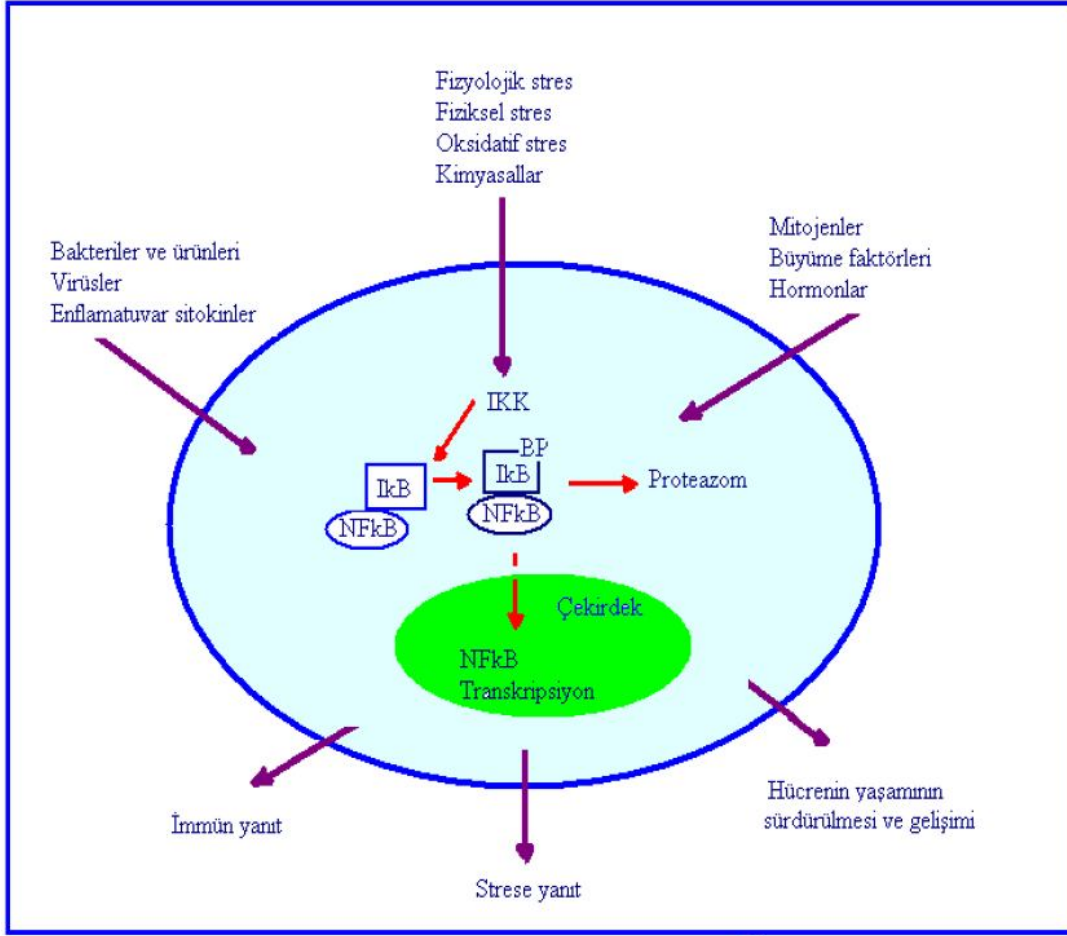
Silymarini %70-80 flavonolignanlar ve %20-30 oranında tanımlanmamış polifenolik bileşenler oluşturur. Silymarinin doğal bileşenlerinden olan silybin en etkili olandır ve silymarinin %80'ini oluşturur. Bunun dışında isosilybin, silykristin ve silydianin diğer bileşenlerdir (115). Silybum tohumları kanıtlanmış bir hepatoprotektif madde olan betaine ve esansiyel yağ asitleri de içerir. Bu maddeler silymarinin antiinflamatuvar etkisine katkıda bulunmaktadır (116, 117).

1.11. Nükleer Faktör Kappa B (NFκB)

Nükleer Faktör Kappa B, ilk kez olgun B hücresi çekirdeğinde, immünglobulin kappa hafif zincir geninde κB alanı olarak bilinen spesifik DNA sekansına bağlanan bir protein olarak tanımlanmıştır (118). Başlangıçta bu transkripsiyon faktörünün sadece B hücrelerinin olgunlaşması ve gelişimi için önemli olduğu düşünüldüğünden NFκB olarak adlandırılmıştır. Devam eden çalışmalar NFκB'nin aslında tek bir protein olmadığını, transkripsiyon faktörü olarak rol oynayan bir protein kompleksi olduğunun anlaşılmasını sağlamıştır. İlk olarak nükleer ekstraktlardaki varlığıyla tanımlanan NFκB'nin moleküler özellikleri Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) adı verilen bir değerlendirme yöntemiyle açığa çıkarılmıştır (118, 119).

1.11.1. NFκB'nin İşlevi ve Aktivasyonu

Nükleer Faktör Kappa B protein kompleksleri, immün ve enflamatuvar yanıt da dahil olmak üzere; hücre yaşamının devamı, proliferasyonu, anjiogenez ve apoptosisle ilişkili 400'den fazla farklı gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Normal hücrelerde NFκB'nin aktivasyonu sıkı kontrol altındadır. Bununla birlikte, patojenler, oksidan maddeler, enflamasyon mediyatörleri ve büyüme faktörleri NFκB aktivasyonuna neden olmaktadır. NFκB aktivasyonunun oksidatif stresle ilişkisinden dolayı NFκB, redoks duyarlı transkripsiyon faktörü olarakta tanımlanmaktadır (120). NFκB aktivasyonuna neden olan sinyal uyarıları Şekil 5'de gösterilmiştir (121).



Şekil 5. NFκB aracılıklı sinyalin uyarıları (121).

1.12. Karaciğer Patolojilerinde NfκB'nin Rolü

Karaciğer patolojilerini taklit eden deneysel modellerdeki çalışmalar; NFκB aktivasyonuna bağlı yanıtların cinsiyet, yaş ve diyetteki yağ içeriğine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (122). Buna göre NFκB aktivasyonuna bağlı yanıt dişilerde, gençlerde ve fazla yağlı diyetle beslenenlerde artmaktadır. İnsan karaciğer hastalıklarında hepatik NFκB'nin önemine ilişkin çalışmalar henüz yeterli değildir. Bununla birlikte alkolik karaciğer hastalığında enflamasyon ve fibrozisin hepatik NFκB aktivasyonu ile ilişkisi net olarak ortaya konmuştur (123). Hepatositlerde NFκB'nin baskın formunun p50-p65 heterodimer formu olduğu anlaşılmıştır (124).

Bir başka önemli nokta NFκB'nin hepatositler için yaşamsal öneme sahip olduğudur. Nitekim NFκB p65'in tamamen yok edildiği farelerde yapılan genetik çalışmalar, TNF-α tarafından indüklenen yoğun hepatosit apoptozisine bağlı olarak embriyonik ölümün gerçekleştiğini göstermiştir (125). Diğer taraftan yapılan moleküler

düzeydeki araştırmalar NFκB'nin p50 alt biriminin karaciğer hasarında enflamatuar hücre sayısını arttırarak ve TNF-α'nın ekspresyonunu sınırlayarak karaciğer hasarında koruyucu rol oynadığını göstermiştir (126).

1.12.1.Oksidatif Stres ve NFκB

Nükleer Faktör Kappa B, oksijen duyarlı transkripsiyon faktördür ve oksidatif strese doğrudan yanıt verdiği gösterilen transkripsiyon faktörleri arasında en önemlisidir (127). NFκB'yi aktive eden moleküllerin birçoğunun süperoksit, hidrojen peroksit, lipooksijenaz ürünlerinin oluşumunu da tetiklediği artık bilinmektedir. Başta DNA olmak üzere tüm makromoleküllerde hasar oluşturma eğiliminde olan oksidanlar için, NFκB de bir hedef olarak düşünülebilir (128, 129).

Düşük oksidatif stresin, Nrf2 olarak adlandırılan ve antioksidan enzimler için transaktivasyon gen kodlaması yaptığı bilinen bir transkripsiyon faktörünü tetiklediği, orta miktardaki oksidatif stresin ise NFκB aracılığıyla inflamatuvar yanıtı tetiklediği gösterilmiştir. Şiddetli oksidatif stres ise mitokondrial permeabilite geçiş poru işlevinde sorunlara neden olmaktadır. Bu da, elektron transferinin aksamasına ve apoptosise ve/veya hücrenin nekroza gitmesine neden olmaktadır (130).

1.13. NFκB ve Antioksidanlar

Nükleer Faktör Kappa B ve antioksidan maddelerle ilgili çalışmalarda oksidatif stresin rolü araştırılırken bu amaç için en fazla kullanılan bileşik NAC olmuştur. Vitamin E, C ve A, α-lipoik asit gibi diğer antioksidanlar da yine bu araştırmalarda kullanılmıştır. Bunların bazı hücre tiplerinde NFκB aktivasyonunu inhibe edebildikleri gösterilmiştir (131, 132). NAC, hücre içi glutatyon seviyelerini arttırabilen ve H₂O₂, hidroksil radikali ve hipokloröz asit gibi oksidanları süpüren bir antioksidan olarak bilinmekteydi (133). Sonraları bu özelliklerine ek olarak NFκB'nin genel inhibitörü olduğu vurgusu da yapılmıştır. Ancak araştırmalar, NAC için NFκB duyarlı ve duyarsız yolların olabileceğini de ortaya koydu. Bu nedenle artık antioksidanların NFκB aktivasyonu üzerindeki etkilerinin, uyarı ve hücreye spesifik olduğu görüşü ağırlık kazanmıştır (134).

1.14 Nükleer Faktör Eritroid-2-Related Faktör 2 (Nrf2)

Nükleer Faktör Eritroid-2-Related Faktör 2 hücrenin oksidatif strese adaptif yanıtında merkezi rol oynadığından, *Nrf2*^{-/-} memeliler oksidatif hasara açıktır (135). *Nrf2*^{-/-} farelerle yapılan deneylerde, kimyasallarla veya ksenobiyotiklerle oksidatif hasar oluşturulduğunda doku hasarının fazla olduğu, inflamasyonun arttığı saptanmıştır (136, 137). Kolit modeli uygulanan *Nrf2*^{-/-} farelerde hastalığın ve inflamasyonun daha şiddetli olarak ortaya çıktığı, antioksidan gen düzeylerinin belirgin olarak azaldığı belirlenmiştir (138). Toplumda antioksidan yanıtta yetersizliğe genetik olarak yatkın pekçok birey bulunmaktadır ve bu bireyler oksidatif stresten kaynaklanan çok sayıda hastalık için risk taşımaktadır (135). Bu bireyler, Nrf2 aktivitesini stimüle eden farmakolojik ajanlardan en fazla fayda görecektir hastalar olacaktır.

Adenosin Mono Fosfat-Aktif Protein Kinaz (AMPK) karaciğer ve kas dokusunda aktive olarak glukoz ve lipid metabolizmasında olumlu etkilere neden olur. Karaciğerde aktive olduğunda hepatik glukoneogenezde önemli rol oynayan PEPCCK (fosfoenol karboksi kinaz) ve glukoz-6-fosfat enzimlerinin gen ekspresyonları inhibe olur. Ayrıca karaciğerde yağ asidi sentezini artıran ACC (Acetyl-CoA carboxylase) ve SREPB-1 (Sterol-Regulatory-Element-Binding) enzimlerini baskılayarak yağ asidi sentezini azaltır. Böylelikle karaciğerde yağ depolanmasını ve kana trigliserid, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol taşınmasını azaltır. AMPK'nın artmış oksidatif stres durumlarında antioksidan defans mekanizmalarını uyararak artmış oksidatif stres aracılıklı doku hasarını engelleyebildiği bildirilmiştir (139).

1.14.1. Antioksidan maddelerin bulundukları besinler

İnsanlar flavonoidleri; meyve, sebze, şarap, çekirdekler, kabuklu yemişler, tahıllar, baharatlar, çay, bira ve kakaodan elde ederler (140, 141). Bitkilerde yapraklara, tohumlara, kabuklara ve çiçeklere dağıldığı belirlenmiş 4000'in üzerinde flavonoid tanımlanmıştır (142).

Üzüm tohumunda gallik asit, (+)-kateşin, epikateşin, dimerik prosyanidin ve proantosyanidin bulunur. Üzüm kabuğunda ise proantosyanidin, ellajik asit, mirisetin, kuersetin, kaempferol ve trans-resveratrol bulunur (143). Proantosyanidinler de denen flavan oligomerleri elma, üzüm, yemiş ve arpada mevcuttur (140).

Flavonoidler intestinal emilime uğrarlar ve periferel kan kompartmanına geçmeden önce ilk geçiş metabolizmasına uğrarlar (144). Flavonoidlerin diyetten alınımı C vitamini (70mg/day), E vitamini (7-10 mg/gün), ve karotenoidlere (α -karoten) (2-3 mg/gün) göre daha yüksektir (145). Flavonoid alınımı meyve ve sebzelerin tüketime, kırmızı şarap, çay ve filtresiz bira içiminin sıklığına göre günde 50-800mg arasında değişir (140). Özellikle kırmızı şarap ve ayda bol fenol vardır (bardak başına yaklaşık 200 mg). Proteinlerin polifenollere bağlanması polifenollerin biyoyararlılıklarını azaltır, alkol ile beraber tüketilmesi ise arttırır (140). Yağlarla beraber tüketilmesi flavonoid emilimini arttırır (146). Yeşil aydaki kateşinler, üzüm çekirdeğindeki oligomerik proantosiyanidinler, serbest hallerine kıyasla fosfolipidler ile kompleks halindeyken daha yüksek oranda emilirler (146).

Sonuç olarak serbest radikal yakalayan  erikleri; resveratrol, kateşin, flavonol, proantosiyanidin, antosiyanın ve gallik asittir. Antioksidan özelliği bulunanlar prosiyanidin ve antosiyanindir (143).

1.15. zm ekirdeği özütü ()

zmn (Vitis vinifera) tıbbi ve besinsel değeri binlerce yıldır bilinmektedir. Mısırlılar bu meyveyi yaklaşık 6000 yıldır tkettmektedir ve birçok antik Yunan filozofu zmn iyileştirici etkisinden bahsetmiştir. zm çekirdekleri şarap ve üzüm suyu endüstrisinin artık ürünleridir. zm ekirdeği özütü hazırlamak için önce çekirdekler etrafındaki dokularından arındırılıp 1 hafta boyunca gölgede kurutulur. Sonra 0,4 mm'den daha ince tozlar haline gelinceye kadar öğütülür. Bu tozlar oda sıcaklığında 72 saat boyunca %75 etanol ile ıslatılıp yumuşatılır. Etanol buharlaştıktan sonra geriye liyofilize toz şeklindeki  kalır (147-150).

Uzun yıllar boyunca değişik coğrafyalarda kullanılan üzüm çekirdeği özütünün statüsü FDA (food and drug administration) tarafından GRAS (generally regarded as safe) olarak tanımlanmıştır. Tavsiye edilen dozu günde 100 ile 300 mg olarak kabul edilmiştir fakat hamile ve süt veren kadınların 'den kaçınmaları tavsiye edilir (151).

1.15.1.ÜÇÖ'nün etkileri

Üzüm çekirdeği özütü, NO oluşumunu baskılar (152). Üzüm çekirdeğinin güçlü serbest radikal yakalama yeteneği vardır (153, 154). ÜÇÖ superoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini başarılı olarak yakalar (155). Bu işi E ve C vitamininden daha iyi yapar (156). Hatta üzümdeki proantosiyanidinlerin antioksidan gücü E vitamininden 20, C vitamininden ise 50 kat güçlüdür (157, 158). ÜÇÖ superoksitleri yakalamada hidroksil radikallerine göre daha başarılıdır ve E vitamini ile kombine edildiğinde daha çok radikal yakalanır (159).

Üzüm çekirdeği özütünün koruyucu özelliğinin DNA tamiri, lipid peroksidasyonu ve intrasellüler kalsiyum homeostazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (160). Ek olarak, ÜÇÖ'nün kimyasal maddelerin neden olduğu karaciğer ve böbrek toksisitesine karşı koruma sağladığı, karaciğer dokusunda bcl-xL ekspresyonunu artırdığı ve hem nekrotik hem de apoptotik karaciğer hücrelerinin ölümünü antagonize ettiği gösterilmiştir (142, 161, 162).

Karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarından 15 gün önce ve sonra oral olarak uygulanan 50 mg/kg ÜÇÖ, iskemi reperfüzyon hasarı sonrasında yükselen serum ALT, AST ve LDH düzeylerini ve TNF- α ve IL-1 β düzeylerini azaltmıştır (163).

Farelerde 7 gün boyunca günlük 100 mg/kg ÜÇÖ'nün asetaminofenin neden olduğu ölümleri, karaciğer toksitesini, hepatik DNA hasarını, ALT aktivitesini, apoptotik hücre ölümünü önemli ölçüde azaltırken gen ekspresyonunu pozitif yönde etkilediği gösterilmiştir (142, 161, 162). Aynı zamanda asetaminofenin neden olduğu toksisiteye karşı renal fonksiyonları koruduğu gösterilmiştir (142, 161, 162).

1.15.2. Proantosiyanidinlerin etkileri

Üzüm çekirdeği ve kabuğundaki ana fenolik bileşikler proantosiyanidinlerdir (143). Proantosiyanidinler güneş ışığından vücudu korumaya, görmeyi geliştirmeye, eklemlerde, arterlerde ve kalp gibi vücut dokularında esnekliği geliştirmeye, kapiller, arter ve venleri güçlendirerek kan dolaşımına yardım ederler. Proantosiyanidinlerin serbest radikalleri yakalayıp antioksidan etki yaratmalarının yanında vazodilatatör,

antikarsinojenik, antiallerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyel, kardioprotektif, immünoestimulan, antiviral ve östrojenik etkileri de vardır (144, 148, 152, 164, 165).

Proantosiyaniidinler ayrıca fosfolipaz A₂, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe ederler. Proantosiyaniidinler lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu azaltarak antioksidan savunmayı güçlendirirler (166). Flavonoidlerin biyolojik sistemlerdeki yararlı etkileri serbest radikallerdeki elektronları transfer etmelerine, metal katalizörleri şelatlamalarına ve oksidazları inhibe etmelerine bağlıdır (167, 168). İki farklı üzüm türünün arasındaki etki farkının araştırıldığı bir çalışmada molekül ağırlığı düşük polifenollerin üzüm içeriğinde daha fazla olması hücre sağkalımı lehine bulunmuştur (169).

1.16. Resveratrol

Resveratrol, travmatik zedelenme veya fungal saldırılara karşı bitkiler tarafından sentezlenen flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir. Fitoaleksinin denilen maddeler patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı üretilen kimyasal maddelerdir. “*polygonum cuspidatum*” kökleri tarafından sentezlenir ve geleneksel olarak Çin ve Japonya’da alternatif tıpta antiinflamatuvar etken madde olarak kullanılmıştır. Resveratrol en çok üzüm kabuğunda bulunmakla beraber üzüm meyvesinde ve yaprak saplarında, kökte, çekirdekte, yerfıstığında, kırmızı şarapta, dut meyvesinde ve “*polygonum cuspidatum*” bitkisinin kök ve gövdesinde bulunur (170, 171). Resveratrol, 1992 yılında Siemann ve Creasy adlı araştırmacıların resveratrolün kırmızı şarabın içinde bulunduğu ve fransız paradoksundan sorumlu olduğunu iddia etmeleriyle dikkati çekmiştir (170). Fransa’da kırmızı şarap tüketimi ile kardiovasküler hastalık sıklığı arasında ters orantı saptanmıştır. Bu durum fransız paradoksu diye adlandırılmıştır (172). Diğer yandan, resveratrolün, C vitaminine göre 20-50 kat daha fazla etkili bir antioksidan olduğu da saptanmıştır (173). Resveratrolün antioksidan etkinliğini, serbest radikal yakalama özelliğinden daha çok endojen antioksidan ve sitoprotektif enzimi uyararak gösterdiği saptanmıştır (174). Bu enzimler arasında süperoksit dismutaz, katalaz, tiyoredoksin, glutatyon peroksidaz, glutatyon-5-transferaz, glutatyon reduktaz bulunmaktadır. Resveratrol, endotel de dahil olmak üzere pek çok hücrede sirtuin1’in (Sirt1) direkt aktivatörüdür. Resveratrol Sirt1 yoluyla NFκB’yi inhibe eder (175). Reaktif oksijen türleri enflamasyon, ateroskleroz ve kanser gelişimi

üzerine etkilerini NFκB'yi uyararak gösterirler. Bu nedenle, NFκB'nin inhibisyonu resveratrolün antioksidan etkisini gösterdiği yollardan birisidir. Resveratrol, antioksidan ve sitoprotektif etkilerinin bir kısmını Nrf2'yi aktive ederek göstermektedir. Bu etki pek çok farklı hücre hattında (hepatositler, vasküler düz kas hücreleri, koroner arter endotel hücreleri) ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (176). Sonuçta resveratrol hücre membranlarını koruyarak yaşayan hücrelerde oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmaktadır (170).

Hiperlipidemik diyetle beslenen ratlarda, resveratrolün triaçilgliserol ve kolesterolün karaciğer tarafından akümülyasyonunu inhibe ettiği ve peroksitlenmiş yağla beslenen ratlarda karaciğer hasarını önlediği gösterilmiştir (177, 178). Resveratrolün kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikarsinogenik ve antienflamatuvar etkileri *in vitro* ve *in vivo* yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (179). Bu etkilerini kanal ve uyarılmış sitokinleri, Granülosit-monosit koloni uyarıcı faktörü (GM-CSF) ve serbest oksijen radikallerini inhibe ederek yapar (180). Bunun yanında resveratrol kaspaz aktivasyonu ve apoptozisi önler. Aktivatör protein-1'i (AP-1) inhibe eder.

Ağızdan alınan resveratrolün fare ince barsak modelinde %46, farelerde %77-80 ve insanlarda %70 oranında absorbe edildiği gösterilmiştir (181, 182). Emilim daha çok jejunumdan, az miktarda da ileumdan olmaktadır. Resveratrolün %2'si barsaklarda kalmakta ve emilmemektedir. Resveratrolün oral alımından sonra karaciğerde yüksek konsantrasyonda bulunduğu gösterilmiştir (179). Ratlarda yapılan çalışmalarda resveratrolün özellikle karaciğer ve böbreklerde biriktiği gösterilmiştir (183). Farelere oral yolla resveratrol verildiğinde intestinal bir birikimin olduğu, bunun da emilmeyen resveratrol nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (184).

1.16.1. ÜÇÖ'nün Yan Etkileri ve Güvenilirliği

Bugüne kadar yapılan *in vivo* çalışmalarda ÜÇÖ'nün herhangi bir yan etkisi bildirilmemiştir. ÜÇÖ uzun yıllardan beri Amerika ve Avrupa'da kullanılan bir besin takviyesidir ve FDA tarafından GRAS statüsüne konulmuştur. Tavsiye edilen ÜÇÖ dozu günlük 100-300 mg arasında değişmektedir.

Üzüm çekirdeği özütü için yapılan doz çalışmalarında erkek ve dişi albino sıçanlarda gastrik entübasyon yoluyla verilen ÜÇÖ'nün LD50 değerinin 5000 mg/kg'dan fazla olduğu gösterilmiştir (162). Deri tahrişi açısından ÜÇÖ orta dereceli

irritasyon yapıcı olarak sınıflandırılmıştır ve dişi ve erkek albino sıçanlarda 2 g/kg dozda sistemik toksik etkisi olmamıştır (162). Uzun süreli (90 gün) toksikolojik çalışmalarda (185) erkek sıçanlarda 1,4 g/kg, dişi sıçanlarda ise 1,5 g/kg oral ÜÇÖ takviyesi herhangi bir yan etkiye sebep olmamıştır. 90 gün boyunca dişi ve erkek sıçanlara diyetle %0,5, %1 ve %2 oranında karıştırılan ÜÇÖ'nün vücut ağırlığı, besin tüketimi, hematolojik parametreler, organ ağırlığı veya histopatolojisi üzerine herhangi bir yan etkisinin olmadığı gösterilmiştir (186).

Üzüm yetiştiriciliği bölgemiz için oldukça önemli bir geçim kaynağıdır. Ancak alışlagelmiş üzüm işleme yöntemlerinde üzüm çekirdeği atık madde olarak görülmektedir. Antioksidanlar açısından zengin olduğu kanıtlanmış üzüm çekirdeğinin atık madde olarak görülmesinden vazgeçilmelidir. Bu çalışmada güçlü antioksidanlar içeren üzüm çekirdeği ekstraktının tiyoasetamidle oluşturulan karaciğer toksisitesi üzerine etkilerini araştırmak amaçlandı. Bu amaçla Elazığ bölgesinde hiçbir kimyasal madde ve ilacın kullanılmadığı organik üzüm yetiştirilen bağlardan elde edilen üzüm çekirdeği kullanıldı. Bu durum kanıtlanırsa üzüm çekirdeğinin sanayide işlenmesi ve kullanılması sağlanarak bölgemiz ve dolayısıyla ülkemize ek bir gelir kaynağı sağlanmış olacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi ve Deney Protokolü

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunun 05.11.2014 tarih, 2014/22 sayı ve 207 karar nolu etik kurul onayı alındıktan sonra Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜDAM), Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ve Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmada, 8-10 haftalık yaklaşık 400-500 gram ağırlığında Wistar albino cinsi 63 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar FÜDAM'dan temin edildi ve bakımları burada gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen ratlar 9 eşit gruba ayrıldı. Hayvanların beslenmesinde Elazığ yem fabrikası'ndan sağlanan standart rat yemi kullanıldı ve kafeslerde özel bölümlere yerleştirilmiş olan ve uç kısımlarında damlalık bulunan özel şişeler ile su verildi. Deney öncesi ve deney sırasında tüm hayvanlar 12 saat ışık, 12 saat karanlık foto periyodunda ve 22–24 °C sabit sıcaklıktaki odalarda, üçerli ve ikişerli gruplar halinde bulundukları kafeslerde barındırıldı. Çalışmanın tüm aşamalarında 1983 Helsinky deklarasyonunda bildirilen “hayvanlarda bilimsel çalışmalar için etik kurallara uygun bir şekilde yapıldı. Çalışmanın başlangıcında ağırlıklar hassas terazi ile darası alınmış plastik bir kaptaki gerçekleştirildi.

2.2. Örneklerin Hazırlanması ve Saklanması

Karaciğer hasarı protokolünün etik kurallara riayet ederek 7. Gün sonunda sonuçlandırılmasıyla birlikte ratlar steril cerrahi aletler yardımıyla dekapite edilip serum örnekleri yapılacak olan analizler için düz biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan serum her bir rat için daha önceden numaralandırılmış 2 adet (biri biyokimyasal parametreler için diğeri ise ELISA çalışması için) eppendorf tüpüne yerleştirilip çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

2.3. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümleri

Rutin biyokimyasal analizler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi merkez laboratuvarında gerçekleştirildi. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), total kolesterol, High-density lipoprotein (HDL), Low-Density Lipoprotein (LDL), Gamaglutamil transferaz (GGT) düzeyleri Siemens Advia 1800

otoanalizörü (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Tarrytown, NY, USA) ile cihaz ile uyumlu ticari kitler (Advia Chemistry) kullanılarak yapıldı.

2.4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemiyle Biyolojik Numunelerin Analizleri

Eksi seksen derecede saklanan eppendorf tüpleri çalışmadan önceki gün +4 derecede muhafaza edilerek ELISA yöntemi için uygun şartlar sağlandı. Çalışma günü serum NFκB düzeyleri, rat NFκB enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (YH Biosearch Laboratory, katalog no: YHB0794Ra, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi.

Ölçüm aralığı: 0,05-20 ng/mL, intra-assay CV: <%10 ve inter-assay CV değeri: CV: <%12’ idi.

Serum Nrf2 düzeyleri, rat Nrf2 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (YH Biosearch Laboratory, katalog no: YHB0793Ra, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları ng/mL olarak belirtildi. Ölçüm aralığı: 0,2-60 ng/mL, intra-assay CV: <%10 ve inter-assay CV değeri: CV: <%12’ idi.

Serum AMPK düzeyleri, rat AMPK enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (YH Biosearch Laboratory, katalog no: YHB0845Ra, China) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları U/L olarak belirtildi. Ölçüm aralığı: 0,5-200 U/L, intra-assay CV: <%10 ve inter-assay CV değeri: CV: <%12’ idi.

2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Erel tarafından, serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçmek için geliştirilen bir metottur.

Prensip

Fe²⁺-o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton reaksiyonu oluşturarak OH radikalini meydana getirir. Bu güçlü reaktif oksijen türü düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluşturur. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumunu artırmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyonlar otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (94).

2.6. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen kolorimetrik bir yöntemdir.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda ksilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (187) .

Çalışmadan önceki gün +4 derecede eppendorf tüplerinde muhafaza edilen örnekler TAS ve TOS ölçümleri için belirtilen şekilde spektrofotometrik olarak ölçüldü.

2.7. Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi

Nekroz ve inflamasyon derecesini belirlemek için karaciğer dokuları çıkarılıp %10'luk formaldehit ile tespit edilerek rutin histopatolojik takip uygulandı.

Parafin bloklardan elden edilen 4 µm kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-Eozin (H&E) uygulanarak Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile ×40, ×100, ×200 ve ×400 büyütmelemlerde incelemeler yapıldı. İnflamatuar hücrelerin sayımı; x400 büyütmede her bir preparatta en az 10 alanda inflammatuar hücreler sayıldı. Bu 10 alanın ortalamaları her bir denek için veriler ayrı ayrı kaydedildi. Nekroz ise yine x400 büyütmede en az 10 alanda mm²'ye düşen fokal litik nekroz alanları sayılarak her bir denek için ayrı ayrı

ortalaması alındı ve kaydedildi. Veriler istatistiksel olarak değerlendirilerek gruplar arasındaki farklılıklar incelendi (188) (Tablo 10).

Tablo 10. İnflamasyon ve Nekroz

Paremetreler	N	Ort+ss
İnflammation (Cell/mm ³)	63	2,62±2,21
Necrotic focus (Foci/mm ²)	63	0,37±0,34

2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Örneklem grubuna ilişkin verilere normallik testi uygulanmış ve verilerin normal dağılıma uygun olmadığı görüldü. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS programı kullanılarak yapıldı. İki grup değişkenlerinin karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden Mann Whitney U testi uygulandı. Mann Whitney U testi sonucunda ($p<0,05$) anlamlı farklılık gösteren değişkenlere ilişkin çıkarımlarda bulunuldu.

3. BULGULAR

3.1. Gruplar

- 1 : Kontrol grubu
- 2 : Sham grubu
- 3: 7 gün süreyle sadece DDÜÇE (150mg/kg) verilen grup
- 4 : 7 gün süreyle sadece YDÜÇE (500mg/kg) verilen grup
- 5 : 2 gün süreyle TAA ve sonrasında sadece SF uygulanan grup
- 6: TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle DDÜÇE verilen, TAA sonrasında yine DDÜÇE verilen grup
- 7: TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle YDÜÇE verilen, TAA sonrasında yine YDÜÇE verilen grup
- 8: TAA uygulaması sonrası DDÜÇE verilen grup
- 9: TAA uygulaması sonrası YDÜÇE verilen grup

3.2. Biyokimyasal veriler ve ELİSA Sonuçları

Tablo 10. Gruplarda yer alan ratların deney başlangıcındaki ağırlıkları

Ratlar	I. Grup (gr)	II. Grup (gr)	III. Grup (gr)	IV. Grup (gr)	V. Grup (gr)	VI. Grup (gr)	VII. Grup (gr)	VIII. Grup (gr)	IX. Grup (gr)
I.	598	514	444	516	600	448	461	464	520
II.	468	489	427	478	513	390	469	407	481
III.	509	414	410	625	558	370	490	408	596
IV.	419	375	430	553	483	390	518	464	536
V.	415	415	444	505	621	370	527	387	504
VI.	370	455	417	555	468	424	563	426	573
VII.	510	560	443	453	517	442	511	390	563
Ort.	469,86	460,29	430,71	526,43	537,14	404,86	505,57	420,86	539,00

Tablo 11. Örneklem grubunun sonuçlarına ilişkin istatistiksel bilgiler

Parametreler	N	Min.	Mak.	Ort.	s.s.
NFκB (ng/ml)	63	2,10	6,19	4,06	1,01
Nrf2 (ng/ml)	63	5,35	12,10	9,26	1,74
AMPK (U/L)	63	26,56	46,93	36,38	4,99
Kolesterol (mg/dL)	63	31	87	50,75	12,61
HDL (mg/dL)	63	5,90	19,70	12,25	2,96
LDL (mg/dL)	63	3	39	6,67	5,43
AST (U/L)	63	125	599	215,78	81,16
ALT (U/L)	63	52	145	87,29	24,78
GGT (U/L)	63	0	22	2,22	3,45
Inflammation cells/mm ²)	63	,20	7,60	2,62	2,21
Necrotic focus (foci/mm ²)	63	0	1	,37	,34
TAS	63	2,15	3,27	2,46	,19
TOS	63	22	71,80	30,43	8,51

Tablo 12. Örneklem grubunun sonuçlarına ilişkin ortalama değerler

Parametreler	I. Grup	II. Grup	III. Grup	IV. Grup	V. Grup	VI. Grup	VII. Grup	VIII. Grup	IX. Grup
NFκB ng/ml	4,42	4,86	4,40	4,07	4,05	3,52	3,61	3,59	3,36
Nrf2 ng/ml	10,38	8,60	9,38	10,73	10,24	9,77	8,77	6,10	7,67
AMPK U/L	39,48	39,14	38,57	36,05	32,43	35,34	32,86	41,49	29,55
Kolesterol mg/dL	46,33	43,00	44,57	53,20	58,16	55,80	52,33	42,25	64,75
HDL mg/dL	11,26	10,08	11,20	11,02	13,75	12,24	12,30	12,75	17,02
LDL mg/dL	6,83	6,38	5,87	6,60	10,96	5,72	4,50	3,30	8,00
AST U/L	183,50	189,80	174,42	172,20	283,16	278,20	210,00	220,50	244,00
ALT U/L	84,50	79,00	79,00	62,00	92,00	89,40	87,66	100,50	124,75
GGT U/L	1,33	2,00	1,14	1,00	4,66	4,00	1,66	1,50	2,50
Inflammation (cells/mm ²)	,76	1,04	,78	,96	4,20	4,24	4,33	4,60	5,00
Necrotic focus (foci/mm ²)	,16	,16	,08	,12	,61	,64	,70	,47	,72
TAS	2,43	2,49	2,41	2,36	2,63	2,49	2,39	2,33	2,53
TOS	26,97	29,96	30,88	28,87	30,08	36,12	30,84	25,85	35,09

Araştırmada yer alan demografik ve diğer etkenlerle ölçekte yer alan değişkenler arasında fark olup olmadığını belirlemeye yönelik olarak çeşitli testler yapılmış ve çıkan farklılıklar incelenerek değerlendirilmiştir. Ratların incelenen değerlerinin normal dağılıma uygunluk durumuna göre parametrik ya da parametrik olmayan testler uygulanmıştır. Dağılımın normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile sınanmış ve sonuçlar Tablo 13’de özetlenmiştir.

Tablo 13. Normal dağılım testi sonuçları

Parametreler	Kolmogorov-Smirnov		
NFκB (ng/ml)	,146	63	,017
Nrf2 (ng/ml)	,070	63	,200*
AMPK (U/L)	,125	63	,075
Kolesterol (mg/dL)	,159	63	,006
HDL (mg/dL)	,115	63	,161
LDL (mg/dL)	,282	63	,000
AST (U/L)	,171	63	,002
ALT (U/L)	,108	63	,200*
GGT (U/L)	,415	63	,000
Inflammation (cells/mm ²)	,211	63	,000
Necrotic focus (foci/mm ²)	,162	63	,005
TAS	,194	63	,000
TOS	,238	63	,000

Tablo 13 de örneklem grubunun normal dağılıma uygun olup olmadığıyla ilgili test sonuçları gösterilmiştir. Kolmogorov-Smirnov testi sonuçları incelendiğinde değişkenlerin sonuçlarının p olmadığı görülmektedir. Bu nedenle örneklem grubu normal dağılım göstermemektedir. Sonuçta parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis H-Testi ve Mann Whitney U testleri kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Farklılıkların belirlenmesinde anlamlılık seviyesi % 5 olarak alınmıştır.

Tablo 14. Grup 1 ve 5 te yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFkB ng/ml	Grup I	7	7,50	-,961	,337
	Grup V	7	5,50		
Nrf2 ng/ml	Grup I	7	7,17	-,641	,522
	Grup V	7	5,83		
AMPK	Grup I	7	9,50	-2,882	,004
	Grup V	7	3,50		
Kolesterol mg/dL	Grup I	7	4,50	-1,925	,054
	Grup V	7	8,50		
HDL mg/dL	Grup I	7	4,17	-2,242	,025
	Grup V	7	8,83		
LDL mg/dL	Grup I	7	7,33	-,833	,405
	Grup V	7	5,67		
AST U/L	Grup I	7	3,50	-2,882	,004
	Grup V	7	9,50		
ALT U/L	Grup I	7	5,17	-1,281	,200
	Grup V	7	7,83		
GGT U/L	Grup I	7	6,17	-,349	,727
	Grup V	7	6,83		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup I	7	3,50	-2,892	,004
	Grup V	7	9,50		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup I	7	3,67	-2,771	,006
	Grup V	7	9,33		
TAS	Grup I	7	3,50	-2,887	,004
	Grup V	7	9,50		
TOS	Grup I	7	5,17	-1,281	,200
	Grup V	7	7,83		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 1 ve 5 (p=,337) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 1 ve 5 (p=,522) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 1 ve 5 (p=,004) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup I de bulunan ratların ortalamasının grup 5'te bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Kolesterol değişkeni için grup 1 ve 5 (p=,054) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 1 ve 5 (p=,025) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer

ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 1 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. LDL değişkeni için grup 1 ve 5 ($p=,405$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 1 ve 5 ($p=,004$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 1 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. ALT değişkeni için grup 1 ve 5 ($p=,200$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 1 ve 5 ($p=,727$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 1 ve 5 ($p=,004$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 1 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Nekroz için grup 1 ve 5 ($p=,006$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 1 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. TAS için grup 1 ve 5 ($p=,004$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 1 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. TOS için grup 1 ve 5 ($p=,200$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 14).

Tablo 15. Grup 6 ve 7 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup VI	7	4,25	-,354	,724
	Grup VII	7	3,67		
Nrf2 ng/ml	Grup VI	7	5,25	-1,768	,077
	Grup VII	7	2,33		
AMPK	Grup VI	7	4,75	-1,061	,289
	Grup VII	7	3,00		
Kolesterol mg/dL	Grup VI	7	4,25	-,354	,724
	Grup VII	7	3,67		
HDL mg/dL	Grup VI	7	4,25	-,354	,724
	Grup VII	7	3,67		
LDL mg/dL	Grup VI	7	4,38	-,535	,593
	Grup VII	7	3,50		
AST U/L	Grup VI	7	4,25	-,354	,724
	Grup VII	7	3,67		
ALT U/L	Grup VI	7	4,25	-,354	,724
	Grup VII	7	3,67		
GGT U/L	Grup VI	7	4,63	-,926	,354
	Grup VII	7	3,17		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup VI	7	3,75	-,357	,721
	Grup VII	7	4,33		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup VI	7	3,63	-,535	,593
	Grup VII	7	4,50		
TAS	Grup VI	7	4,13	-,178	,858
	Grup VII	7	3,83		
TOS	Grup VI	7	3,25	-1,061	,289
	Grup VII	7	5,00		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,724) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,077) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,289) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Kolesterol değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,724) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,724) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,593) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 6 ve 7 (p=,724) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT

değişkeni için grup 6 ve 7 ($p=,724$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT için grup 6 ve 7 ($p=,354$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 6 ve 7 ($p=,721$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 6 ve 7 ($p=,593$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 6 ve 7 ($p=,858$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS için grup 6 ve 7 ($p=,289$) arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 15).

Tablo 16. Grup 5 ve 6 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup V	7	5,00	-,640	,522
	Grup VI	7	6,25		
Nrf2 ng/ml	Grup V	7	6,00	-,640	,522
	Grup VI	7	4,75		
AMPK	Grup V	7	4,00	-1,919	,055
	Grup VI	7	7,75		
Kolesterol mg/dL	Grup V	7	6,00	-,642	,521
	Grup VI	7	4,75		
HDL mg/dL	Grup V	7	6,33	-1,066	,286
	Grup VI	7	4,25		
LDL mg/dL	Grup V	7	5,83	-,433	,665
	Grup VI	7	5,00		
AST U/L	Grup V	7	6,17	-,853	,394
	Grup VI	7	4,50		
ALT U/L	Grup V	7	6,17	-,853	,394
	Grup VI	7	4,50		
GGT U/L	Grup V	7	4,93	-,874	,382
	Grup VI	7	6,50		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup V	7	5,83	-,428	,669
	Grup VI	7	5,00		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup V	7	6,08	-,767	,443
	Grup VI	7	4,63		
TAS	Grup V	7	6,67	-1,497	,134
	Grup VI	7	3,75		
TOS	Grup V	7	6,17	-,853	,394
	Grup VI	7	4,50		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,522$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,522$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,055$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Kolesterol değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,521$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,286$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,665$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,394$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,394$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,382$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 5 ve 6 ($p=,669$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 5 ve 6 ($p=,443$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 5 ve 6 ($p=,134$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS değişkeni için grup 5 ve 6 ($p=,394$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 17. Grup 5 ve 7 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup V	7	4,83	-,258	,796
	Grup VII	7	5,33		
Nrf2 ng/ml	Grup V	7	6,00	-1,549	,121
	Grup VII	7	3,00		
AMPK	Grup V	7	4,83	-,258	,796
	Grup VII	7	5,33		
Kolesterol mg/dL	Grup V	7	5,50	-,788	,431
	Grup VII	7	4,00		
HDL mg/dL	Grup V	7	5,75	-1,167	,243
	Grup VII	7	3,50		
LDL mg/dL	Grup V	7	5,42	-,677	,498
	Grup VII	7	4,17		
AST U/L	Grup V	7	6,00	-1,549	,121
	Grup VII	7	3,00		
ALT U/L	Grup V	7	5,33	-,516	,606
	Grup VII	7	4,33		
GGT U/L	Grup V	7	4,83	-,275	,784
	Grup VII	7	5,33		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup V	7	5,50	-,781	,435
	Grup VII	7	4,00		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup V	7	5,08	-,132	,895
	Grup VII	7	4,83		
TAS	Grup V	7	6,50	-2,334	,020
	Grup VII	7	2,00		
TOS	Grup V	7	4,83	-,258	,796
	Grup VII	7	5,33		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,796) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,121) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,796) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Kolesterol değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,431) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,243) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 5 ve 7 (p=,498) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

AST değişkeni için grup 5 ve 7 ($p=,121$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 5 ve 7 ($p=,606$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 5 ve 7 ($p=,784$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 5 ve 7 ($p=,435$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 5 ve 7 ($p=,895$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 5 ve 7 ($p=,020$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 7 de bulunan ratların ortalamasına gore daha fazla olduğu gorlmektedir. TOS için grup 5 ve 7 ($p=,796$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 17).

Tablo 18. Grup 5 ve 8 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFkB ng/ml	Grup V	7	5,50	,000	1,000
	Grup VIII	7	5,50		
Nrf2 ng/ml	Grup V	7	7,50	-2,558	,011
	Grup VIII	7	2,50		
AMPK	Grup V	7	3,50	-2,558	,011
	Grup VIII	7	8,50		
Kolesterol mg/dL	Grup V	7	7,50	-2,566	,010
	Grup VIII	7	2,50		
HDL mg/dL	Grup V	7	6,67	-1,492	,136
	Grup VIII	7	3,75		
LDL mg/dL	Grup V	7	7,50	-2,631	,009
	Grup VIII	7	2,50		
AST U/L	Grup V	7	6,50	-1,279	,201
	Grup VIII	7	4,00		
ALT U/L	Grup V	7	5,33	,-213	,831
	Grup VIII	7	5,75		
GGT U/L	Grup V	7	5,50	,000	1,000
	Grup VIII	7	5,50		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup V	7	5,25	-,322	,748
	Grup VIII	7	5,88		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup V	7	6,83	-1,721	,085
	Grup VIII	7	3,50		
TAS	Grup V	7	7,50	-2,566	,010
	Grup VIII	7	2,50		
TOS	Grup V	7	6,83	-1,706	,088
	Grup VIII	7	3,50		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 5 ve 8 (p=1,000) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 5 ve 8 (p=,011) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değeri ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. AMPK değişkeni için grup 5 ve 8 (p=,011) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değeri ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Kolesterol değişkeni için grup 5 ve 8 (p=,010) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra

değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. HDL değişkeni için grup 5 ve 8 ($p=,136$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 5 ve 8 ($p=,009$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. AST değişkeni için grup 5 ve 8 ($p=,201$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 5 ve 8 ($p=,831$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 5 ve 8 ($p=1,000$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 5 ve 8 ($p=,748$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 5 ve 8 ($p=,085$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 5 ve 8 ($p=,010$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 5 de bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. TOS için grup 5 ve 8 ($p=,088$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 18).

Tablo 19. Grup 5 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup V	7	5,83	-,426	,670
	Grup IX	7	5,00		
Nrf2 ng/ml	Grup V	7	7,00	-1,919	,055
	Grup IX	7	3,25		
AMPK	Grup V	7	6,83	-1,706	,088
	Grup IX	7	3,50		
Kolesterol mg/dL	Grup V	7	5,17	-,428	,669
	Grup IX	7	6,00		
HDL mg/dL	Grup V	7	4,50	-1,279	,201
	Grup IX	7	7,00		
LDL mg/dL	Grup V	7	5,33	-,228	,819
	Grup IX	7	5,75		
AST U/L	Grup V	7	6,17	-,853	,394
	Grup IX	7	4,50		
ALT U/L	Grup V	7	3,67	-2,345	,019
	Grup IX	7	8,25		
GGT U/L	Grup V	7	5,33	-,223	,824
	Grup IX	7	5,75		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup V	7	4,92	-,751	,453
	Grup IX	7	6,38		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup V	7	5,75	-,329	,742
	Grup IX	7	5,13		
TAS	Grup V	7	6,67	-1,497	,134
	Grup IX	7	3,75		
TOS	Grup V	7	5,67	-,213	,831
	Grup IX	7	5,25		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 5 ve 9 (p=,670) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 5 ve 9 (p=,055) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 5 ve 9 (p=,088) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı

tespit edilmiştir. Kolesterol değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,669$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,201$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,819$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,394$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,019$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 9 da bulunan ratların ortalamasının grup 5 te bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. GGT değişkeni için grup 5 ve 9 ($p=,824$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 5 ve 9 ($p=,453$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 5 ve 9 ($p=,742$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 5 ve 9 ($p=,134$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS için grup 5 ve 9 ($p=,831$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 19).

Tablo 20. Grup 6 ve 8 de yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup VI	7	4,75	-,289	,773
	Grup VIII	7	4,25		
Nrf2 ng/ml	Grup VI	7	6,50	-2,309	,021
	Grup VIII	7	2,50		
AMPK	Grup VI	7	2,75	-2,021	,043
	Grup VIII	7	6,25		
Kolesterol mg/dL	Grup VI	7	5,63	-1,307	,191
	Grup VIII	7	3,38		
HDL mg/dL	Grup VI	7	4,00	-,577	,564
	Grup VIII	7	5,00		
LDL mg/dL	Grup VI	7	5,88	-1,692	,091
	Grup VIII	7	3,13		
AST U/L	Grup VI	7	4,50	,000	1,000
	Grup VIII	7	4,50		
ALT U/L	Grup VI	7	4,25	-,289	,773
	Grup VIII	7	4,75		
GGT U/L	Grup VI	7	5,50	-1,214	,225
	Grup VIII	7	3,50		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup VI	7	4,50	,000	1,000
	Grup VIII	7	4,50		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup VI	7	5,00	-,581	,561
	Grup VIII	7	4,00		
TAS	Grup VI	7	5,38	-1,016	,309
	Grup VIII	7	3,63		
TOS	Grup VI	7	4,75	-,289	,773
	Grup VIII	7	4,25		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 6 ve 8 (p=,773) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 6 ve 8 (p=,021) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 6 da bulunan ratların ortalamasının grup 8 de bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. AMPK değişkeni için grup 6 ve 8 (p=,043) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değer ortalaması incelendiğinde grup 8 de bulunan ratların ortalamasının grup 6 da bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Kolesterol değişkeni için

grup 6 ve 8 ($p=,191$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 6 ve 8 ($p=,564$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 6 ve 8 ($p=,091$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 6 ve 8 ($p=1,000$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 6 ve 8 ($p=,773$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 6 ve 8 ($p=,225$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 6 ve 8 ($p=1,000$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 6 ve 8 ($p=,561$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 6 ve 8 ($p=,309$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS için grup 6 ve 8 ($p=,773$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 20).

Tablo 21. Grup 6 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup VI	7	5,25	-,866	,386
	Grup IX	7	3,75		
Nrf2 ng/ml	Grup VI	7	6,50	-2,309	,021
	Grup IX	7	2,50		
AMPK	Grup VI	7	6,50	-2,309	,021
	Grup IX	7	2,50		
Kolesterol mg/dL	Grup VI	7	3,63	-1,016	,309
	Grup IX	7	5,38		
HDL mg/dL	Grup VI	7	3,00	-1,732	,083
	Grup IX	7	6,00		
LDL mg/dL	Grup VI	7	3,75	-,871	,384
	Grup IX	7	5,25		
AST U/L	Grup VI	7	4,00	-,577	,564
	Grup IX	7	5,00		
ALT U/L	Grup VI	7	3,50	-1,155	,248
	Grup IX	7	5,50		
GGT U/L	Grup VI	7	5,38	-1,042	,297
	Grup IX	7	3,63		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup VI	7	4,35	-,289	,773
	Grup IX	7	4,75		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup VI	7	4,13	-,441	,659
	Grup IX	7	4,88		
TAS	Grup VI	7	4,00	-,577	,564
	Grup IX	7	5,00		
TOS	Grup VI	7	3,50	-1,155	,248
	Grup IX	7	5,50		

Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,386$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,021$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değeri ortalaması incelendiğinde grup 6 da bulunan ratların ortalamasının grup 9 da bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. AMPK değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,021$) arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Değişkenin sıra değeri ortalaması incelendiğinde grup 6 da bulunan ratların ortalamasının grup 9 da bulunan ratların ortalamasına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Kolesterol değişkeni için

grup 6 ve 9 ($p=,309$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,083$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,384$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AST değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,564$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,248$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 6 ve 9 ($p=,297$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 6 ve 9 ($p=,773$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 6 ve 9 ($p=,659$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 6 ve 9 ($p=,564$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS için grup 6 ve 9 ($p=,248$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 21).

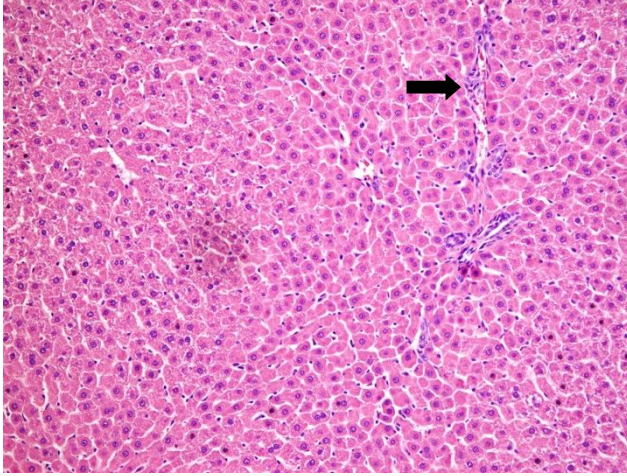
Tablo 22. Grup 7 ve 9 da yer alan ratların parametrelerine ilişkin Mann Whitney U testi sonuçları

	Grup	N	Sıra Değer Ort.	Z	P
NFκB ng/ml	Grup VII	7	4,33	-,354	,724
	Grup IX	7	3,75		
Nrf2 ng/ml	Grup VII	7	5,67	-1,768	,077
	Grup IX	7	2,75		
AMPK	Grup VII	7	5,33	-1,414	,157
	Grup IX	7	3,00		
Kolesterol mg/dL	Grup VII	7	3,00	-1,061	,289
	Grup IX	7	4,75		
HDL mg/dL	Grup VII	7	2,33	-1,768	,077
	Grup IX	7	5,25		
LDL mg/dL	Grup VII	7	3,00	-1,101	,271
	Grup IX	7	4,75		
AST U/L	Grup VII	7	3,00	-1,061	,289
	Grup IX	7	4,75		
ALT U/L	Grup VII	7	2,33	-1,768	,077
	Grup IX	7	5,25		
GGT U/L	Grup VII	7	4,00	,000	1,000
	Grup IX	7	4,00		
Inflammation (cells/mm ²)	Grup VII	7	3,33	-,714	,476
	Grup IX	7	4,50		
Necrotic focus (foci/mm ²)	Grup VII	7	3,83	-,178	,858
	Grup IX	7	4,13		
TAS	Grup VII	7	3,67	-,354	,724
	Grup IX	7	4,25		
TOS	Grup VII	7	4,00	-,000	1,000
	Grup IX	7	4,00		

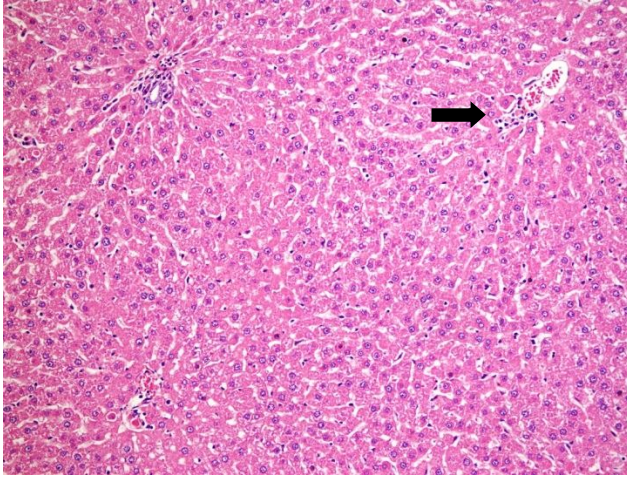
Nükleer Faktör Kappa B değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,724) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nrf2 değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,077) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. AMPK değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,157) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Kolesterol değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,289) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. HDL değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,077) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. LDL değişkeni için grup 7 ve 9 (p=,271) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

AST değişkeni için grup 7 ve 9 ($p=,289$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. ALT değişkeni için grup 7 ve 9 ($p=,077$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. GGT değişkeni için grup 7 ve 9 ($p=1,000$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İnflamasyon için grup 7 ve 9 ($p=,476$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Nekroz için grup 7 ve 9 ($p=,858$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TAS için grup 7 ve 9 ($p=,724$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. TOS için grup 7 ve 9 ($p=1,000$) değişkenleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 22).

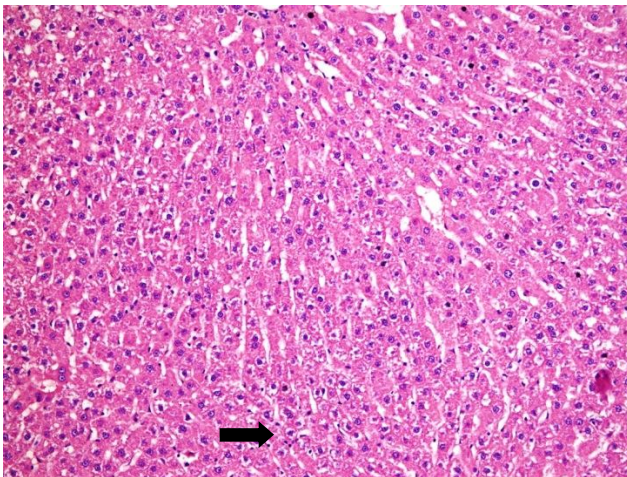
3.3. Histolojik Bulgular



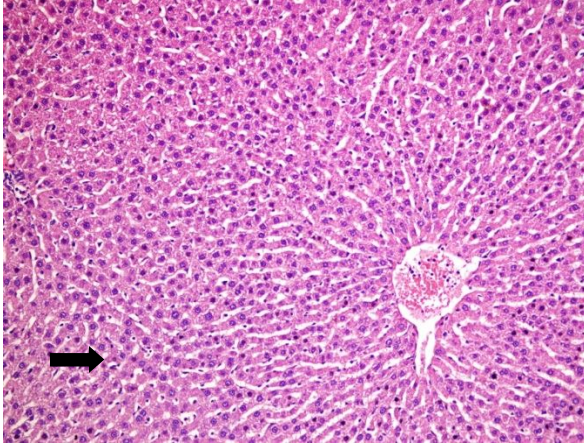
Şekil 6. Grup I Kontrol grubu normal histoloji (HEX200)



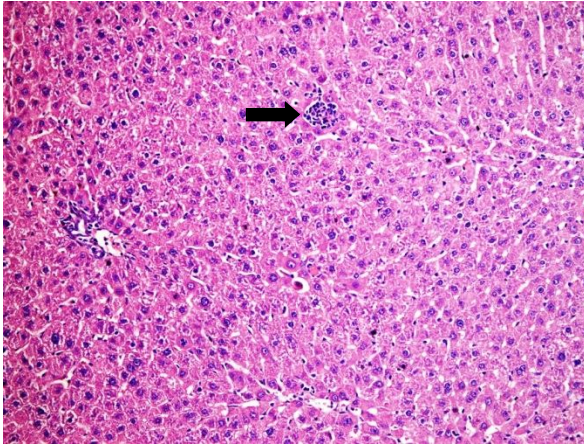
Şekil 7. Grup II Sham grubu, seyrek PNL infiltrasyonu (HEX200)



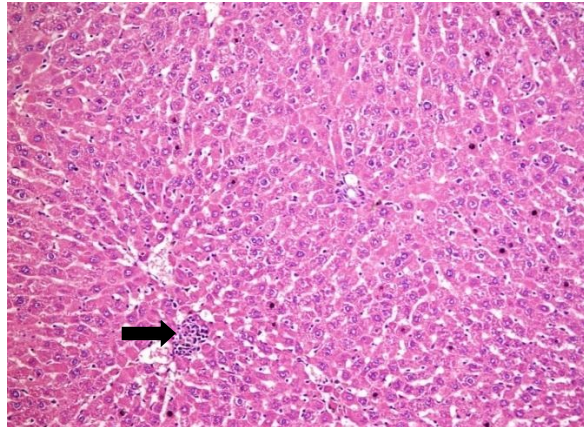
Şekil 8. Grup III 7 gün süreyle sadece DDÜÇE verilen grup, seyrek PNL infiltrasyonu (HEX200)



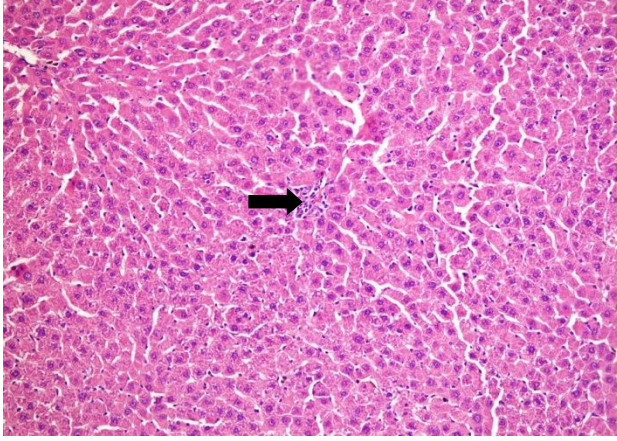
Şekil 9. Grup IV 7 gün süreyle sadece YDÜÇE verilen grup, seyrek PNL infiltrasyonu (HEX200)



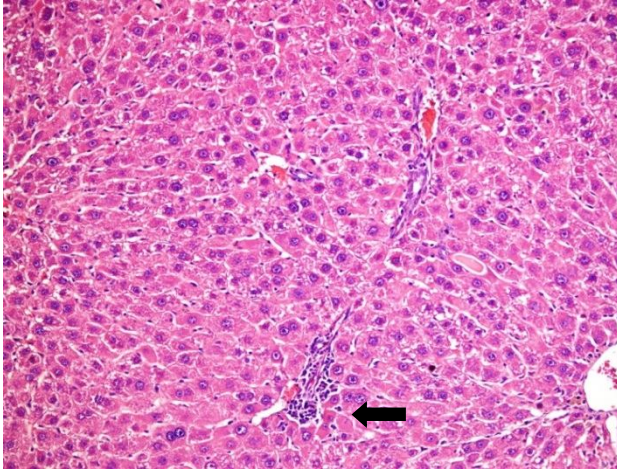
Şekil 10. Grup V 2 gün süreyle TAA ve sonrasında sadece SF uygulanan grup, nekroz odağı belirgin karaciğer hasarı olduğu görülmektedir (HEX200)



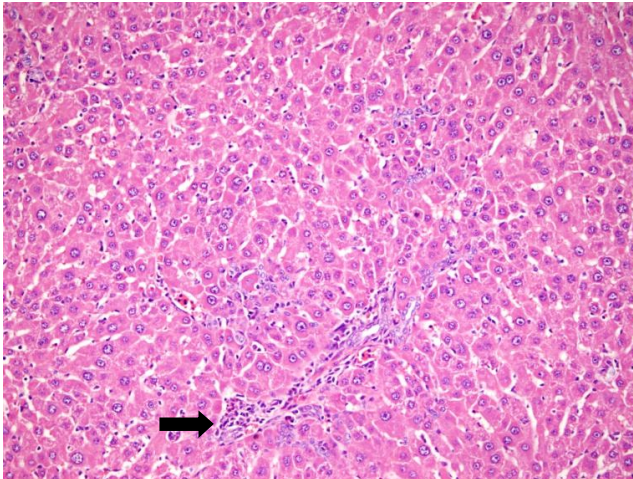
Şekil 11. Grup VI TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle DDÜÇE verilen, TAA sonrasında yine DDÜÇE verilen grup, nekroz odağı (HEX200)



Şekil 12. Grup VII TAA uygulaması öncesi 3 gün süreyle YDÜÇE verilen, TAA sonrasında yine YDÜÇE verilen grup, nekroz odağı (HEX200)



Şekil 13. Grup VIII TAA uygulaması sonrası DDÜÇE verilen grup, nekroz odağı ve PNL infiltrasyonu (HEX200)



Şekil 14. Grup IX TAA uygulaması sonrası YDÜÇE verilen grup, nekroz odağı ve PNL infiltrasyonu (HEX200)

Grup 1, 2, 3 ve 4' de karaciğer parankimi içerisinde dağınık halde az sayıda PNL infiltrasyonu izlendi. Bazı deneklerde az sayıda fokal litik nekroz odağında dikkati çekti (Şekil 6-9).

Grup 5'de ilk 4 gruba oranla parankimi infiltre eden PNL sayısında artış dikkat çekiciydi. Benzer şekilde fokal litik nekroz odaklarında artış mevcuttu (Şekil 10).

Grup 6 ve grup 7' de grup 5' e benzer şekilde parenkim içerisinde PNL infiltrasyonu ve fokal litik nekroz odakları izlendi. Bazı örneklerde inflamatuvar hücre sayısında ve fokal litik nekroz odağı sayısında azalma görülmekle birlikte diğer örneklerde bu değerlerde azalma görülmedi. Sonuçta bu parametreler açısından grup 5 ile grup 6 ve grup 7 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi (Şekil 11-12)

Grup 8 de, grup 5 e benzer şekilde parankim içerisinde PNL infiltrasyonu ve fokal litik nekroz odakları mevcuttu. Fokal litik nekroz odakları grup 8'de grup 5'e göre azalma göstermekle birlikte sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. (Şekil 13)

Grup 9 da parankimdeki PNL sayısı ve fokal litik nekroz odakları Grup 5'e benzerdi ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamsızdı. (Şekil 14).

4. TARTIŞMA

Çalışmamızda 2 gün ard arda 100 mg/kg TAA verilerek karaciğer toksisitesi başarıyla oluşturuldu. TAA grubunda yüksek AST değerleri ve karaciğerin histopatolojik hasar parametreleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. TAA verilmesiyle TOS'un anlamlı artışı ve TAS'ın anlamlı azalmış olmasının saptanmış olması TAA hepatotoksitesinin oksidatif stres aracılıklı olduğu (77, 189-191) görüşünü desteklemektedir. AST değerlerinin ALT değerlerine göre çok daha yüksek olması verilen toksik ajana bağlı olabilir. Çünkü TAA'nın hepatotoksiste özelliğinin yanında böbrekler üzerine de önemli toksik etkilerinin olduğu bilinmektedir (192).

Farklı hepatotoksiste modellerinde (123) NFκB ve Nrf2'nin karaciğer hasarının gelişiminde ve sürdürülmesinde önemli sitokinler olduğu bildirilmiştir. Grup 5'de TAA verilmesiyle NFκB ve Nrf2 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla düşmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. AMPK'nın hepatositleri oksidatif strese karşı koruduğu ve mitokondriyal fonksiyonlarının korunmasında önemli bir sitokin olduğu bildirilmiştir (193). Çalışmamızda TAA verilmesiyle NFκB ve NFR2 düzeylerinin aksine AMPK düzeyinde anlamlı azalma olduğu saptandı. Sonuçlar Peralta ve ark. tarafından yapılan çalışmayla uyumluluk göstermekteydi (194). Bu bulgu düşük doz TAA hepatotoksitesinin oluşumunda AMPK'nın azalmasının önemli rol üstlendiğini düşündürmektedir.

Tiyoasetamid toksisitesi öncesi YDÜÇE tedavisinin DDÜÇE tedavisine oranla NFκB inflamatuvar sitokin düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bu sitokinlerin seviyelerinde azalma sağladığı saptandı. Sitokin düzeylerinde gözlemlendiği gibi hem DDÜÇE tedavisi hemde YDÜÇE tedavisiyle karaciğer histopatolojik parametrelerde de istatistiksel anlamlı olmasa da düzelme olduğu izlendi. DDÜÇE ve YDDÜÇE ile tedavinin uzatılmasıyla histopatolojik parametrelerde daha anlamlı azalmanın sağlanabileceği düşünülebilir. NFκB ve Nrf2'nun aksine hem DDÜÇE tedavisi hemde YDÜÇE tedavisi AMPK düzeylerinde anlamlı olmasa da artışa neden olduğu saptandı. Bu artışa karaciğer nekroz ve inflamasyon derecelerindeki düzelmenin eşlik etmesi ÜÇE'nin olumlu etkilerini bu toksiste modelinde AMPK üzerinden sağladığını düşündürmektedir.

Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma

sistemine sahiptir ve bu birçok komponentten oluşur. Bu komponentlerin oluşturduğu toplam antioksidan etki TAS olarak bilinmektedir (92). Wang ve ark. (195) tarafından yapılan çalışmada karbontetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında TAS seviyelerinin düştüğü saptanmıştır. Düşük doz TAA verilmesiyle grup 5’de TAS düzeyinde anlamlı değişiklik olmadı. Grup 6’da TAA öncesi DDÜÇE tedavisinin TAS düzeylerinin artışı sağlamada yetersiz kaldığı saptandı. DDÜÇE uygulamasının tedavi grubunun aksine grup 7’de YDÜÇE tedavisinin TAS düzeyinde anlamlı olmasa da artış sağlaması, TAA öncesi daha uzun süre YDÜÇE uygulanmasının TAS düzeylerinde anlamlı artış sağlayabileceği düşünüldü. Grup 7’de anlamlı olmasa da artmış TAS düzeyleri, karaciğer nekroz ve inflamasyon parametrelerinin düzelmesinde katkıda bulunmuş olabilir. TAA toksisitesi öncesi hem DDÜÇE hem de YDÜÇE tedavisi TOS düzeylerinin azalmasında yetersiz kaldıkları saptandı.

Tiyoasetamid verilerek oluşturulan birçok karaciğer hasar modelinde N-asetil sistein, Silymarin, Resveratrol vit. E, Gingko biloba gibi antioksidanların yararlı etkileri bildirilmiştir (105, 108, 196-198). Yapılan çalışmalarda ÜÇE’nin vitamin E’ den 20 kat, vitamin C’ den 50 kat daha iyi bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (9). Üzüm çekirdeğinde bulunan resveratrolün, C vitaminine göre 20-50 kat daha fazla etkili bir antioksidan olduğu da saptanmıştır (173). Grup 8’de TAA ile eş zamanlı olarak verilen DDÜÇE uygulaması NFκB düzeylerinde değişikliğe neden olmadı. Aksine Nrf2 ve AMPK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olumlu değişikliklere neden olduğu izlendi. Uzun süre TAA verilerek oluşturulan siroz modelinde ÜÇE tedavisinin birçok sitokin profilini olumlu yönde etkileyerek karaciğer fibrozisini önleyebileceği bildirilmiştir (199). Söz konusu çalışmanın aksine bizim çalışmamız akut karaciğer hasarı modeli olarak dizayn edilmiştir. Bu modelde toksisite öncesi ve sonrası ÜÇE’nin yararlı etkilerinin test edilmesi planlanmıştır. Literatürde akut hasar modeli üzerine çalışmanın olmayışı DDÜÇE tedavisinin toksisite öncesi uygulanmasının Nrf2 düzeyi üzerine etki etmezken toksisite ile eş zamanlı DDÜÇE tedavisinin Nrf2 düzeylerinde anlamlı değişikliğe nasıl yol açtığını yorumlamayı güçleştirmektedir. Nrf2 düzeyine benzer şekilde toksisite ile eş zamanlı DDÜÇE tedavisi AMPK düzeylerinde de anlamlı olumlu etki gösterdi. Bu olumlu değişiklere karaciğer histopatolojik parametrelerinde anlamlı olmasa da düzelmenin eşlik ettiği izlendi. Bu düzelmenin daha anlamlı olması için tedavi süresinin uzatılmasının daha faydalı olabileceği düşünüldü (163). Çünkü

uzun süreli ÜÇE tedavisinin karaciğer hasarını başarıyla önleyebileceği bildirilmiştir (200). Farklı akut hepatotoksisite modellerinde lycium barbarum ve N-asetil sistein gibi antioksidan maddelerin TOS ve TAS üzerinde olumlu anlamlı değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (200). Çalışmamızda bilinen birçok antioksidan maddeye kıyasla çok daha güçlü antioksidan olan ÜÇE kullanıldı. Yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine çok güçlü antioksidan olan ÜÇE tedavisi TAA ile oluşturulan karaciğer hasar modelinde TAS ve TOS düzeyleri üzerinde beklenen olumlu etkiyi göstermedi. Bu durumun toksisite modelinin farklı olması ve ÜÇE tedavi süresiyle ilişkili olabileceği düşünüldü.

Tiyoasetamid ile eş zamanlı YDÜÇE tedavisi ile proinflamatuvar sitokinler olan NFκB ve Nrf2 düzeylerinde beklenen olumlu değişiklikler izlenmedi. Toksisite ile eş zamanlı YDÜÇE tedavisine benzer şekilde toksisite öncesi YDÜÇE tedavisi bu iki proinflamatuvar sitokin düzeyi üzerinde beklenen düzelmeyi sağlayamamıştı. Yukarıda bahsedilen proinflamatuvar sitokinlerin aksine toksisite ile eş zamanlı başlanan YDÜÇE tedavisi AMPK düzeylerini etkilememesine rağmen toksisite öncesi başlanan YDÜÇE tedavisi AMPK üzerinde beklenen olumlu etkiyi göstermişti. AMPK üzerindeki uzun süreli YDÜÇE tedavisinin benzer şekilde karaciğer nekroz ve inflamasyon parametreleri üzerinde de olumlu etkisini göstermişti. Tüm bu bulgular YDÜÇE tedavisinin kısa süreli tedavi ile proinflamatuvar sitokinlerin (NFκB, Nrf2) restorasyonunda yetersiz kaldığını ancak antiinflamatuvar sitokinin (AMPK) restorasyonunda yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Grup 7 ile grup 9 karşılaştırıldığında daha uzun süre YDÜÇE tedavisinin nekroz ve inflamasyonu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalttığı gözlemlendi. Bu bulgular ÜÇE tedavisinin daha yüksek dozda ve daha uzun süre uygulanmasının hasarı önlemede daha başarılı olacağını düşündürmektedir. TAS ve TOS üzerinde de TAA ile eş zamanlı başlanan YDÜÇE tedavisi beklenen olumlu etkileri gösterememiştir. Bu iki parametre açısından ister daha uzun süreli olsun ister daha kısa süreli olsun YDÜÇE tedavisi beklenen olumlu etkiyi gösterememiştir.

Karaciğer lipid metabolizması üzerinde santral rol oynar. Karaciğer trigliserid, kolesterol, lipoprotein sentezinin ana kaynağıdır. Tüm bu fonksiyonlar normal hepatosit işlevleriyle sürdürülür (31). Adeneye ve ark. (201) tarafından yapılan çalışmada karbontetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında LDL seviyesinin azalma

saptanırken, Kolesterol seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda grup 1 ile grup 5 karşılaştırıldığında TAA vermekle HDL düzeylerinde anlamlı olmak üzere kolesterol ve LDL düzeyleri kontrol grubuna kıyasla arttı. Bu durumun hepatosit lizisine bağlı olarak hepatosit içerisindeki bu moleküllerin periferik kana salınması olarak yorumlandı. Histopatolojik bulguların da gösterdiği gibi ister düşük doz ister yüksek doz olsun ÜÇE tedavisinin karaciğer histolojisinde beklenen olumlu düzelmeyi sağlayamamasına lipid profilindeki anormalliğin eşlik ediyor olması, ÜÇE tedavi sürecinin hepatosit fonksiyonları üzerinde beklenen olumlu etkilerini hala gösteremediğini düşündürmektedir. Bir başka açıklamayla toksisite öncesi YDÜÇE tedavi grubunda diğer tedavi gruplarına oranla histopatolojik parametrelerde düzelme saptanmasına rağmen lipid profilindeki beklenen düzelmenin görülmeyişi histopatolojinin aksine moleküler düzeyde hepatosit fonksiyonlarının hala normale dönmediğini düşündürmektedir. Verilen doz ve süreyle ÜÇE tedavisi AMPK düzeyleri üzerinde olumlu etkiyi yapmadığı görüldü. Bu durum lipid profilinde beklenen düzelmenin olmayışına katkıda bulunmuş olabilir. Çünkü AMPK'nın lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (139).

Sonuç olarak 2 gün ard arda 100mg/kg TAA verilmesi artmış oksidatif stresle karaciğer hasarı oluşturmaktadır. Uzun süreli YDÜÇE tedavisi önemli bir antioksidan olan AMPK düzeyinde artışa neden olmuş ve karaciğer nekroz ve inflamasyon parametrelerinde düzelme sağlamıştır. Yüksek doz ve daha uzun süreli ÜÇE tedavisinin kullanıldığı yeni çalışmaların yapılması bu konuda önemli katkılar sağlayabilir.

5. KAYNAKLAR

1. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2003; 349: 474-485.
2. O'Grady JG, Schalm SW, Williams R. Acute liver failure: redefining the syndromes. *Lancet* 1993; 342: 273-275.
3. Bismuth H, Samuel D, Gugenheim J, Castaing D, Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Emergency liver transplantation for fulminant hepatitis. *Ann Intern Med* 1987; 107: 337-441.
4. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1: 441-445.
5. Shaw S, Jayatilleke E, Ross WA, Gordon ER, Leiber CS. Ethanol-induced lipid peroxidation: potentiation by long-term alcohol feeding and attenuation by methionine. *J Lab Clin Med* 1981; 98: 417-424.
6. Zuo Y, Wang C, Zhan J. Separation, characterization, and quantitation of benzoic and phenolic antioxidants in American cranberry fruit by GC-MS. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 3789-3794.
7. Bastianetto S, Ménard C, Quirion R. Neuroprotective action of resveratrol. *Biochim Biophys Acta* 2014; 6: 1195-1201
8. Das S, Das DK. Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2007; 6: 168-173.
9. Carpenter R, O'Grady MN, O'Callaghan YC, O'Brien NM, Kerry JP. Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. *Meat Sci* 2007; 76: 604-610.
10. Zaragoza A, Andrés D, Sarrión D, Cascales M. Potentiation of thioacetamide hepatotoxicity by phenobarbital pretreatment in rats. Inducibility of FAD monooxygenase system and age effect. *Chem Biol Interact* 2000; 124: 87-101.
11. Kuran O. Sistematik Anatomi. 1.Baskı. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983: 429-443.

12. Lafortune M, Madore F, Patriguin H. Segmental anatomy of the liver. Radiology 1991; 181: 443-448.
13. Scherlock S, Dooley S. Anatomy and function. Scherlock S, Dooley S (eds). Diseases of the Liver and Biliary System. 11th edition, Italy: Blackwell Publishing, 2002: 1-17.
14. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology: 7th Ed, İstanbul: Appleton & Lange, 1993: 380-394.
15. Pocock G, Richards CD. Human Physiology, The Basis of Medicine. Oxford: Oxford University Press, 1999: 416-417.
16. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W. B. Saunders Company, 3rd ed. Philadelphia, London, Toronto: 1999: 1125-1177.
17. Karaöz E. Sindirim sistemi histolojisi. Karaöz E. (ed) Özel Histoloji, Isparta: SDÜ Basımevi, 2002.
18. Ökten A. Karaciğerin fonksiyonel anatomisi. Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. Gastroenterohepatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2001: 311-314.
19. İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G. Temel İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitapevi, 1996: 1077-1167.
20. Garner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. Philadelphia: WB. Saunders Company, 2001:420-412.
21. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Text/Atlas of Histology. W.B. Saunders Company, 1988: 475-496.
22. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. Kocatepe Tıp Dergisi, 2004; 5: 1-8.
23. Jones AL, Spring-Mills E. The liver and gallbladder. Weiss L (ed). Cell and tissue Biology A Textbook of Histology. 6. Ed. München, Urban&Schwarzenberg Inc, 1988: 696.
24. Wake K, Kawai Y, Smedsrod B. Re-evaluation of the reticulo-endothelial system. Ital J Anat Embryol 2001; 106: 261-269.

25. Kan Z, Ivancev K, Lunderquist A, McCuskey PA, McCuskey RS, Wallace S. In vivo microscopy of hepatic metastases: dynamic observation of tumor cell invasion and interaction with Kupffer cells. *Hepatology* 1995; 21: 487-494.
26. Junquera C, Carneiro J, Kelly RO. Sindirim Kanalına Bağlı Bezler. *Temel Histoloji* 1998; 8: 302-322.
27. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. Çavuşoğlu H (Çev. Ed.) s.797-799, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2001.
28. Saunders WB. *Cecil Essential of Medicine*. Tuzcu M (Çev. Ed.) s.320-22, İstanbul: Talat Matbaası, 1995.
29. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson CP. *Clinical Anesthesiology*. 3 rd Edition, Lange 2002: 708-722.
30. Ghany M, Hoofnagle JH. Approach to the patient with liver disease. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Fauci AS (ed). 17th Edition. McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2008: 1918-1923.
31. McCance K, Huether SE. *Alterations in Immunity and Inflammation, Pathophysiology The Biologic Basis For Disease in Adult and Children*, 5th Edition, USA: Elsevier Mosby, 2006: 264-265.
32. Trey C, Davidson C. The management of fulminant hepatic failure. Popper H, Schaffner F (eds). *Progress in Liver Diseases*, New York: Grunand Stratten, 1970: 282-298.
33. Bernuau J, Goudeau A, Poynard T. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology* 1986; 6: 648-651.
34. O'Grady JG, Wendon J. Acute liver failure. WM Weinstein, CJ Hawkey, J Bosch (eds). *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. First Ed, Philadelphia: Elsevier INC. 2005: 745-753.
35. O'Grady JG, Schalm SW, Williams R. Acute liver failure: redefining the syndromes. *Lancet* 1993; 342: 273-275.
36. Sass DA, Shakil OA. Fulminant hepatic failure. *Gastroenterol Clin North Am* 2003; 32: 1195-1211.

37. Riordan SM, Williams R. Mechanisms of hepatocyte injury, multiorgan failure, and prognostic criteria in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 2003; 23: 203-215.
38. Bucuvalas J, Yazigi N, Squires RH. Acute liver failure in children. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 149-168.
39. Sterling RK, Shiftman ML. Fulminant hepatic failure. Brant LJ (ed). *Clinical practice of Gastroenterology*. Philadelphia: Current Medicine Tnc, 1999: 1010-1018.
40. Kelly DA. Managing liver failure. *Postgrad Med J* 2002; 78: 660-667.
41. Khalili TM, Navarro A. Bioartificial liver treatment prolongs survival and lowers intracranial pressure in pigs with fulminant hepatic failure. *Ingentaconnect Article* 2001; 25: 566-570.
42. Iwaisuki S, Stieber AC, Marsh JW, Tzakis AG, Todo S, Konero B, et al. Liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Transplant Proc* 1989; 21: 2431-2434.
43. Ede RJ, Williams RW. Hepatic encephalopathy and cerebral edema. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 107-118.
44. Gazzard BG, Portmann B, Murray-Lyon IM, Williams R. Causes of death in fulminant hepatic failure and relationship to quantitative histological assessment of parenchymal damage. *Q J Med* 1975; 44: 615-626.
45. Murphy N. An update in acute liver failure: when to transplant and the role of liver support devices. *Clin Med* 2006; 6: 40-46.
46. O'Grady JG. Acute liver failure. *Postgrad Med J* 2005; 81: 148-154.
47. Nathan MB. İlaça Bağlı Karaciğer Hastalığı. (Çev. Ed.) s. 664. Arslan N, Büyükgebiz B. *Current Gastroenteroloji* 2007.
48. Zimmerman HJ. Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. New York: Appleton-Century Crofts, 1978.
49. Kaplowitz N, Aw TY, Simon FR, Stolz A. Drug-induced Hepatotoxicity. *Ann Intern Med* 1986;104:826.

50. Menteş, NK. Klinik Gastroenteroloji. İnsanda Çevresel Faktörlerin Husule Getirdiği Karaciğer Bozuklukları veya Lezyonları, Kimyasal Hepatit. 4. Baskı, Ege Üniv. Tıp Fak. Yayını, 1983: 598-611.
51. Reed DJ. Status of calcium and thiols in hepatocellular injury by oxidative stres. Semin Liver Dis 1990;10: 285-292.
52. Zimmerman HJ. Drug-induced liver disease. Clin Liver Dis 2000; 4: 73-96.
53. Zimmerman HJ, Lewis JH. Drug-inuced cholestasis. Med Toxicol 1987; 2: 112.
54. Çakaloglu Y. İlaça Bağlı Hepatobiliyer Hastalıklar. Gastroenterohepatoloji. Ökten A (editör). Nobel Tıp Kitabevleri, 2001, 487-513.
55. Hanje AJ, Patel T. Preoperative evaluation of patients with liver disease. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2007; 4: 266-276.
56. Mansour A, Watson W, Shayani V, Pickleman J. Abdominal operations inpatients with cirrhosis: Still a major surgical challenge. Surgery 1997; 122: 730-736.
57. Sandberg WS, Raines DE, Anesthesia for liver surgery and transplantation. In: Longnecker DE, Brown DL, Newman MF, Zapol WM, (Eds). Anesthesiology. 1sted. New York: The McGraw-Hill Companies, 2008: 1338-1378.
58. Kamath PS, Kim R. The international normalized ratio of prothrombin time in the Model for End-Stage Liver disease score: Areliable Measure. Clin Liver Dis 2009;13: 63-66.
59. Adam R, Hoti E. Liver transplantation: the current situation. Semin Liver Dis 2009; 29: 3-18.
60. Johnston B. <http://www.microscopyuk.org.uk/mag/artmay04/bjthio.html> Erişim tarihi 25/02/20015.
61. Landon EJ, Naukam RJ, Rama Sastry BV. Biochem Pharmacol 1986; 35: 697-705.
62. Kizer DE, Clouse JA, Ringer DP, Hanson-Painton O. Biochem. Pharmacol 1985; 34: 1795-1800.

63. Li XN, Huang CT, Wang XH, Leng XS, et al. Changes of blood humoral substances in experimental cirrhosis and their effects on portal hemodynamics. *Chin Med J (Engl)* 1990; 103:970–977.
64. Li X, Benjamin IS, Alexander B. Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality. *J Hepatol* 2002; 36: 488–493.
65. Bruck R, Aeed H, Schey R, Matas ZJ. *Hepatol* 2002; 36: 370–377.
66. Müller A, Machnik F, Zimmermann T, Schubert H. Thioacetamide-induced cirrhosis-like liver lesions in rats—usefulness and reliability of this animal model. *Exp Pathol* 1988; 34: 229–236.
67. Hunter AL, Holscher MA, Neal RA. Thioacetamide-induced hepatic necrosis. I. Involvement of the mixed-function oxidase enzyme system. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 200: 439–448.
68. Waters NJ, Waterfield CJ, Farrant RD, Holmes E, Nicholson JK. Metabonomic deconvolution of embedded toxicity: application to thioacetamide hepato and nephrotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2005; 18: 639–654.
69. Chieli E, Malvaldi G. Role of the microsomal FAD-containing monooxygenase in the liver toxicity of thioacetamide-S-oxide. *Toxicology* 1984; 31: 41–51.
70. Porter WR, Neal RA. Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1978; 6: 379–388.
71. Pawa S, Ali S. Liver necrosis and fulminant hepatic failure in rats: protection by oxyanionic form of tungsten. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1688: 210–222.
72. Sun F, Hayami S, Ogiri Y. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1500: 181–185.
73. Lu SC, Huang ZZ, Yang H, Tsukamoto H. Effect of thioacetamide on the hepatic expression of gamma-glutamylcysteine synthetase subunits in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 15: 159:161–168.

74. Bruck R, Aeed H, Shirin H, Matas Z, Zaidel L, Avni Y, Halpern Z. The hydroxyl radical scavengers dimethylsulfoxide and dimethylthiourea protect rats against thioacetamide-induced fulminant hepatic failure. *J Hepatol* 1999; 31: 27-38.
75. Bruck R, Aeed H, Schey R, Matas Z, Reifen R, Zaiger G, Hochman A, Avni Y. Pyrrolidine dithiocarbamate protects against thioacetamide-induced fulminant hepatic failure in rats. *J Hepatol* 2002; 36: 370-377.
76. Wang T, Shankar K, Ronis MJ, Mehendale HM. Potentiation of Thioacetamide Liver Injury in Diabetic Rats Is Due to Induced CYP2E1. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294: 473-479.
77. Bruck R, Aeed H, Avni Y, Shirin H, Matas Z, Shahmurov M, et al. Melatonin inhibits nuclear factor kappa B activation and oxidative stress and protects against thioacetamide-induced liver damage in rats. *J Hepatol* 2004; 40: 86-93.
78. Ramaiah SK, Apte U, Mehendale HM. Cytochrome P4502E1 Induction increases thioacetamide liver injury in diet-restricted rats. *Drug Metab Dispos* 2001; 29: 1088-1095.
79. Gupta DN. Acute changes in the liver administration of thioacetamide. *J Path Bact* 1956; 72: 183-192.
80. Hori N, Okanoue T, Sawa Y, Mori T, Kashima K. Hemodynamic characterization in experimental liver cirrhosis induced by thioacetamide administration. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2195-2202.
81. Barker EA, Smuckler EA. Altered microsome function during acute thioacetamide poisoning. *Mol Pharmacol* 1972; 8: 318-326.
82. Lee JW, Shin KD, Lee M, Kim E, Han SS, Han MY, et al. Role of metabolism by flavin-containing monooxygenase in thioacetamide-induced immunosuppression. *Toxicol Lett* 2003; 136: 163-172.
83. Díez-Fernández C, Boscá L, Fernández-Simón L, Alvarez A, Cascales M. Relationship between genomic DNA-ploidy and parameters of liver damage during necrosis and regeneration induced by thioacetamide. *Hepatology* 1993; 18: 912-918.

84. So EC, Wong KL, Huang TC, Tasi SC, Liu CF. Tetramethylpyrazine protects mice against thioacetamide-induced acute hepatotoxicity. *J Biomed Sci* 2002; 9: 410–414.
85. Sanz N, Diez-Fernández C, Andrés D, Cascales M. Hepatotoxicity and aging: endogenous antioxidant systems in hepatocytes from 2-, 6-, 12-, 18- and 30-month-old rats following a necrogenic dose of thioacetamide. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1587: 12–20.
86. Shapiro H, Ashkenazi M, Weizman N, Shadmurov M, Aeed H, Bruck R. Curcumin ameliorates acute thioacetamide-induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 358-366.
87. Adams, HR, H. Busch. Effects of thioacetamide on incorporation of orotic acid-2-C14 into RNA fractions in liver. *Cancer Res* 1963; 23: 576-582.
88. Al-Bader AA. Thioacetamide induced changes in trace elements and kidney damage. *J Trace Elements in Exp Medicine* 2003.
89. Nygaard O, Eldjarn L, Nakken KF. Studies on the metabolism of thioacetamide- S35 in the intact rat. *Cancer Res* 1954; 14: 625-628.
90. Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 656-657.
91. Harma M, Erel O. Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 118: 47-51.
92. Yao JK, Reddy R, McElhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res* 1998; 31: 1-8.
93. Ghiselli A, Serafini M, Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1106-1114.
94. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37: 112-119.
95. Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* 2007; 2: 377-387.

96. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40
97. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim II*, 1998: 342-346.
98. Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull* 1993;49: 700-718.
99. Young, IS ve Woodside, JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-186.
100. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107: 526-545.
101. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 1994; 52: 253-265.
102. Michiels C, Raes M, Toddsaint O, Remacle J. Importance of se-glutathioneperoxidase, catalase, Cu-Zn superoxide dismutase for cell survival against oxidative stres. *Free Rad Biol Med* 1994; 17: 235-248.
103. Winterbourn CC. Superoxide as an Intracellular Radical Sink, *Free Radic. Biol And Med* 1993; 14: 85-90.
104. Üstündağ B, Bahçecioğlu İH, Şahin K, Gülcü F, Düzgün S, Özercan İH, Gürsu MF. Soy izoflavonların karbontetraklorüre (CCL4) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *FÜ Sağlık Bil Dergisi* 2005; 19: 263-271.
105. Çetin A, Kaynar L, Koçyiğit İ, Hacıoğlu SK, Saraymen R, Öztürk A, et al. The effect of grape seed extract on radiation-induced oxidative stress in the rat liver. *The Turkish Journal of Gastroenterology* 2008; 19: 92-98
106. Swierczynski J, Kochan Z, Mayer D. Dietary α -tocopherol prevents dehydropiandrosteron-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes and mitochondria. *Toxicol Lett* 1997; 91: 129-136.
107. Karahan İ, Yılmaz S, Ateşşahin A. Ratlarda cisplatin ve gentamisinin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri. *FÜ Sağlık Bil Dergisi* 2006; 20: 39-43.

108. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Kantarceken B. N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats. *Med Sci Monit* 2006; 12: 274-278.
109. Meister A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. *Pharmacol Ther.* 1991; 51: 155-194.
110. Olsson B, Johansson M, gabrielson J, Bolme P. Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; 1: 77-82.
111. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 2: 130-139.
112. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *J Toxicol Clin Toxicol* 1998; 36: 277-285.
113. Angulo P, Lindor KD. Treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002; 5: 797-810.
114. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 6-20.
115. Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S. Comparative pharmacokinetics of silybin and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993; 18: 289-297.
116. Youdim K. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 282-288.
117. Lau F. Attenuation of iNOS and COX2 by blueberry polyphenols is mediated through the suppression of NF- κ B activation. *J Functional Foods* 2009; 1: 274-283.
118. Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* 1986; 46: 705-716.

119. Doyle SL, O'Neill LA. Toll-like receptors: from the discovery of NF kappa B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem pharmacol* 2006; 72: 1102-1113.
120. Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B: from clone to clinic. *Curr Mol Med* 2007; 7: 619-637.
121. Li X, Stark GR. NFkappa B-dependent signaling pathways. *Exp Hematol* 2002; 30: 285-296.
122. Ribeiro PS, Cortez-Pinto H, Sola S, Castro RE, Ramalho Rm, Baptista A, et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1708-1717.
123. Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor- κ B and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597.
124. Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. TNF- α -induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: 583-589.
125. Luedde T, Trautwein C. Intracellular survival pathways in the liver. *Liver Int* 2006; 1163-74.
126. Muriel P and Rivera-Espinoza Y. Beneficial drugs for liver diseases. *J Appl Toxicol* 2008; 28: 93-103.
127. Haddad JJ. Redox regulation of pro-inflammatory cytokines and IkappaB- α /NF-kappaB nuclear translocation and activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 847-856.
128. Pantano C, Reynaert NL, van der Vliet A, Janssen-Heininger YM. Redox-sensitive kinases of the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 1791-806.
129. Wang T, Zhang X, Li JJ. The role of NF-kappaB in the regulation of cell stress responses. *Int Immunopharmacol* 2002; 2: 1509-1520.

130. Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF- κ B activation by oxygen species: fifteen years later. *Biochemical Pharmacology* 2006;72: 1493-1505.
131. Suzuki YJ, Aggarwal BB, Packer L. Alpha-lipoic acid is a potent inhibitor of NF-kappa B activation in human T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189: 1709-1715.
132. Suzuki YJ, Packer L. Inhibition of NF-kappa B DNA binding activity by alpha-tocopheryl succinate *Biochem Mol Biol Int* 1993; 31: 693-700.
133. Çağlıkülekci M, Pata C, Apa DD, Dirlik M, Tamer L, Yaylak F, et al. The effect of N-acetylcysteine (NAC) on liver and renal tissue inducible nitric oxide synthase (iNOS) and tissue lipid peroxidation in obstructive jaundice stimulated by lipopolysaccharide (LPS). *Pharmacol Res* 2004; 49: 227-238.
134. Bowie A, O'Neill LA. Oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. *Biochem Pharmacol* 2000; 59: 13 -23.
135. Sykietis GP, Bohmann D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease. *Sci Signal* 2010; 3: 3.
136. Ramos-Gomez M, Kwak MK, Dolan PM, Itoh K. Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in Nrf2 transcription factor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 3410-3415.
137. Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophene hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes. *Toxicol Sci* 2001; 59: 169-177.
138. Khor TO1, Huang MT, Kwon KH, Chan JY, Reddy BS, Kong AN. Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Cancer Res* 2006; 66: 11580-11584.
139. Yun H, Park S, Kim MJ, Yang WK, Im DU, Yang KR, et al. AMP-activated protein kinase mediates the antioxidant effects of resveratrol through regulation of the transcription factor FoxO1. *FEBS J.* 2014; 281: 4421-4438.

140. Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63: 1035-1042.
141. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 572–584.
142. Ray SD, Patel D, Wong V, Bagchi D. In vivo protection of DNA damage associated apoptotic and necrotic cell deaths during acetaminophen-induced nephrotoxicity, amiodarone-induced lung toxicity and doxorubicin-induced cardiotoxicity by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2000;107:137-166.
143. Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 622-646.
144. Prasain JK, Carlson SH, Wyss JM. Flavonoids and age related disease: Risk, benefits and critical windows. *Maturitas* 2010; 66: 163–171.
145. Yamasaki H, Sakihama Y, Ikehara N. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiol* 1997; 115: 1405-1412.
146. Pietta P, Simonetti P, Gardana C, Brusamolino A, Morazzoni P, Bombardelli E. Relationship between rate and extent of catechin absorption and plasma antioxidant status. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 46: 895-903.
147. Farboud Y, Sarkaki A, Badavi M. Preventive effect of grape seed hydroalcoholic extract on dementia type of Alzheimer's disease in aged male rats. *Int Journal Pharmacol* 2009; 4: 257-262.
148. Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytother Res* 2009; 23: 1197–1204.
149. Alves de Rezende AA, Graf U, da Rosa Guterres Z, Kerr WE, Spanó MA. Protective effects of proanthocyanidins of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds on DNA damage induced by Doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1466–1472.
150. Dogan A, Celik I. Hepatoprotective and antioxidant activities of grape seeds against ethanol-induced oxidative stress in rats. *Brit J Nutr* 2011: 1-7.

151. Kar P, Laight D, Shaw KM, Cummings MH. Flavonoid-rich grape seed extracts: a new approach in high cardiovascular risk patients? *Int J Clin Pract* 2006; 60: 1484–1492
152. Ahn SH, Kim HJ, Jeong I Hong YJ, Kim MJ, Rhie DJ, et al. Grape seed proanthocyanidin extract inhibits glutamate-induced cell death through inhibition of calcium signals and nitric oxide formation in cultured rat hippocampal neurons. *BMC Neurosci* 2011; 12: 1-12.
153. Pataki T, Bak I, Kovacs P, Bagchi D, Das DK, Tosaki A. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 894–899.
154. Ricardo da Silva MJ, Darmon N, Fernandez Y, Mitjavilat S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *J Agr Food Chem* 1991; 39: 1549-1552.
155. Wang CZ, Mehendale SR, Yuan CS. Commonly used antioxidant botanicals: Active constituents and their potential role in cardiovascular illness. *Am J Chinese Med* 2007; 35: 543–58.
156. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Bio Med* 1999; 27: 916–921.
157. Bagchi M, Milnes M, Williams C, Balmoori J, Xumei Y, Stohs S, Bagchi D. Acute and chronic stress-induced oxidative gastrointestinal injury in rats, and the protective ability of a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Nutr Res* 1999; 19: 1189-1199.
158. Balu M, Sangeetha P, Haripriya D, Panneerselvam C. Rejuvenation of antioxidant system in central nervous system of aged rats by grape seed extract. *Neurosci Lett* 2005; 383: 295–300.
159. Yamaguchi F, Yoshimura Y, Nakazawa H, Ariga T. Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system. *J Agr Food Chem* 1999; 47: 2544-2548.
160. Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, Ray SD, Sen CK, Preuss HG. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 957: 260-270.

161. Ray SD, Parikh H, Hickey E, Bagchi M, Bagchi D. Differential effects of IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a DNA repair modulator 4-aminobenzamide on liver microsomal cytochrome 4502E1-dependent aniline hydroxylation. *Mol Cell Biochem* 2001; 218: 27-33.
162. Ray SD, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, Preuss HG, Stohs SJ. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001b;109:165-197.
163. Sehirli O, Ozel Y, Dulundu E, Topaloglu U, Ercan F, Sener G. Grape seed extract treatment reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Phytother Res* 2008; 22: 43-48.
164. Zhao G, Gao H, Qiu J, Lu W, Wei X. The molecular mechanism of protective effects of grape seed proanthocyanidin extract on reperfusion arrhythmias in rats *in vivo*. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 759-767.
165. Kaur M, Velmurugan B, Rajamanickam S, Agarwal R, Agarwal C. Gallic Acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharm Res* 2009; 26: 2133–2140.
166. Devi SA, Jolitha AB, Ishii N. Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE) and antioxidant defense in the brain of adult rats. *Med Sci Monitor* 2006; 12: 124-129.
167. Ferrali M, Signorini C, Caciotti B, Sugherini L, Ciccoli L, Giachetti D, et al. Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *Febs Lett* 1997; 416: 123-129.
168. Cos P, Ying Li, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Poel BV, et al. Structure activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 1998; 61: 71-76.
169. Narita K, Hisamoto M, Okuda T, Takeda S. Differential neuroprotective activity of two different grape seed extracts. *Plos One* 2011; 6: 1-10.
170. Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000; 66: 663-673.

171. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 449-466.
172. Wenzel E, Germany SV. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49: 472–481.
173. Celotti E, Ferrarini R, Zironi R, Conte LS. Resveratrol content of some wines obtained from dried vapolicella grapes: Reccioto and Amarone. *J Chromatogr A* 1996; 730: 47-52.
174. Spanier G, Xu H, Xia N, Tobias S. Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 111-116.
175. Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, Mayo MW. Modulation of NF kappaBdependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J* 2004; 23: 2369-2380.
176. Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 719-731.
177. Arichi H, Kimura Y, Okuda H, Baba K, Kozawa M, Arichi S. Effects of stilbene components of the roots of *Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zucc. On lipid metabolism. *Chem Pharm Bull* 1982; 30: 1766-1770.
178. Kimura Y, Ohminami H, Okuda H, Baba K, Kozawa M, Arichi S. Effects of stilbene components of roots of *Polygonum* ssp. On liver injury in peroxidized oil-fed rats. *Planta Med* 1983; 49: 51-54.
179. Bertelli A, Bertelli AAE, Gozzini A, Giovannini L. Plasma and Tissue Resveratrol Concentrations and Pharmacological Activity. *Drugs Ex Clin Res* 1998; 24: 133-138.
180. Wenzel E, Germany SV. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol Nutr Food Res*. 2005; 49: 472–481.

181. Amri A, Chaumeil JC, Sfar S, Charrueau C. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations? *J Control Release* 2012 Mar 10;158: 182-193.
182. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH, Oatis JE. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol metabolism in humans. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 1377-1382.
183. Bertelli AA, Giovannini L, Stradi R, Urien S, et al. Kinetics of trans- and cis-resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene) after red wine oral administration in rats. *Int J Clin Pharmacol Res* 1996;16: 77-81.
184. Sale S, Verschoyle RD, Boocock D, Jones DJ. Pharmacokinetics in mice and growth-inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans 3,4,5,4'-tetramethoxystilbene. *Br J Cancer* 2004; 90: 736-744.
185. Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M. Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 599-607.
186. Wren AF, Cleary M, Frantz C, Melton S, Norris L. 90-day oral toxicity study of a grape seed extract (IH636) in rats. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 2180-2192.
187. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatiform mole. *J Mutation Research* 2005; 583: 49-54.
188. Koca SS, Bahcecioğlu IH, Poyrazoğlu OK, Ozercan IH, Sahin K. The treatment with antibody of tn α reduces the inflammation, necrosis and fibrosis in the non-alcoholic steatohepatitis induced by methionine- and choline-deficient diet. *Inflammation* 2008; 91-98.
189. Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. Meyers WC, Chan RS (Eds). *Sabiston Textbook of Surgery* 16 th. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001; 997–1059.
190. Ratych RE, Smith GW. Anatomy and Physiology of the Liver. Zuidema GD, Orringer MB, Ritchie WB (Eds). *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract* (4 th). Philadelphia: WB Saunders, 1996; 357-373.
191. Moll MN, Montalban EB. Phytoestrogens: therapeutical possibilities. *Revista de Fitoterapia*, 2001; 1: 165-180.

192. Kadir FA, Kassim NM, Abdulla MA, Yehye WA. Effect of oral administration of ethanolic extract of *Vitex negundo* on thioacetamide-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 294-295.
193. Dong GZ, Lee JH, Ki SH, Yang JH, Cho IJ, Kang SH, et al. MPK activation by isorhamnetin protects hepatocytes against oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Eur J Pharmacol* 2014; 740: 634-640.
194. Peralta C, Bartrons R, Serafin A, Blazquez C, Guzman M, Prats N, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Hepatology* 2001; 34: 1164– 1173.
195. Wang Z, Zhang Z, Du N, Wang K, Li L. Hepatoprotective Effects of Grape Seed Procyanidin B2 in Rats With Carbon Tetrachloride-induced Hepatic Fibrosis. *Altern Ther Health Med*. 2015; 2: 12-21.
196. Çetin A, Kaynar L, Koçyiğit İ, Hacıoğlu SK, Saraymen R, Öztürk A, et al. The effect of grape seed extract on radiation-induced oxidative stress in the rat liver. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2008; 19: 92-98.
197. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Kantarceken B. N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats. *Med Sci Monit* 2006; 12: 274-278.
198. Harputluoglu MM, Demirel U, Karadag N, Temel I, Bayraktar M, Firat S, et al. The effects of *Ginkgo biloba*, vitamin E and melatonin on bacterial translocation in thioacetamide-induced fulminant hepatic failure in rats. *Acta Gastroenterol Belg* 2006; 69: 268-275.
199. Li J, Li J, Li S, He B, Mi Y, Cao H, et al. Ameliorative effect of grape seed proanthocyanidin extract on thioacetamide-induced mouse hepatic fibrosis. *Toxicol Lett* 2012; 213: 353-360.
200. Gündüz E, Dursun R, Zengin Y, İçer M, Durgun HM, Kanıcı A, et al. *Lycium barbarum* extract provides effective protection against paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats 4. Determination of DNA damage in experimental liver intoxication and role of N-acetyl cysteine. *Cell Biochem Biophys* 2014; 70: 1119-1125.

201. Adeneye AA, Awodele O, Aiyeola SA, Benebo AS. Modulatory potentials of the aqueous stem bark extract of mangifera indica on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. J Tradit Complement Med 2015; 5: 106-115.

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Aydın'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi 1986-1998 yılları arasında Nazilli'de tamamladım. 1998-2004 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıp Eğitimimi aldım. 2009-2010 yılları arasında askerlik görevimi tamamladım. 2011 yılında arasında Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim. Orta düzeyde İngilizce bilmekteyim.