

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Veteriner Patoloji Anabilim Dalı**

**KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT
VE KRONİK KARACİĞER HASARI ÜZERİNE NAR
ÇEKİRDEĞİ YAĞI (*PUNICA GRANATUM*) VE BİBERİYE
EKSTRAKTININ (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) ETKİSİ**

**Hazırlayan
Duygu YAMAN**

**Danışman
Prof. Dr. Ayhan ATASEVER**

Doktora Tezi

**Haziran 2015
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT
VE KRONİK KARACİĞER HASARI ÜZERİNE NAR
ÇEKİRDEĞİ YAĞI (*PUNICA GRANATUM*) VE BİBERİYE
EKSTRAKTININ (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) ETKİSİ**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Duygu YAMAN**

**Danışman
Prof. Dr. Ayhan ATASEVER**

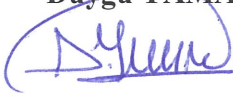
**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Biimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TSD-11-3828 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2015
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Duygu YAMAN



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Nar Çekirdeği Yağı (*Punica Granatum*) ve Biberiye Ekstraktı’nın (*Rosmarinus Officinalis*) Etkisi” adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisanüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

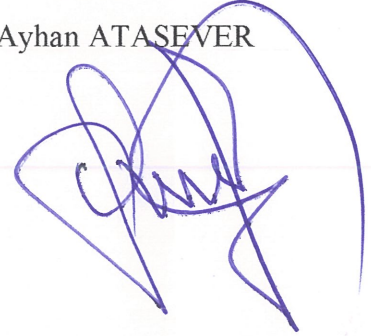
Tezi Hazırlayan

Duygu YAMAN



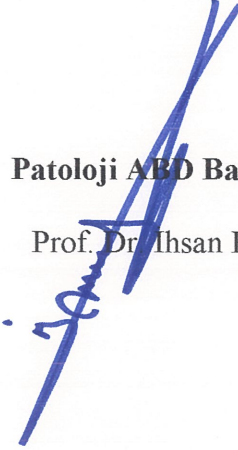
Danışman

Prof. Dr. Ayhan ATASEVER



Patoloji ABD Başkanı V.

Prof. Dr. İhsan KELEŞ



Prof. Dr. Ayhan ATASEVER danışmanlığında **Duygu YAMAN** tarafından hazırlanan “**Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Nar Çekirdeği Yağı (*Punica Granatum*) ve Biberiye Ekstraktı’nın (*Rosmarinus Officinalis*) Etkisi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji Anabilim Dalı’nda **Doktora tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../.../2015

JÜRİ:

İmza

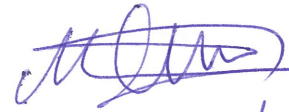
Danışman : Prof. Dr. Ayhan ATASEVER
(Veteriner Patoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Harun ÖZER
(Veteriner Patoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN
(Veteriner Farmakoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Meryem EREN
(Veteriner Biyokimya AD)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Önder KARAYİĞİT
(Veteriner Patoloji AD)



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../2015

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamın bütün aşamalarında bilgi ve deneyimi ile gelişimime katkıda bulunan ve her zaman destek olan Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Ayhan ATASEVER'e, çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Sayın Hocalarım Prof. Dr. Meryem EREN, Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN, Prof. Dr. Gökhan ERASLAN, Prof. Dr. Murat KANBUR, Doç. Dr. Ebru ÇETİN, Yrd. Doç. Dr. M. Önder KARAYİĞİT, Yrd. Doç. Dr. Aytaç AKÇAY'a, ve Biomesi AR-GE firma sahibi Yük. Biolog Mehmet KENAR'a,

Tez projemin (TSD-11-3828) gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Hayatımın her anında yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Duygu YAMAN

Kayseri, Haziran, 2015

**KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT VE KRONİK
KARACİĞER HASARI ÜZERİNE NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞI (*PUNICA
GRANATUM*) VE BİBERİYE EKSTRAKTININ (*ROSMARINUS OFFICINALIS*)
ETKİSİ**

Duygu YAMAN

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Patoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi, Haziran 2015
Danışman: Prof. Dr. Ayhan ATASEVER**

ÖZET

Bu çalışmada, karbon tetraklorür (CCl₄) ile akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda nar çekirdeği yağı (NÇY) ile biberiye ekstraktının (BE) histolojik yapı, bazı biyokimyasal parametreler ile lipid peroksidasyonu üzerine koruyucu etkileri belirlendi.

Akut ve kronik dönemlerde, 60'ar adet (200-250 gr) Wistar albino ırkı rat, her birinde 10 hayvan olacak şekilde 6'şar gruba ayrıldı. Akut çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) % 0,9 NaCl (1.0 mL/kg); ikinci ve üçüncü gruplara, sırasıyla 0,15 mL/kg NÇY ve 200 mg/kg BE, dördüncü gruba CCl₄ (1.0 mL/kg) sadece ilk haftada iki kere; beşinci ve altıncı gruplara, ilk hafta iki kez CCl₄ ile eş zamanlı, sırasıyla 0,15 mL/kg NÇY ve 200 mg/kg BE dört hafta verildi. Kronik çalışmada, birinci gruba (kontrol grubu) % 0,9 NaCl (0,2 mL/kg); ikinci ve üçüncü gruplara, sırasıyla 0,15 mL/kg NÇY ve 200 mg/kg BE, dördüncü gruba haftada iki kere 0,2 mL/kg CCl₄, beşinci ve altıncı gruplara, haftada iki kere 0,2 mL/kg CCl₄ ile eş zamanlı, sırasıyla, 0,15 mL/kg NÇY ve 200 mg/kg BE on iki hafta verildi. Akut ve kronik kontrol, NÇY ve BE gruplarında normal doku yapısı gözlenirken; akut CCl₄ uygulananların hepatositlerinde yoğun makro ve mikroveziküler yağlanma, portal bölgede ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyon alanları ile nekrotik değişiklikler görüldü. Kronik CCl₄ grubunda, akut bulgulara ilaveten portal bölgelerde ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis ile lobulasyon formasyonları görüldü. Akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturulan gruplara NÇY ve BE ilavesi histopatolojik lezyonları etkilemedi.

Karbon tetraklorür uygulaması ile tüm biyokimyasal parametreler (AST, ALT, ALP, glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albümin) değişti, NÇY uygulamasıyla akut dönemde AST, ALT, ALP, glikoz, total

kolesterol, total protein, albümin, kronik dönemde de ALP, total kolesterol, total protein ve albumin düzeyleri kontrol grubu değerlerine yaklaştı. Biberiye ekstraktı, akut dönemde düşen HDL-kolesterol düzeylerini artırırken, diğer parametrelerle, kronik dönemde de tüm parametreleri etkilemedi.

Akut ve kronik uygulanan CCl₄, karaciğer MDA ve NO değerlerini arttırdı. Nar çekirdeği yağı ilavesi akut dönemde MDA düzeyini, kronik dönemde de NO düzeyini azalttı, BE ise MDA ve NO değerlerini değiştirmede.

Sonuç olarak; 0,15 mL/kg NÇY'nin akut ve kronik kullanımının karaciğer hasarı üzerinde olumlu etkisi gözlenmemesine karşın, sadece akut dönemde incelenen biyokimyasal parametreleri kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığından, kısmen iyileştirici bir etkisinin olabileceği, ancak 200 mg/kg BE'nin herhangi bir etkisinin görülmediği belirlendi. Nar çekirdeği yağı ve BE'nin farklı sürelerde ve yan etki oluşturmaksızın en iyi sonucu verecek farklı dozlarda kullanılarak, etkilerinin belirlenmesine yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Biberiye ekstraktı, Histopatoloji, Karbon tetraklorür, Nar çekirdeği yağı, Rat.

**THE EFFECTS OF POMEGRANATE SEED OIL (*PUNICA GRANATUM*) AND
ROSEMARY EXTRACT (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) ON CARBON
TETRACHLORIDE INDUCED ACUTE AND CHRONIC HEPATIC DAMAGE
IN RATS**

Duygu YAMAN

**Erciyes University, Institute of Health Science
Department of Veterinary Pathology
PhD Thesis, June 2015
Supervisor: Prof. Dr. Ayhan ATASEVER**

ABSTRACT

The present study evaluated hepatoprotective role of pomegranate seed oil (PSO) and rosemary extract (RE) on histological structure, some serum biochemical parameters and lipid peroxidation on acute and chronic liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats.

In acute and chronic period 60 Wistar-albino rats (200-250 g) were divided into six groups of ten, for per period. In the acute study, the rats in the first group (control group), were administered with %0,9 NaCl (1 mL/kg); second and third groups were administered with 0,15 mL/kg PSO and 200 mg/kg RE, respectively; fourth group were administered with CCl₄ (1 mL/kg) twice in the first week; fifth and sixth groups were administered with CCl₄ (1 mL/kg) twice in the first week and simultaneously for 4 weeks 0,15 mL/kg PSO and 200 mg/kg RE, respectively. In the chronic study, the rats in the first group (control group), were administered with %0,9 NaCl (0,2 mL/kg); second and third groups were administered with 0,15 mL/kg PSO and 200 mg/kg RE, respectively; fourth group were administered with CCl₄ (0,2 mL/kg) twice for 12 weeks; fifth and sixth groups were administered with CCl₄ (0,2 mL/kg) twice for 12 weeks and simultaneously with 0,15 mL/kg PSO and 200 mg/kg RE, respectively.

In case of acute and chronic control, PSO and RE group livers had normal architecture, in the acute CCl₄ treated group, an intensive macro and microvesicular steatosis, mononuclear inflammatory cell infiltrations in portal area and paranchyma, and necrotic alterations; in the chronic group additionally to acute findings mild to severe fibrosis with lobulation formation were observed.

Acute and chronic administration of CCl_4 , changes on biochemical parameters (AST, ALT, ALP, glucose, triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total protein, albumin) approached control group levels when treated with PSO (except HDL and LDL-cholesterol). In the acute and chronic periods of study, RE administration didn't have any effect on biochemical parameters except for HDL-cholesterol where it was elevated significantly in acute period.

Carbon tetrachloride treatment increased the hepatic MDA and NO concentration in both acute and chronic groups. Although PSO addition decreased MDA concentration in the acute period, it decreased NO concentration in the chronic period. Also, RE addition did not alter MDA and NO concentrations that induced by CCl_4 .

In conclusion, the present study has demonstrated that 0,15 mL/kg PSO has not adequate positive effects on histological changes on liver in acute and chronic periods but changed serum biochemical parameter levels and lipid peroxidation concentrations might suggest that PSO have a partially therapeutic effect, while 200 mg/kg RE have no effect against liver damage induced by CCl_4 . It concluded that further studies on the different durations and higher doses of PSO and RE are in need to point out their possible effects.

Key Words: Carbon tetrachloride, Histopathology, Pomegranate seed oil, Rosemary extract, Rat.

İÇİNDEKİLER

KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN AKUT VE KRONİK KARACİĞER HASARI ÜZERİNE NAR ÇEKİRDEĞİ YAĞI (<i>PUNICA GRANATUM</i>) VE BİBERİYE EKSTRAKTININ (<i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>) ETKİSİ	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KARACİĞER.....	3
2.1.1. Karaciğerin Yapısı	3
2.1.1.1. Karaciğerin anatomisi	3
2.1.1.2. Karaciğerin makroskopisi	3
2.1.1.3. Karaciğerin lobları	4
2.1.1.4. Karaciğerin ligamentleri	4
2.1.1.5. Karaciğerde kan akımı	5
2.1.1.6. Karaciğer histolojisi	5
2.1.2. Karaciğerin Fizyolojisi	8
2.1.2.1. Karbonhidrat metabolizması	8

2.1.2.2. Lipid metabolizması.....	8
2.1.2.3. Protein metabolizması.....	8
2.1.2.4. Detoksifikasyon fonksiyonu	8
2.1.3. Karaciğer Hasarı	9
2.1.3.1. Hepatik nekrozisin histolojik tiplendirmeleri	9
2.1.3.1.1. Periasiner nekroz	9
2.1.3.1.2. Midzonal nekroz.....	9
2.1.3.1.3. Periportal nekroz	9
2.1.3.1.4. Masif nekroz.....	10
2.1.3.1.5. Fokal nekroz	10
2.1.3.2. Hepatik lipidozis	10
2.1.3.3. Safra kanalı lezyonları	11
2.1.3.4. Hepatitis	11
2.1.3.5. Fibrozis	12
2.1.3.6. Siroz	12
2.2. Karbon Tetraklorür (CCl ₄)	13
2.2.1. Karbon Tetraklorür'ün Yapı ve Özellikleri	13
2.2.2. Karbon Tetraklorür'ün Etki Mekanizması.....	13
2.2.3. Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonu.....	15
2.2.3.1. Nitrik oksit	16
2.2.3.2. Malondialdehit	17
2.3. Antioksidanlar	17
2.3.1. Nar (<i>Punica granatum</i>).....	18
2.3.2. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.1.1. Nar çekirdeği Yağı (<i>Punica granatum</i>)	27
3.1.2. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	28

3.1.3. Deneyde Kullanılan Hayvanlar.....	29
3.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	31
3.1.5. Kullanılan Cihazlar.....	32
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1. Deney Planı.....	33
3.2.2. Dozların belirlenmesi.....	35
3.2.3. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması.....	36
3.2.4. Histopatolojik İnceleme.....	37
3.2.5. Karaciğer Hasar Skorumlama Yöntemi.....	39
3.2.6. Biyokimyasal Analiz	39
3.2.7. Doku Homejenatlarının Hazırlanması	39
3.2.8. Lowry Metodu ile Protein Miktar Tayini	40
3.2.9. Malondialdehit Tayini	40
3.2.10. Nitrik Oksit Tayini.....	41
3.2.11. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Klinik Bulgular.....	43
4.2. Patolojik Bulgular.....	43
4.2.1. Akut Çalışma Grubunun Histopatolojik Değerlendirilmesi	43
4.2.2. Kronik Çalışma Grubunun Histopatolojik Değerlendirilmesi.....	50
4.3. Akut ve Kronik Deneme Gruplarına Ait Karaciğer Hasar Parametre Skorumaması... ..	56
4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	57
4.5. Lipid Peroksidasyon Bulguları.....	61
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR	77
EKLER.....	93
ÖZGEÇMİŞ.....	94

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Nar çekirdeği yağının yağ asidi bileşimi.....	27
Tablo 3.2. Akut çalışmada oluşturulan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.....	33
Tablo 3.3. Kronik çalışmada oluşturulan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.....	35
Tablo 3.4. Doku takip yöntemi.....	37
Tablo 3.5. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	38
Tablo 3.6. Karaciğerde hasar skorlama tablosu.....	39
Tablo 3.7. MDA analizi çalışma şeması.....	41
Tablo 3.8. NO analizi çalışma şeması.....	42
Tablo 4.1. Akut deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.....	56
Tablo 4.2. Kronik deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.....	57
Tablo 4.3. Akut karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri.....	59
Tablo 4.4. Kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri.....	60
Tablo 4.5. Akut karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının karaciğer MDA ve NO değerleri.....	62
Tablo 4.6. Kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının karaciğer MDA ve NO değerleri.....	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Karaciğer hücreleri.	6
Şekil 2.2.	CCl ₄ 'ün metabolizması.....	15
Şekil 2.3.	Nar (<i>Punica granatum</i>)'ın görünümü	18
Şekil 2.4.	Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)'nin görünümü	24
Şekil 3.1.	Çalışmada kullanılan Nar çekirdeği yağının ticari ambalajının görünümü.	28
Şekil 3.2.	Biberiye ekstratında bulunan aktif bileşenlerin kimyasal yapısı	28
Şekil 3.3.	Çalışmada kullanılan Biberiye ekstraktının görünümü.	29
Şekil 3.4.	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nin uygun şartları altında barındırılan ratlar.....	30
Şekil 3.5.	Kafes içinde beş adet pelet yem ile <i>ad libitum</i> olarak beslenen ratlar.....	30
Şekil 3.6.	Gavaj ve intraperitoneal uygulamalar.....	34
Şekil 3.7.	Sistemik nekropsi yapılan ratlar.	36
Şekil 4.1.	Kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.	44
Şekil 4.2.	NÇY grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.	45
Şekil 4.3.	BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.	46
Şekil 4.4.	CCl ₄ grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.	47
Şekil 4.5.	CCl ₄ +NÇY grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.....	48
Şekil 4.6.	CCl ₄ +BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.....	49
Şekil 4.7.	Kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.....	50
Şekil 4.8.	NÇY grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, H&E, 200 µm.	51
Şekil 4.9.	BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.....	52
Şekil 4.10.	CCl ₄ grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.	53

Şekil 4.11. CCl₄+NÇY grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE..... 54

Şekil 4.12. CCl₄+BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE..... 55

KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BE	: Biberiye ekstraktı
CAT	: Katalaz
CCl ₃	: Triklorometil
CCl ₃ O ₂	: Triklorometil peroksil
CCl ₄	: Karbon tetraklorür
D-GalN	: D-Galaktozamin
FAD	: Flavin adenin dinükleotit
Fe-NTA	: Ferrik nitrilotriasetat
GDH	: Glutamat dehidrogenaz
GDH	: Glutamat dehidrogenaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HxE	: HematoksilenxEozin
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü I
İp	: İntraperitoneal
LCAT	: Lesitin kolesterol asil transferaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarid
MDA	: Malondialdehit
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NÇY	: Nar çekirdeği yağı
NO	: Nitrik oksit

OH ⁻	: Hidroksit
Sc	: Subcutan
SDH	: Sorbitol dehidrogenaz
SDH	: Sorbitol dehidrogenaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyoarbitürük asit
TCAA	: Trikloroasetik asit
V. centarlis	: Vena centralis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, anatomik lokalizasyonu ve ortaya koyduğu önemli fonksiyonlar nedeniyle toksik maddelere en fazla maruz kalan ve pek çok etkenle hasara uğrayabilen bir organdır (1). Akut ve kronik hepatotoksisite oluşturmak amacıyla kullanılan CCl_4 'ün toksisitesi biyokimyasal ve hücre organelleri düzeyinde kendini gösterir (2, 3). Bu hasarın oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir. Oluşan serbest radikal türevleri, hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonuna oluşturup karaciğerde hepatositlerin hücre membranlarını bozmak suretiyle etki göstermektedirler (4, 5, 6). Oksidatif hasarla ilişkilendirilen oksidatif stres, son yıllarda araştırmaların odağı konumundadır.

Açlık, şeker hastalığı, adrenalin salgısı bozukluğu ve özellikle esansiyel amino asit yetersizliğinin yanında, alınan metiyonin, orotik asit, etanol, karbon tetraklorür, kloroform gibi maddelerin protein sentezini, özellikle apolipoprotein sentezini engellediğinden karaciğer yağlanması meydana gelir (7).

Bitkisel kaynaklı birçok ilacın, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması, toksik ve yan etkilerinin az olmasından dolayı farklı kimyasal maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı, antioksidan ve karaciğer koruyucu etkilerinin belirlenmesi amacıyla hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar 20. yüzyılda popüler hale gelmiştir (8). Yapılan çalışmalarda, NÇY ve BE'nin antioksidan ve serbest radikalleri tutucu etkisi olduğu bildirilmekte ve bu modellerin CCl_4 ile oluşan karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkileri olabileceği düşünülmektedir (9, 10, 11 12, 13).

Bu araştırmada karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bilinen nar çekirdeği yağı (NÇY) ile biberiye ekstraktının (BE), özellikle karaciğer dokusunda oluşabilecek lezyonlar üzerine ve ayrıca bazı serum biyokimyasal parametreler (aspartat aminotransferaz (AST), alanin

aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein, albümin) ile karaciğer lipid peroksidasyon düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER

2.1.1. Karaciğerin Yapısı

2.1.1.1. Karaciğerin anatomisi

Karaciğer, insanlarda ve ruminantlarda karın boşluğunda median hattın sağında olmasına karşın diğer hayvanlarda bir kısmı bu hattın soluna da geçmiş konumdadır (14). Vücudun deriden sonra en büyük organı ve en büyük bezidir. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında önemli görevler üstlenen karaciğer, morfolojisi, fizyolojisi, biyokimyası ve dolaşımı ile vücudun en karmaşık organlarından biridir (10).

2.1.1.2. Karaciğerin makroskobisi

Karaciğerin kıvamı elastiktir. Rengi içerdiği kan miktarına göre kırmızı kahvemsı bir görünüme sahiptir (14).

Karaciğerin facies diaphragmatica ve facies visceralis olmak üzere iki yüzü bulunmaktadır. Facies diaphragmatica, karaciğerin diafragma ile komşuluk yaptığı yüzüdür ve dört bölümde incelenir (14, 15). Bu bölümlerden birincisi olan pars superior, facies diaphragmaticanın üst kısmını oluşturmaktadır. Diafragma ile sıkı komşuluk yapar. Diafragma aracılığı ile sağ tarafta pleura ve akciğerle, sol tarafta da perikardiyum ve kalp ile komşudur. Kalbin oturduğu yer olması açısından orta kısmı çukur olup impressio cardiaca adını alır. Üst yüzün büyük bölümü periton ile kaplıdır. Bu yüzün arka kısmı peritonsuzdur. Diafragmaya bağ dokusu ile bağlanır (14, 16). Diğer bir bölüm pars anterior, facies diaphragmaticanın ön bölümünü oluşturmaktadır. Pars anterior, lig. falciforme hepatisin tutunduğu yer hariç her tarafı peritonla kaplıdır (14, 15). Pars dextra ise facies diaphragmaticanın periton ile örtülü sağ tarafıdır. Bu bölüm 6.

ve 11. kaburgalar arasındadır. Pars dextra, karaciğer biyopsileri için tercih edilen yer olması açısından önemlidir (15). Son bölüm olan pars posterior, karaciğerin diafragma ile temas eden peritonsuz bölümüdür. Gevşek bağ doku aracılı ile diafragmaya bağlıdır. Pars posteriorun sağ tarafında V. cava inferiorun yerleştiği sulcus venae cavae denilen oluk bulunur. Bu oluğun üst bölümünde V. hepaticaların açıldığı delikler bulunur. Sulcus venae cavaenin 2-3 cm solunda fissura ligamenti venosi bulunur. Fissura ligamenti venosi yarığında, embriyonik bir yapıdan ductus venosusun kapanması ile oluşan lig. venosum bulunur (15).

Fascies visceralis, karaciğerin karın organları ile komşu olan konkav alt yüzüdür. Bu yüz kolon, sağ böbrek, sağ böbrek üstü bezi, duodenum ve mide ile komşudur. Fascies visceralisin ortasında porta hepatis denilen bir geçit bulunur. Porta hepatis ile karaciğere V. portae hepatis, A. hepatica propria, sempatik ve parasempatik sinir lifleri içeren sinir ağı (plexus hepaticus) girer, safra kanalları ve lenf damarları çıkar. Facies visceralisin porta hepatis, fossa vesica biliaris, sulcus venae cavae, fissura ligamenti venosi hariç her tarafı peritonla kaplıdır (15, 16).

Porta hepatis, 5 cm uzunluğunda, 1.5- 2 cm genişliğindedir. Porta hepatis V. portae hepatis, A. hepatica propria, sempatik ve parasempatik sinir lifleri içeren plexus hepaticus sinir ağı girer. Ductus hepaticus dexter ve ductus hepaticus sinister ile lenf damarları çıkar (14, 15).

2.1.1.3. Karaciğerin lobları

Karaciğer, facies diaphragmaticasında lig. falciforme hepatis tarafından lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister olarak ikiye ayrılır. Facies visceralis'de H harfi şeklindeki oluklar karaciğeri 4 loba ayırır. Sulcus sagittalis dexterin sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinisterin sol tarafında kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denir. Bu iki oluk arasında ve porta hepatis'in önünde kalan kısma lobus quadratus, arkada kalan kısmı ise lobus caudatus olarak adlandırılır (14, 15).

2.1.1.4. Karaciğerin ligamentleri

Karaciğer V. umbilicalis'in tıkanmasından oluşan ligamentum teres ve peritonun kıvrımları veya ligamentler aracılığıyla çevre doku ve organlara bağlanır. Lig.

triangulare dexter ve sinister karaciğeri yanlardan diyaframa bağlar. Lig. coronarium V. cava caudalis'in dorsalindedir. Arasında bu damar bulunur ve sulcus vena cavanın kenarlarını diyaframa birleştirir. V. cava caudalis'in organa girdiği yerin ventralinde lig falciformis bulunur. Diaframa bakan yüzün tam ortasındadır ve diyaframa bağlanır. Lobus caudatus'un kaidesiyle sağ böbreğin ön ucu arasında lig. hepatorenale yer alır. Ancak lig. triangulare dextrumun uzantısı olan bu ligament bazen olmayabilir. Ayrıca lig. hepatogastricum ve lig. hepatoduodenale karaciğerin mide ve duodenum arasındaki bağlantılarını oluşturur (14, 15).

2.1.1.5. Karaciğerde kan akımı

Karaciğerin kan akımı iki ana damar ile sağlanır. Hepatik arter, total kan akımının % 25'ini sağlar ve karaciğere oksijen zengin kanı taşır. Hepatik arter ile kan akımının otoregülasyonu karaciğer kan akımının sabit kalmasını sağlar. Portal ven, genellikle gastrointestinal ve dalak kaynaklı kanı taşır. Portal ven aracılığı ile ince bağırsaklardan emilen maddelerin çoğu karaciğere taşınır, karaciğer kan akımının % 75'ini sağlar (16).

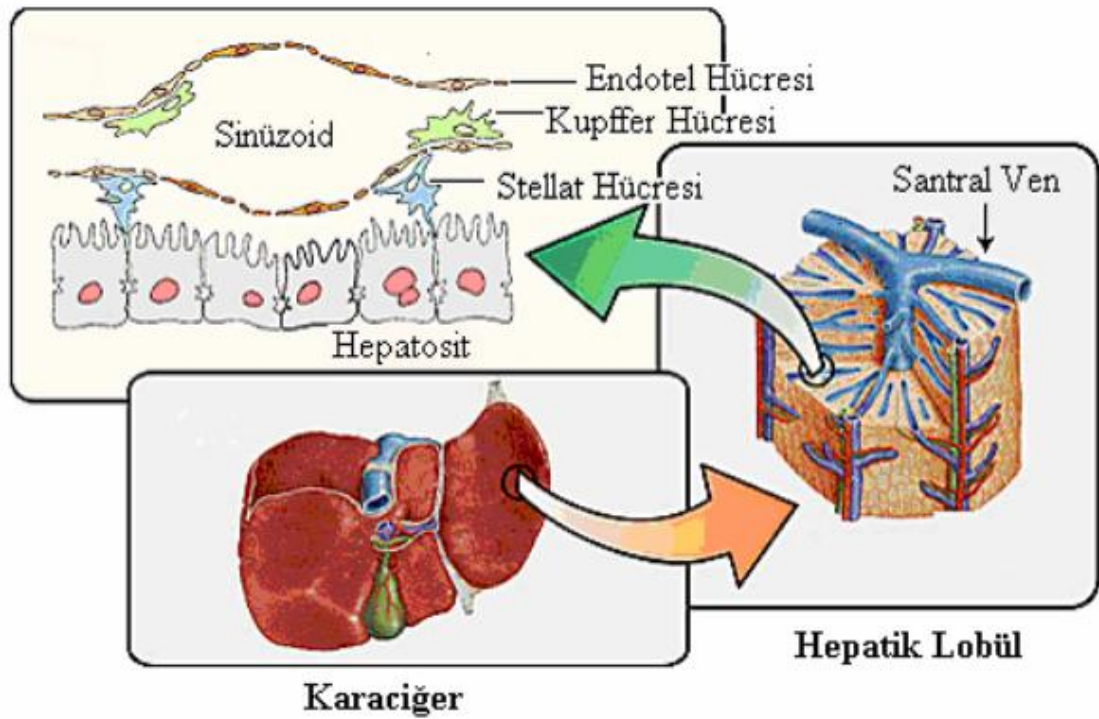
2.1.1.6. Karaciğer histolojisi

Karaciğer “lobül” veya “asinus” denilen temel histolojik ünitelerden oluşur. Klasik karaciğer lobülü, polihedral bir prizma şeklinde bulunan ve her köşesinde birer portal triadı ve merkezinde santral veni bulunan temel yapı birimidir. Lobüllerin köşelerinde yer alan portal alanlar (portal triad, Glisson üçgeni), portal venin ve hepatik arterin birer dalını, safra kanalını, lenf damarlarını ve sinirleri içeren bağ dokusu alanlarıdır (17, 18).

Lobüller içindeki hepatositler ışınsal olarak kordonlar yaparak (Remark kordonları) dizilmiş ve bir duvarın tuğlalarına benzer biçimde düzenlenmiştir. Karaciğer hücrelerinin yaptığı bu tabakalar arasındaki boşluklara karaciğer sinuzoidleri adı verilir. Karaciğerde sinuzoidlerin iç tarafları, endoteliyal hücrelerle örtülmüştür. Endoteliyal hücreleri ile hepatositler arasında disse aralığı bulunur (16, 17, 19). Hepatik asinus modelinin oluşturulmasında, kanın arteriyel ve portal venöz damarlar ile karaciğer parankimine ulaşp, kordonlar biçiminde dizilen hepatositlerce işlendikten sonra terminal hepatik venüllere dökülmesi temel alınmıştır. Asinar ünite modeli hepatositleri, bol oksijenli kandan yararlanma derecelerine göre üç alanda gruplar. Terminal vasküler

dallara yakın hepatositler (zon 1), oksijen ve sindirim ürünlerinden zengin kanla beslenirler ve bu hepatositler çabuk rejenere olur ve karaciğer hücre hasarına daha dirençlidirler. Zon 2 ve 3'deki hepatositler ise vasküler yapılara daha uzak oldukları için, daha az oksijen ve sindirim ürünlerini içeren kanla beslenirler ve bu nedenle bu bölgelerde karaciğer rejenerasyonu uzun sürer (20).

Karaciğerde beş tür hücre bulunmaktadır. Bunlar hepatosit, endotelial hücreler, Kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitel hücreleridir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Karaciğer hücreleri (21).

Karaciğerde sinüzoidlerin iç tarafları, endotelial hücrelerle örtülmüştür. Endotelial hücrelerle hepatik hücreler arasında disse aralıkları plazma filtratı ile doludur. Endotelial hücrelerin bazıları mikroskopik kesitte genişlemiş ve sinüzoidin boşluğuna doğru uzamış görünen Kupffer hücreleridirler. Kupffer hücreleri, plazmadan bilirubini, boyaları, özel maddeleri ve harap olmuş eritrositleri alırlar. Kupffer hücreleri retiküloendotelial sistemin bir kısmını oluştururlar. Yıldız hücrelerde denilen Kupffer hücreleri, karaciğerde bulunan ve endotelial sistemin bir bölümünü oluşturan orjin olarak monositlerden köken alan ve perisinüzoidal alanda yerleşen, lokal özelleşmiş

makrofajlardır. İlk kez Karl Wilhelm von Kupffer tarafından 1976 yılında gözlemlenmişlerdir (22). Fagosit edilen mikroorganizmaları ve yabancı cisimleri yıkan lizozom içerirler. İmmunoglobulinler ve komplemanlar için reseptörleri vardır. Antijen sunan hücre olarak görev yaparlar ve hücrel immunitiyi aktive ederler (23). İnterlökinler, tümör nekroz faktör, kollajenaz, prostoglandinler ve inflamatuvar cevaba katılan diğer faktörleri salgırlar (22, 23). Bu hücrelerin hepatositler ile olan hücreler arası haberleşme ve etkileşimlerinde oldukça önemlidir.

Karaciğerdeki hücrelerin % 65'ini, karaciğer hacminin % 80'ini hepatositler oluşturur. Her hepatosit karaciğere ait her işlevi yerine getirebilir. Hepatosit yuvarlak bir çekirdeğe ve bol miktarda kaba endoplazmik retikulumu sahiptir. Bu yapılarıdaki poliribozomlarda birkaç tip protein sentezi (kan albümini, fibrinojen) yapılır. Sitoplazma içinde yaygın olarak dağılmış düz endoplazmik retikulumda çeşitli bir takım önemli işlevler gerçekleştirilir. Bu organel, çeşitli maddelerin vücuttan atılmadan önce etkisizleştirilmesi ya da zehirlenmeyi önlemek için gerekli oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon işlemlerinden sorumludur (24). Hepatosit sıklıkla glikojen içerir. Bu polisakkarit elektron mikroskopunda, genellikle sitozolde düz endoplazmik retikulumun yakınında toplanmış, kaba granüller halinde görülür. Her bir hepatositte yaklaşık 2000 mitokondri bulunur. Hepatosit lizozomları hücre içi organellerin yıkımı ve dönüşümü için önemlidir. Peroksizomlar da lizozomlar gibi enzim içeren ve hepatositlerde bol miktarda bulunan organellerdir. Karaciğerde Golgi kompleksleri de bol miktardadır. Sayıları her bir hücrede 50 adede yakındır. Hepatosit vücudun çok yönlü özelliği olan hücresidir. Bağırsaklardan emilen besin maddeleri bu hücrelere gelerek vücuda yararlı hale getirilir. Bu hücreler bazı maddelerin sentezini yapar ve biriktirir, bazılarını zararsızlaştırır. Artık maddeleri karaciğerden uzaklaştıran safra sıvısını salgılar (24, 25).

Karaciğer hücrelerinden denizyıldızı görünümündeki stellat hücreler, yağ depolar ve ito hücreleri olarak da bilinmektedirler. Sinüzoidlerin duvarında bulunurlar ve yüksek miktarda retinol içerirler. Organizmadaki retinol deposunun çok önemli bir kısmı bu hücrelerde bulunmaktadır. Stellat hücreler aktive olduklarında disse aralığına kollajen salgılamaya başlarlar. Bu da fibrotik süreci başlatan ana nedenlerdendir, ancak geri dönüşümsüz değildir. Hepatositten salınan metaloproteinaz enzimi, hasar gören alandaki fibrotik dokuyu parçalar ve yok eder. Stellat hücrelerin apoptoza uğratılmasıyla, fibroz doku oluşumunun yavaşlatılabileceği düşünülmektedir (23).

Safra kanalı epitel hücreleri, hepatositler arasındaki safra kanalcığından başlayan safra kanalları, safrayı kanın ters yönünde yani klasik lobülün merkezinden periferine doğru taşırlar. Periferde safra, safra kanalcıklarına ya da Herring kanallarına girer. Daha sonra Herring kanalları portal triaddaki safra kanallarına açılır. Ana safra kanalı, duodenumun ikinci kısmında sonlanır (19, 22).

2.1.2.Karaciğerin Fizyolojisi

2.1.2.1. Karbonhidrat metabolizması

Glukoz homeostazı ve kan şeker düzeyinin korunması karaciğerin ana görevidir. Glikojenoliz ve glukoneojenez ile kan şekeri düzeyini ayarlar ve besinlerle alınan galaktoz, mannoz ve früktoz gibi şekerleri glukozla dönüştürür (25).

2.1.2.2. Lipid metabolizması

Karaciğer lipoprotein metabolizmasında önemli rol oynar. Ayrıca, endojen trigliserid sentezi, kolesterol sentezi ve yağ asitlerinin sentezi de karaciğerde gerçekleşir (25).

2.1.2.3. Protein metabolizması

Karaciger hücresi, kendisi için ürettiği proteinlere ek olarak albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler gibi plazma proteinlerini de sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüler endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer bez hücrelerinin aksine, hepatositler proteinleri sitoplazmada depolamayıp, kan dolasımına vererek endokrin bir bez özelliği gösterirler. Karaciger tarafından dışarıya verilen proteinin % 5'lik bir kısmı Kupffer hücreleri tarafından üretilmektedir (26).

2.1.2.4. Detoksifikasyon fonksiyonu

Karaciğer, vücutta salgılanan endojen ve ekzojen maddelerin detoksifikasyonunda anahtar rol oynayan hayati bir organdır (27). Hepatositler, ilaçların, toksinlerin ve vücuda yabancı diğer proteinlerin (ksenobiyotikler vb.) indirgenmesi ve zararsız hale getirilmesini gerçekleştirirler. Karaciğer, biyotransformasyon reaksiyonları ile organizma için zararlı olan maddeleri etkisizleştirerek vücuttan atılmasını sağlar.

Bu yol hepatositler tarafından iki fazda gerçekleştirilir (28).

Faz I (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) reaksiyonları, büyük ölçüde P450 enzimleri ile gerçekleştirilmekle birlikte oksidasyon en önemlisi olarak bilinmektedir. Hepatositlerin agranüler endoplazmik retikulumu ve mitokondriyonlarında yabancı bileşiklerin hidroksilasyonu (OH grubu eklenmesi) ve karboksilasyonu (COOH grubu eklenmesi) işlemidir (1, 16, 26).

Faz II (konjugasyon) reaksiyonları, glukoronik asitin, glisin ve taurinle konjugasyonu gerçekleşir. Bu yol, faz I ürünlerini suda daha eriyebilir hale getirerek böbrekler tarafından atılmasına yardımcı olur (1, 16, 26).

2.1.3. Karaciğer Hasarı

2.1.3.1. Hepatik nekrozisin histolojik tiplendirmeleri

2.1.3.1.1. Periasiner nekroz

Periasiner bölgelerde bulunan hepatositler, portal ve arteriyel kanın ulaştığı son noktalarda bulunmaları ile gerek oksijen gerekse besinlerin en son bu bölgeye gelmeleri ve bu bölgedeki hücrelerin çok miktarda çok amaçlı oksidaz yoğunluğuna sahip olmaları sebebiyle bu hücreler nekrotik etkilere oldukça açıktır (16, 25). Nekroz çoğunlukla pıhtılaşma tipinde olur ve V. sentralis'ler çevresindeki hepatositler ile sınırlıdır. Bazen nekroz alanları genişleyerek diğer nekrotik odaklarla birleşir.

2.1.3.1.2. Midzonal nekroz

Asinusun orta bölgesinde fokal ya da diffuz dağılım gösteren midzonal nekrozlar bazı intoksikasyonlarda şekillenir (16).

2.1.3.1.3. Periportal nekroz

Asinusların periportal bölgelerinde oluşan bu nekroz tipine kimi toksik hastalıklarda rastlanır; midzonal nekrozlardan daha yaygındır (16, 25).

2.1.3.1.4. Masif nekroz

Masif nekroz çok asinusta görülürse de, bütün karaciğeri içine almaz. Etkilenen asinusların içindeki hücrelerin hemen hepsi nekroza uğrar. Bu nedenle, bu nekroz şeklinde rejenerasyon oluşmaz. Retikulin ve fibröz stroma tümüyle kollabe olur; bağ doku artar ve nedbeleşir. Bu gibi nekroz odakları çevresinde parasantral ve periasiner nekroza yakalanmış asinuslar da görülür Fibrin özellikle lobları birbirinden ayıran fissürlerde toplanır. Karaciğer mozaik görünüşündedir. Mozaik görünüş bazen geniş bir alana yayılır (16, 27).

2.1.3.1.5. Fokal nekroz

Fokal nekrozlar küçük çaplı olur ve asinuslarda belirli bir yerleşim göstermez. Fokal nekroza birçok enfeksiyonda, parazit göçlerinde ve bilier obstrüksiyonlarda rastlanır; nekrozlarla birlikte fokal yangılar da bulunduğu lezyon fokal hepatitis olarak tanımlanır (16).

2.1.3.2. Hepatik lipidozis

Biyokimyasal olarak lipid miktarı ağırlıkça % 5'ten fazla ve histolojik olarak boyanabilen yağ hücreleri içeren karaciğer “yağlı karaciğer” olarak adlandırılır (29, 30).

Hepatositlerde lipoproteinlerin sentezi ve taşınması için belirli bir miktar enerji gerekmektedir. Protein ve fosfolipid senteziyle ATP sentezinin bozulması, lipoprotein sentezlenmesini engellemektedir. ATP sentezine daha az bağımlı olan hepatositlere gelen yağ asitlerinden trigliseridlerin sentezinin devam etmesi sonucu sitoplazmada fazla trigliserid birikimi oluşmaktadır (16, 31).

Karaciğerde normal olarak periportal ve sinüzoidlere yakın kısımlarda küçük yağ damlacıkları bulunur. Lipidoziste çoğu asinusların kenar kısımlarında görülen yağ damlacıklarının miktarı artar. Dejenerasyonun başlangıcında, yağ sitoplazmada küçük globüller şeklinde görülür ve çekirdek normal yerleşimindedir. Toksinlerden ya da akut anoksiden ileri gelen akut hücre zedelenmelerinde yağ dejenerasyonu şekillenmeyebilir. Bu gibi durumlarda hücre ya normal duruma döner ya da nekroza uğrar. Eğer nekroz

şekillenmiş ise V. sentralis'ler belirginleşebilir ve sarı renkte bir hale ile çevrilir (16, 29).

Şiddetli ve uzun süren karaciğer lipidozisinde parenkim hücrelerinin çoğunda yağlanma görülür. Hücre içindeki yağ damlacıkları birbirleriyle birleşerek büyük bir globül oluşturur; çekirdek yer değiştirir ve hücrenin şekli bozulur. sinüzoidler basınç altında kalarak anemik bir durum alır (16, 32).

Karaciğer uzun bir süre yağlı durumda kaldığında, kronik değişiklikler ortaya çıkar. Hepatositlerde ya da yağ depo eden sinüzoidal hücrelerde uzun süre fazla miktarda yağın bulunması sonu fibrozis, pigment birikimi ve nodüler hiperplazi şekillenir (16, 29, 32).

2.1.3.3.Safra kanalı lezyonları

Safra içerisinde su, elektrolitler, safra asitleri, kolesterol, fosfolipidler ve konjuge bilirubin bulunmaktadır. Hepatositlerin kandaki maddeleri alıp dönüştürerek safra kanalikülleri içine salgılamaları karaciğerin ekzokrin fonksiyonudur. Hormon ve ilaç inaktivasyonu yanı sıra insulin, glukagon, östrojen, büyüme hormonu, glukokortikoidler ve parathormon karaciğerde katabolize edilir. İlaçlar ve toksinler, Faz I ve Faz II reaksiyonları ile suda çözünür bileşiklere dönüştürülerek idrar ve safra ile atılır (25).

2.1.3.4. Hepatitis

Karaciğer'deki bakteriyel, viral, protozoer, toksik ve paraziter etkenlerden ileri gelen karaciğer lezyonları ile her türlü yangısal değişiklikler için hepatitis terimi kullanılabilir (16). Hepatitislerin otoimmün, metabolik, konjenital, viral, toksik, ilaca bağlı pek çok nedeni vardır. En önde gelen hepatit enfeksiyonları viral hepatitlerdir. Klinik önemi olan kronik hepatitis tablosuna neden olan etkenler B, C ve D hepatitleridir (1). Bakteriler karaciğerde fokal hepatitise neden olurlar. Etkenler karaciğere hematogen, kolangiogen, paraziter yollarla bulaşabilirler. Alkolik hepatistide karaciğerde nötrofil infiltrasyonu sık görülür. Aktive nötrofillerin toksik oksijen metabolitleri ortaya çıkardıkları düşünülmektedir (23). Karaciğer yangılarında Kupffer hücreleri metabolize olur. Akut yangılarda karaciğer parankiminde yangıyı gösteren lezyonlar sinüzoidlerde

yangısal hücre kümeleri, portal aralıklarda lenf damarlarında genişleme, ödem ve lökositlerin bulunmasıdır (1, 16).

2.1.3.5. Fibrozis

Fibrozis karaciğerin kronik zedelenmeye karşı gösterdiği bir reaksiyondur. Fibrozis karaciğerde kaba ya da ince nodüler lezyonların şekillenmesine yol açar. Karaciğer nekrozlarının sonrasında gelişen rejeneratif odaklarla birlikte yersel fibrogenezisde şekillenir. Kollogen başlangıçta Disse aralıklarında birikir; aynı zamanda sinuzoid endoteli delikli yapısını kaybeder. Böylece hepatositlerin sinuzoidler ile ilişkisi diğer doku hücrelerinin kapıllarlar ile ilişkisine benzer. Eğer neden ortadan kalkarsa olgunlaşmamış kollagen enzimatik parçalanmayla ortadan kaldırılır, ancak lezyona yol açan neden varlığını sürdürürse progresif fibrozis şekillenir ya da başlangıçta oluşan parenkim yıkımlanması çok şiddetli olur ve progresif sklerozis gelişir (16, 29).

Fibrozis çeşitli yollarla meydana gelir; portal ve perivenüler stroma ile karaciğer kapsülünü içine alan karaciğerdeki bağ dokunun yangısını izler. Fibrozis yalnızca portal aralıklarda gelişmişse bilier fibrozis adını alır. Fibrozis bazen parenkim yıkımlanmasına bağlı bulunur. Bu tip fibrozisin gelişme tarzı, şekli ve süresi parenkimde gelişen lezyon ile bağlantılıdır. Masif nekrozda, asinusların birçoğunda hücrelerin büyük bir kısmı yıkımlanır, retikulin ağı kollabe olur ve yoğunlaşır, böylece portal aralıklar yakınlaşarak geniş, düzensiz nedbe dokusunu oluşturur. Bu fibrozis şekli postnekrotik nedbeleşme olarak tanımlanır. Diffüz karaciğer fibrozisi ise sürekli infiltrasyon ya da tekrarlanan parenkim yıkımlanması gibi kronik parenkim lezyonları sonrasında olur. Fibrozis yavaş gelişerek portal aralıkları vena sentralisler ile birleştirir ve klasik lobulusları bölerek psödolobülleşmeye yol açar (16, 32, 33).

2.1.3.6. Siroz

Karaciğer sirozu, hepatosellüler ölüm, rejenerasyon ve ilerleyen fibrozis sonucu meydana gelen ilerleyici geri dönüşümsüz bir hastalıktır (1, 33). Kronik karaciğer hastalığının bu son dönemi, ince bandlar ya da lobullerin yerini alan geniş skar dokusu şeklinde köprüleşen fibroz septumlar, çevrelenmiş hepatositlerin rejenerasyonundan kaynaklanan çok küçük (<3 mm çaplı mikronodüller) ya da büyük (birkaç cm çaplı makronodüller) parankimal nodüller ile tüm karaciğerin genel yapısının bozulması ile

tanımlanabilir (1). İnsanlarda, alkolik karaciğer hastalığı ve hepatitis B virüsü sirozun en önemli nedenlerini oluştururken, hayvanlarda genellikle akut toksik hepatitisin nedenleriyle portal sirozun nedenleri hemen hemen aynıdır (10).

2.2. Karbon Tetraklorür (CCl₄)

Karbon tetraklorür, hepatotoksik özellikleri nedeniyle karaciğerde toksisite oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir (34). Kuru temizleme, cila, vernik gibi maddelerin çözücüsü, pestisit ya da tahıl dezenfektanı gibi yaygın kullanım alanı olan CCl₄; yangın söndürücü veya soğutucuların yapımına giren floroklorokarbon sentezinde de kullanılmıştır (35).

Ayrıca endüstride makine ve ekipman temizliğinde çözücü olarak kullanılan alifatik bir hidrokarbondur. Veteriner Hekimlikte uzun yıllar anthelmintik olarak da kullanılmıştır (2, 36). Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi (EPA) hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlara dayanarak, CCl₄'ü insan için olası kanserojen (grup B2) sınıfına dâhil etmiştir (37).

2.2.1. Karbon Tetraklorür'ün Yapı ve Özellikleri

Karbon tetraklorür uçucu ve berrak bir sıvıdır. Genellikle çevrede gaz halinde bulunmakla birlikte kolay yanmaz ve belirgin bir kokusu vardır. Havada milyon başına (ppm) 10 pay CCl₄ ulaştığı zaman insanlar tarafından solunabilir (4). CCl₄'ün molekül ağırlığı, 153,82 g/mol; ve 0 °C'deki dansitesi, 1,5940 g/ml'dir. Suda çok az çözünen CCl₄; alkol, benzen, kloroform ve yağlarla kolaylıkla karışabilir (35).

CCl₄ vücutta, büyük oranda soluma yoluyla alınmasının yanında yutma ve deri yoluyla da alınabilir. Soluma yolu ile % 30-40'ın üzerinde alınan CCl₄ vücutta yağ dokuda birikir. Alınan CCl₄'ün bir kısmı böbrek, karaciğer, beyin, akciğer ve iskelet kaslarına dağılabilir. Yapılan hayvan çalışmaları farklı koşullar altında vücutta alınan CCl₄'ün % 34-75'i solunan hava ile % 20-62'si ise dışkı ile vücuttan atıldığını göstermiştir (36).

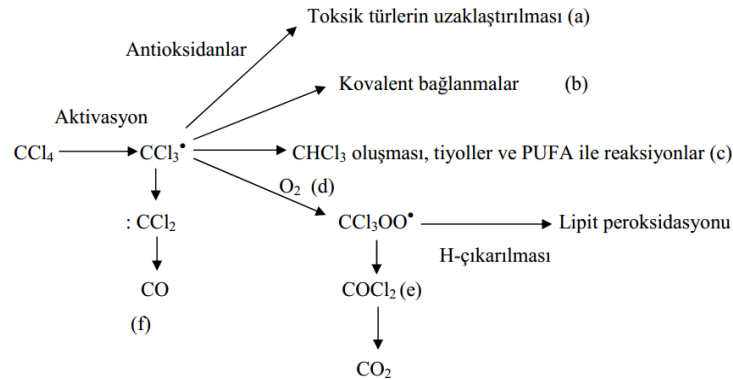
2.2.2. Karbon Tetraklorür'ün Etki Mekanizması

Karbon tetraklorür deneysel hayvan çalışmalarında akut ve kronik hepatotoksisite oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan bir ksenobiyotiktir (3). Ratlarda CCl₄ ile

deneysel olarak oluşturulan siroz, insanlardaki karaciğer sirozuna benzemektedir (4). Reaktif bileşiklerin veya metabolitlerinin toksisitesi, DNA, protein, lipid ve karbohidrat gibi önemli hedef moleküllerle kovalent olarak bağlanmaları (primer) veya sekonder ilişki yoluyla (lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen türevleri oluşumu) hedef moleküllerde değişiklik oluşturmaları sonucunda ortaya çıkar (34). Karbon tetraklorür toksisitesi biyokimyasal ve hücre organelleri düzeyinde kendini gösterir. Karaciğer hepatositlerine ait endoplazmik retikulum, plazma membranı, mitokondri ve Golgi aygıtı, CCl_4 uygulaması sonucu etkilenen temel hücresel yapılardır (34, 38).

Karbon tetraklorür'ün karaciğer hasarı oluşturma mekanizması, karaciğer mikrozomlarında sitokrom P450-2E1 vasıtasıyla metabolize edildikten sonra triklorometil radikaline (CCl_3) dönüştürülmesi ile başlar (34, 38). Bu serbest radikal O_2 varlığında oldukça yüksek reaktif derivatı olan triklorometilperoksi radikaline (CCl_3OO) dönüşür. Bu radikal, CCl_3 radikalinden daha reaktiftir ve yarı ömrü daha kısadır. CCl_3OO poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek son ürünü malondialdehit (MDA) olan lipid peroksidasyonunu başlatır (39). Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünlerden olan reaktif aldehytler toksik etkili olmakla birlikte enzim inhibisyonu, DNA hasarı ve lipoprotein salgılanmasının engellenmesine neden olarak karaciğer hasarının ilerlemesine katkıda bulunurlar (2, 5, 34, 38). Karbon tetraklorür; karaciğerde hidropik dejenerasyon, yağlanma ile hepatosellüler zon 3 nekrozu yapar (34, 35). Yüksek doz veya uzun süreli CCl_4 uygulamalarında, steatozis (yağlı dejenerasyon), fibrozis, siroz ve hatta kanser gibi daha ciddi ve kalıcı etkiler ortaya çıkar (2, 34-36).

Karbon tetraklorür'ün CCl_3 radikaline aktivasyonunu çeşitli reaksiyonlar takip etmektedir. Bunlar sırasıyla; (a) CCl_3 çeşitli radikal süpürücüler ile uzaklaştırılır, (b) çeşitli hücresel moleküllere kovalent bağlanma reaksiyonları, (c) hidrojen-çıkarma reaksiyonları, (d) oksijen ile bağlanması sonucu daha reaktif tür olan CCl_3OO radikali oluşması ve PUFA ile etkileşerek lipid peroksidasyonunu başlatması, (e) CCl_3OO 'nin CO_2 'ye yıkılması reaksiyonları, (f) CCl_3 karben ara ürünü üzerinden CO oluşturmaları olarak ifade edilmiştir (38), (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. CCl₄'ün metabolizması (38).

2.2.3. Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonu

Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya ilavesiyle oluşan ve başka moleküler ile çok kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan atom veya moleküllere serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri adı verilir (40, 41). Serbest radikaller vücutta sürekli olarak oluşturulan ve antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılan moleküllerdir. Bu dengenin bozulması durumunda artan serbest radikaller hücre hasarı oluştururlar ve bu olaya oksidatif stres adı verilir (28). Oksidatif stresin miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (42, 43). Serbest radikaller normal metabolik olaylar sırasında meydana gelebildikleri gibi çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler (44). Ekzojen kaynaklar; endüstri artıkları, güneş ışınları, ağır metaller, ilaçlar, alkol, patojenik bakteri ve virustardır (45). Endojen kaynaklar ise; mitokondriyal elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum, Redoks döngüsü, araşidonik asit metabolizması, fagositik hücreler (monosit ve makrofaj, nötrofil, eozinofil) ve endotel hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantofil oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (42, 44).

Vücutta üretilen radikaller zararlı etkilerinin yanında vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynarlar (1). Steroid yapıdaki çok sayıda bileşiğin üretimi, eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, çok sayıda oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin

etkileri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için serbest radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (41, 42).

Biyolojik sistemlerdeki radikaller; oksijen kaynaklı serbest radikaller (süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil, hipokloröz asit, singlet oksijen), karbon kaynaklı serbest radikaller (triklorometil peroksil radikali), nitrojen kaynaklı serbest radikaller (nitrik oksit, fenilhidrazin radikali, sülfür kaynaklı serbest radikaller (tiyol bileşikleri), geçiş metal kompleksleri, fosfor kaynaklı radikaller (lipid peroksidasyonuna sebep olarak hepatotoksik etki gösterirler) olmak üzere sınıflandırılabilirler (46).

Hücre membranı serbest oksijen radikalleri ile hızla reaksiyona girebilen çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) oldukça zengindir. Bu yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona sebep olarak bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde rol oynarlar. Lipid peroksidasyonu, zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece zar lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (42, 47).

Lipid peroksidasyonu oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılan önemli bir indikatördür. Biyolojik sistemlerde lipidlerin otooksidasyonuna neden olan zincir reaksiyon; inisiasyon, propagasyon ve terminasyon olarak tanımlanan üç fazdan oluşur. Lipid peroksidasyonu kendini tetikleyerek yeniden lipid radikalleri ve peroksitleri oluşturmaktadır. Lipid peroksitlerin konsantrasyonları arttıkça membranların akışkanlıkları azalır ve kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişi kolaylaşır ve nihayet hücre fonksiyonlarında bozukluklar ortaya çıkar (48).

2.2.3.1. Nitrik oksit

Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türevlerinin en önemlisi olan nitrik oksit, L-arjinin ve oksijenin NO sentetaz ile reaksiyonu sonucu oluşan ve ilk kez 1980'lerin sonunda belirlenen biyolojik bir üründür (49). NO birçok memeli hücre ve dokusunun fonksiyonlarını düzenlemede rol almaktadır (50). Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlıyken NO düşük konsantrasyonlarda damar tonusunun kontrolünde, trombosit agregasyonunda, lökosit adezyonunda, hücre aracılı

immün sitotoksitesinde, sinaptik geçirgenlikte sinyal molekülü olarak çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır (49, 51). Havadaki NO, kısa sürede O₂ ile oksitlenerek nitrojen dioksit (NO₂) dönüşür. NO₂ dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir (51).

2.2.3.2. Malondialdehit

Lipid peroksidasyonu ürünleri olan lipid peroksitleri, hidroperoksitleri ve aldehytleri membran yapısını doğrudan, diğer hücresel bileşenleri ise aldehid üreterek dolaylı yoldan zarara uğratar ve membran yapısının bozulması sonucu malondialdehit (MDA) oluşur (52). Üç karbonlu bir ketoaldehid olan MDA normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur, daha sonra krebs siklusu ile CO₂'e indirgenerek atılır. Fakat aşırı lipid peroksidasyonunda MDA konsantrasyonu artar ve dokulara hasar verir (51). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA doku reaksiyon zincir hızının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksidin parçalanması sonucu oluşur. MDA, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (53). Prostaglandin biyosentezinin bir ürünü ya da oksidatif stres esnasında bazı makromoleküllerin iyonizan radyasyon ile *invivo* yıkımlanması ile oluşan MDA, çeşitli doku elemanları ile kompleks halde ya da serbest bir formda bulunabilir (50).

2.3. Antioksidanlar

Serbest radikal zincir reaksiyon oluşumunu engelleyerek lipid peroksidasyonu sürecini yavaşlatan antioksidanların tanımlanması son yıllarda önem kazanmıştır. Antioksidanlar endojen (organizma tarafından sentezlenen) ve eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi; serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek savunma mekanizmasında rol oynayan antioksidanlar; enzimatik yapıda olabilecekleri gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler (45, 54).

Canlı sistemlerde antioksidan mekanizmaların çeşitliliği reaktif oksijen türleri ile savaşmada önemli rol oynar (55, 56). Antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD),

katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimleri kodlayan gen ekspresyonunu arttırarak endojen savunma düzeyini yükseltebilirler (45, 56). Epidemiyolojik çalışmalar yüksek fenolik içerikli meyve ve sebze tüketiminin kardiyovasküler-serebrovasküler-karaciğer hastalıkları, kanser ve ölümün azaltılmasıyla bağlantılı olduğunu göstermektedir (57, 58). Fenolik bileşenler faydalı etkilerini serbest radikalleri temizleyerek ortaya koyarlar. Son birkaç senede antioksidan fenolik bileşenlerin besinsel kaynaklarla bağlantılarının belirlenmesine büyüyen bir ilgi söz konusudur (59).

2.3.1. Nar (*Punica granatum*)

Anavatanı Ortadoğu, Anadolu ve Kafkasya ile İran körfezi arasında kalan bölge olup binlerce yıldır üretimi ve tüketimi yapılan ve Punicaceae familyasında yer alan nar (*Punica granatum*), pek çok ülkede halk sağlığında yaygın olarak kullanılmaktadır (60, 61). Ülkemizde Güney Doğu Anadolu Bölgesinden Doğu Karadeniz'e kadar, çok soğuk yöreler dışında, hemen her bölgede üretimi yapılabilen nar genellikle sıcak ve kurak iklim bölgelerinde yetiştirilmektedir (62), (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Nar (*Punica granatum*)'ın görünümü (63).

Nar meyvesi iri, küresel, üstten hafif basık bir şekle sahiptir. Olgunlukta 5-14 cm çapında olan kaliks segmentleri tarafından taçlanır. İçi tohumla dolu olup, derimsi yapıda bir kabukla kaplıdır. Kabuk 1-5 mm kalınlığında beyazımsı, sarı yeşil veya kırmızı renklidir. Meyvenin yenen kısmı danelerden oluşur. Daneler zar şeklinde kabuk uzantılarıyla ayrılmış odacıklara yerleşmiştir. Sapa bağlanan kısımda bir göbek, sonrasında 2-5 adet alt odacık ve 5-8 adet üst odacık bulunur. Odacıkları ayıran zar kısımlarında kabuk daha ince, alt ve üstte daha kalın ve etli yapıdadır. İnce bir zar, pulp ve tohumdan meydana gelen daneler bu etli kısma gömülü durumda bağlı bir şekilde bulunmaktadır. Renkleri beyaz-sarıdan pembe kırmızı ve koyu kırmızı mora kadar değişir. Tohumlar köşeli ve serttir (64).

Son on yıl içerisinde, narın farmakolojik mekanizmalarının tanımlanmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu nar ağaç yapraklarının, kökünün ve kabuğunun, en az meyvenin diğer bölümleri kadar terapötik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (61, 65-67). Nar suyu ve kabuğu çeşitli antioksidan içeriklere sahipken nar yağı düşük oranda östrojeniktir. Su, kabuk ve yağın, tümör hücre proliferasyonunu, hücre siklusunu, invazyon ve anjiyogenezi engelleyerek kansere karşı etkin bir aktivite gösterdikleri kaydedilmiştir (65). Nar suyunun, çekirdek yağının, kabuğunun ya da çiçek özütü ve türevlerinin bakteri ve virüsler, vasküler hastalıklar, diyabet ve kanserle mücadelede etkin özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (66). Ayrıca kabuk ve kökünün anthelmentik özellikte olduğu da mevcut çalışmalar ile desteklenmiştir (65, 66).

Taze nar suyunda düşük oranlarda pektin, askorbik asit ve flavonoidler bulunmaktadır. Nar suyu çözülebilir polifenolik içeriği, antosiyaninler, kateşinler, ellagic taninler, gallik ve ellagik asitler içermektedir (60, 64, 66). Ellagic asit ve gallik asit, hidrojen peroksit ve superoksit anyonlarının düzeylerini düşürmekte ve lipid peroksidasyonunu ve enzim inaktivasyonunu engelleyerek serbest radikal temizleyici etkilerini göstermektedir (58, 66). Kırmızı meyvelerde bulunan antosiyanidinler güçlü aktivitelerini sırasıyla delphinidin, cyanidin ve pelargonidin ile göstermektedirler (68). Delphinidin-3,5-diglucoside nar suyundaki asıl antosiyanindir (69). Spektrometrik gözlemler, nar taze su içeriğinin yaklaşık olarak % 0.06 delphinidin içerdiğini göstermektedir. Bu nedenle narın bahsedilen etkisi, nar suyunun ana bileşiği olan delphinidin-3,5-diglucoside içeren delphinidine ve kısmen tohum kabuğunda bulunan siyanidine bağlıdır (69, 70). Delphinidin, cyanidin, ve pelargonidin ratların beyin homojenatlarında H₂O₂'nin sebep

olduğu lipid peroksidasyonunu sırasıyla delphinidin > cyanidin > pelargonidin şeklinde engellemiştir. Nar suyunun ana bileşeni olan delphinidin narın H_2O_2 lipid peroksidasyonunu önleyici etkisine katkıda bulunan asıl bileşeni olduğu bildirilmiştir (69, 70). Nar suyu *in vivo* ortamda güçlü bir anti-atherojenik etki göstermektedir (57, 71, 72). Bunun yanında nar suyundaki antosiyanidinlerin antioksidan ve serbest radikal temizleyici etkisi de bulunmaktadır (57, 65, 66, 71, 72).

Nar antosiyanidinler açısından zengin bir kaynaktır. Delphinidin-3,5-diglucoside, nar suyundaki esas antosiyanidindir. Nar tohumu kabuğu; delphinidin-3 glucoside, delphinidin-3,5-diglucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3,5 diglucoside, pelargonidin-3-glucoside ve pelargonidin-3,5-diglucoside içermektedir. Epidemiyolojik çalışmalar flavonoid alımının meyve ve sebzelerde bulunan bir grup polfenolik bileşik-kardiyovasküler hastalıklar, yangı ve diğer hastalıkları önlediğini göstermektedir. Narın kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, dişlere ait sorunlar, erektil disfonksiyonların engellenmesi ve UV ışınlarından korunmayı sağladığı belirtilmektedir (65, 66). Bunun yanında nar, infant (bebek) beyin işlemisi, Alzheimer hastalığı, erkek infertilite sorunlarını, artrit ve obeziteye karşı da etkili bir tedavi edici özelliğe sahiptir. Flavonoidlerden flavan-3-ol dışındakiler ve karboksil grubunda C halkası içermeyerek yapısal farklılık gösteren antosiyanidinler, lipozom membranlarındaki veya hücrelerdeki lipid peroksidasyonu engellemektedirler (57, 65, 66, 71, 72). Nar bitkisinin çeşitli kısım ve kimyasal içerikleri tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Nar bitkisinin çeşitli kısımları ve kimyasal yapısı (61).

Bitki Bileşeni	Kimyasal Bileşenler
Nar suyu	Antosiyaninler, glikoz, askorbik asit, ellagik asit, kateşin, kuersetin, çok sayıda mineral, demir, aminoasitler
Nar çekirdeği yağı	% 95 punisik asit, yağ asitleri, streoller, ellagik asit
Nar meyve örtüsü (kabuk ve iç zarlar)	Fenolik maddeler, gallik asit ve diğer yağ asitleri, kateşin, kuersetin, antosiyanidler, flavanoller
Nar yaprağı	Taninler (punikalin ve punikafolin), flavon glikozidleri
Nar çiçeği	Gallik asit, ursolik asit, tritepenoidler, diğer isimlendirilmemiş bileşikler
Nar kabuk ve kökü	Ellagitanninler, çok sayıda piperidin alkaloidleri

Nar çekirdeği yağı (NÇY) toplam çekirdek ağırlığının % 12-20'sini içermektedir. Yağ, konjuge linolenik asit ve takiben linoleik asit, oleik asit, stearik asit ve palmitik asit bakımından yüksek bir içeriğe sahiptir. NÇY'de yaklaşık % 64-95 oranında bulunan punisik asit (trikosanik asit) uzun zincirli doymamış yağ asitidir. Bu maddenin narın antikanserojen etkileri ile ilgili olduğu bilinmektedir (61, 73, 74). Bitkisel steroller de (beta-sitosterol, kampesterol, stigmasterol) NÇY'de yüksek miktarda (4089-6205 mg/kg) bulunmaktadır (75). Fare ve ratlar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalar, soğuk preslenmiş NÇY'nin tümör oluşumunu, tümör insidensini ve çoğalışını düşürme yeteneğini olduğunu göstermiştir (56, 72).

Nar ekstraktı süperoksit radikalleri için güçlü temizleyici bir etkiye sahiptir. Bu etkisinin moleküler bileşenlerinin göreceli olarak daha küçük olmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir ($MW < 10.000$), (68). Nar ekstraktı ve antosiyanidinleri etkili bir hidroksil radikal temizleyici etki göstermektedir (76). İn vitro deneysel koşullar altında nar ekstraktı ve antosiyanidinler nitrik oksit temizleyici bir etki göstermemektedir (67, 77).

Narın iyileştirici etkilerinin çeşitli mekanizmalara dayandırılmasına karşın pek çok araştırma özellikle narın antioksidan, antikarsinojenik ve anti-inftamatuvar etkilerine odaklanmıştır (57, 67).

Konjuge yağ asitlerini bünyesinde bulunduran, E vitamini içeriği oldukça yüksek olan narçiçeği yağı antioksidan polifenoller açısından da oldukça zengindir (61). Dört farklı test metodu kullanarak yapılan in vitro denemeler nar suyunun ve çekirdek ekstraktının, kırmızı şarap ve yeşil çaya göre 2-3 kat daha fazla antioksidan içeriğe sahip olduğunu göstermiştir (72). Nar ekstraktının hayvanlarda oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azalttığı ve serbest radikallerden temizlediği, yaşlı insanlarda ise plazma antioksidan seviyesini yükselttiği belirtilmiştir (57, 67). Ratlarda ve farelerde yapılan çalışmalar, nar suyu dışındaki tüm meyvelerinden yapılan nar yan ürün (PBP) ekstraktlarının antioksidan içeriklerinin, fare peritoneal makrofajlarında (MPM) oluşan oksidatif stresi % 19 oranında düşürdüğü, hücrel lipid peroksit içeriğini % 42 oranında azalttığını ve indirgenmiş glutasyon seviyesini % 53 oranında arttırdığını göstermiştir (76). İn vitro çalışmalar sonucu fermente nar suyu ekstraktının (FPJ) ve soğuk preslenmiş tohum yağı (CPSO) ekstraktının antioksidan kapasitesinin kırmızı şaraptan

daha fazla yeşil çay ile de benzer olduğunu gözlenmiştir (77). Diğer bir çalışmada, kurutulmuş nar kabukları metanol ile ekstrakte edilmiş ve bir grup rat bu ekstraksiyonla beslenirken diğer gruba CCl_4 uygulanmıştır. Daha sonra iki grubun karaciğer katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri kıyaslanmıştır. Tek doz (2 g/kg) CCl_4 uygulanan grubun CAT, SOD ve peroksidaz seviyelerinde sırasıyla % 81, 49 ve 89 oranında düşüş meydana gelirken lipid peroksidasyon değerlerinin 3 kat artış gösterdiği belirtilmiştir. Nar kabuğu ekstraktının 14 gün süresinde uygulanan ve son gün ilave olarak CCl_4 uygulaması yapılan grubun CAT, SOD, peroksidaz seviyeleri kontrol grubuyla kıyaslandığında lipid peroksidasyon değerlerini % 54 oranında azalttığı bildirilmiştir (12).

İnsanlar üzerinde yapılan bir araştırmada nar suyunun (pomegranate pulp juice, PPJ), elma suyuna göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. FRAP (ferric reducing/antioksidan power) testi kullanılarak sağlıklı yaşlı insanlara 4 hafta boyunca günlük 250 ml PPJ verilmiş ve sonucunda plazma antioksidan kapasitenin 1.33 mmol'den 1,46 mmol'e çıktığı belirtilmiştir. Elma suyunda ise antioksidan kapasitede önemli bir yükselme görülmediği kaydedilmiştir. Ayrıca plazma vitamin E, askorbik asit ve indirgenmiş glutasyon değerleri bakımından gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak araştırmacılar elde edilen sonuçlardan nar fenoliklerinin sorumlu olabileceği kanısına varmışlardır (78).

Günümüze kadar yapılan pek çok araştırmada narın antikanser mekanizmasına sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda nar meyvesi ekstraktı verilen prostat kanserli farelerde (pomegranate fruit extract, PFE) hücre büyümesinin engellendiği ve proteinlerin düzenlenerek apoptozisi başlatıldığı gözlenmiştir (79, 80). Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar, nar bileşenlerinin, MCF-7 göğüs kanseri ve insan umbilikal ven hücre hattındaki vasküler endotel büyüme faktörünü, anjiyogenezisi azaltarak engellediğini de göstermiştir (81).

Yapılan çalışmalar sonucu soğuk preslenmiş nar çekirdek yağının in vitro, siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerinin her ikisini de engellediği gösterilmiştir (82).

Eski Hindistan'da "eczane" olarak tanımlanan nar meyvesi antik çağda çok çeşitli sistemlerin hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Bu kapsamda nar, eski çağlarda

antiparaziter, kanı sulandırıcı, aft, diyare ve ülserde iyileştirici olarak kullanılmıştır. Ayrıca Orta Doğu ve Hindistan’da diyabete çare amacıyla da tüketilmiştir (61, 65).

Nar ve bileşenleri, tedavi edici özellikleri nedeniyle prostat kanseri, diğer kanser tipleri, ateroskleroz, hiperlipidemi, hipertansiyon, karotid arter stenozu, myokardial perfüzyon, diyabet, dişe ait sorunlar (dental plak, periodontal hastalık, denture (protez damak), stomatitis, bakteriyel enfeksiyonlar, ultraviyole radyasyonu, erektil disfonksiyon, erkek infertilite, neonatal hipoksik-işemik beyin hasarı, alzheimer hastalığı gibi vakalarda kullanılabilmektedir (57, 62, 66, 67, 71, 72).

Nar meyvesi de dahil olmak üzere farklı tropikal meyvelerin sitokrom P450A üzerindeki etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada, söz konusu meyvelerin insan karaciğer mikrozomal enzimleri üzerinde baskılayıcı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (83).

Nar ve bileşenleri geçmişten günümüze hiçbir yan etki görülmeden güvenle tüketilmektedir. Tavuk embriyoları üzerinde yapılan bir çalışmada embriyolara 1, 2 ve 3 mg/mL dozunda nar ekstraktı uygulanmış ve sonuçlar amandatin ismi verilen ve Parkinson hastalığında kullanılan etken maddenin uygulandığı diğer grupla ve sadece su verilen kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Ölüm oranının kontrol grubuyla benzer olması sebebiyle verilen dozların toksik bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir (84). Diğer bir çalışmada sarıağaç olarak bilinen ve güney yarım kürede sıklıkla rastlanan bir ağaç türünün yapraklarıyla ruminantlarda meydana gelen zehirlenmelerde söz konusu ağacın karaciğerde lezyonlar oluşturduğu ve bu vakalarda uygulanan nar meyvesinin kimyasal yapısında da mevcut olan punikalasinin oral olarak verildiği durumlarda intraperitoneal uygulamalara kıyasla 20 kat daha fazla toksisite oluşturduğu gözlenmiştir (85).

2.3.2. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Dünyanın birçok yerinde yetişmesine rağmen en çok Akdeniz ülkelerinde ve Türkiye’de (genellikle 1500 m yükseklikte) de yetişen Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), Lamiaceae familyasında yer alan aromatik bir bitkidir (Şekil 2.4). Eski Yunan ve Romalılar tarafından hem mutfakta hem de tıbbi tedavi amaçlı olarak kullanılan biberiye aynı zamanda “bağlılık” sembolü olarak da kabul edilmiş ve düğün

törenlerinde gelin tacına takılmıştır. Terapi etkisi antik çağlardan beri bilinmekle birlikte daha çok hasta odalarında yakılmak suretiyle havanın temizlenmesinde kullanılmıştır (86).



Şekil 2.4. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)'nin görünümü (87).

Yapısındaki uçucu yağdan kaynaklanan hoş a giden aromasından dolayı, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde yaygın olarak kullanılan, Fransa'nın güney bölgesinden başlayarak, ülkemizin de dahil olduğu bir kuşak üzerinde ve Afrika'nın kuzeyinde yer alan ülkelerden Tunus ve Cezayir kıyılarında, doğal olarak bir yayılım gösteren, Akdeniz ülkeleri ile ABD ve İngiltere'de üretilen ve süs bitkisi olarak yetiştirilen biberiye ülkemizde kuşdili, hasalban, akpüren adlarıyla da bilinmektedir.

Biberiye; 50-150 cm boyunda, çalı görünümünde, kış aylarında yaprağını dökmeyen, bir eksen üzerinde salkım halinde bulunan çiçekleri soluk mavi renkli, sapı lifli, küçük ince narin, açık veya koyu yeşil yapraklı, yaprak arkası kül renkli ve tüylü olan çok yıllık bir bitkidir. Genellikle maki florası içinde bulunan bu tür Güney ve Kuzey Anadolu ve adalarda yaygın olarak yetişir. Mersin ve Adana yöresinde maki florası içinde, orman içi boşluklarda, tarla ve üzüm bağı kenarlarında, özellikle de koruma altındaki ağaçlandırma sahaları içinde yayılım göstermektedir (86). Çanakkale (Erenköy), İçel (Tarsus), Yüreğir (Mustafalar Köyü) ve Hatay (İskenderun)'da süs bitkisi amacıyla yetiştiriciliği yapılmaktadır (88).

Kozmetik endüstrisinde kolonya, losyon ve şampuan yapımında da kullanılan biberiye ayrıca kabızlığa karşı, sindirim sistemi uyarıcısı, safra artırıcı ve idrar söktürücü olarak kullanıldığı gibi yara tedavisinde, uçucu yağının ise romatizma ağrılarını dindirici olarak da kullanılabilir. Biberiye yaprağı tüm halde veya ufalanmış halde çorbalarda, güveçlerde, sosis, vb. balık ve tavuk yemeklerinde, lezzet verici olarak, uçucu yağı gıda maddelerinde de kullanılmaktadır (86, 88).

Doğal ürünlerden biri olan biberiye 30 yıldan beri doğal antioksidan ve antimikrobiyal olarak kullanılmakta olup aktif bileşenleri tespit edilmiştir (89, 90). Biberiyenin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi içerdiği yüksek fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Özellikle, monoterpenler (eterik yağlar), diterpen fenoller (karnosik asit, karnosol, rosmanol, apirosmanol, isorosmanol, metil karnosat), fenolik asitler (rosmarinik asit), flavanoller ve triterpen asitler (ursolik asit, oleanolik asit, bütilinik asit) biberiye ekstraktlarının etken maddelerini oluşturmaktadır (91-93). Ayrıca, biberiyenin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi ekstraktın elde ediliş yöntemiyle de ilişkilidir (94). Biberiye antioksidan içeriğine bağlı olarak çok geniş biyolojik aktiviteye sahiptir. Çok eski zamanlardan beri dünyanın her yerinde birçok rahatsızlığın tedavisinde bu bitkiden yararlanılmıştır. Ortaçağa ait birçok incelemede ve literatürde tıbbi bitki ve mucize ilaç olarak geçmektedir. En çok sindirimi kolaylaştırıcı, kan basıncını yükseltici, yara iyileştirici, spazm önleyici, ağrı kesici, solunum bozukluklarını rahatlatıcı, adet hızlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Çin’de baş ağrısı, uykusuzluk ve zihin yorgunluklarında önerilir. Hindistan’da antimigren ve gaz giderici özellikleri için kullanılır. Ekvator’da ise biberiye çiçekleri romatizmal ağrılarda bitkisel yağ içerisinde pişirilip sürülerek kullanılmaktadır (92, 94).

Biberiye, karaciğer koruyucu özelliğiyle dikkat çekmektedir. Deneysel akut karaciğer hasarı ve deneysel karaciğer sirozu üzerine yapılan çalışmalarda biberiyenin karaciğer koruyucu etkisi karnosik asit ve karnasolde bulunan diterpen bileşiğine bağlı olduğu gösterilmiştir (95). İzole edilmiş rat hepatositlerinde, biberiyenin sulu ekstraktının laktik dehidrogenaz ve aspartat aminotransferazın serbest bırakılmasını ve tert-butil hidroperoksitin sebep olduğu lipid peroksidasyonunun etkisini azalttığı gösterilmiştir (96).

Gianmario et al. (97) kroton yağı ile farelerin kulaklarında dermatitis oluşturmuş ve biberiyenin yangı giderici etkisini araştırmışlardır. Biberiyenin bahsedilen etkisinin CE-1 ekstraktında gözlemlemişlerdir. Asıl etkisinin CE-1 içinde bulunan triterpen içeriğinden kaynaklandığını ve ursolik, oleanolik ve mikromerik asitlerin yangı giderici asıl bileşenler olduğunu bildirmişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Nar çekirdeği Yağı (*Punica granatum*)

Çalışmada kullanılan NÇY (Şeki 3.1), ticari olarak Bükaş firmasından temin edilmiş olup, bileşenleri Tablo 3.1.'de gösterildi.

Tablo 3.1. Nar çekirdeği yağının yağ asidi bileşimi.

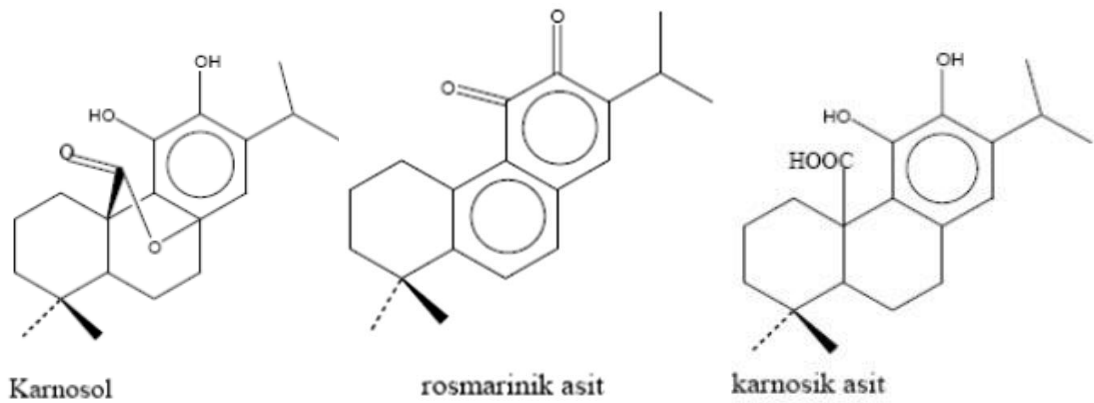
Yağ Asitleri Kompozisyonu	
Yağ Asitleri	Bileşim (%)
Miristik Asit	0,09
Palmitik Asit	3,29
Palmitoleik Asit	0,12
Margarik Asit	0,05
Stearik Asit	2,13
Oleik Asit	8,66
Linoleik Asit	5,81
Linolenik Asit	0,06
Araşidik Asit	0,42
Ekosenoik Asit	0,70
Punicic Asit	78,67
TOPLAM	100



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan Nar çekirdeği yağının ticari ambalajının görünümü.

3.1.2. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Çalışmada aktif etken madde yüzdeleri % 4 karnosik asit, % 5 rozmarinik asit ve % 6 karnosol olarak bildirilen biberiye ekstraktı, ticari olarak Biomesi Ar-Ge firmasından temin edildi (Şekil 3.2; 3.3).



Şekil 3.2. Biberiye ektratında bulunan aktif bileşenlerin kimyasal yapısı (92).



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan Biberiye ekstraktının görünümü.

3.1.3. Deneyde Kullanılan Hayvanlar

Araştırma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (EÜ HADYEK) onayı alındı. Çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)’nden temin edilen 200-250 g ağırlığında, 120 adet Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar, her kafeste beş rat olacak şekilde, pelet yem ile *ad libitum* olarak beslenerek araştırma merkezinin sahip olduğu uygun şartlar altında [(kontrollü sıcaklık ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$), nem ($\%50 \pm 5$), hava değişimi (saatte 12 devir), sıcaklık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık)] barındırıldı (Şekil 3.2, Şekil 3.3).



Şekil 3.4. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nin uygun şartları altında barındırılan ratlar.



Şekil 3.5. Kafes içinde beş adet pelet yem ile *ad libitum* olarak beslenen ratlar.

3.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Ethanol % 96 (Merck, 100971)
2. Ethanol absolute $\geq$ % 99.8 (Sigma, 32221)
3. Xylene (Merck, 108681)
4. Hematoksilin Harris (GBL,2828)
5. Formaldehyde sol. (Merck, 104002)
6. Parafin (Thermo Shandon, 6774060)
7. Eosin-G sol. (Merck, 109844)
8. Entellan (Merck, 107961)
9. Karbon tetraklorür (Merck, 102222)
10. Hidroklorik asit (Merck, 100314)
11. Triklorasetik asit (Merck 100807)
12. 2-tiyobarbitürik asit (Merck 108180)
13. Sodyum di-hidrojen fosfat (Merck 106576)
14. Sodyum klorür (Merck 116224)
15. Potasyum klorür (Merck 104935)
16. Sodyum karbonat (Merck 106398)
17. Potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104871)
18. Sodyum bikarbonat (Merck, 106323)

19. n-Butanol (Aldrich 270679)

20. 1.1.3.3. tetraetoksipropan (Sigma, T 9889)

3.1.5. Kullanılan Cihazlar

1. UV-VIS Spektrofotometre (Thermo Helios Alfa)

2. Santrifüj (Heraus)

3. Santrifüj (Nüve NF 800R)

4. Vorteks (Heidolph Reaxtop)

5. Hassas terazi (Sartorius BP 121 S)

6. Deiyonize su cihazı (Elektro Mag)

7. Su banyosu (Nüve BM402)

8. Otomatik karıştırıcı (IKA HS 260 Basic)

9. Mikrotom (Leica RM2125RT)

10. Etüv (Nüve EV500)

11. Buzdolabı (Vestel BZP-L2303 WCP)

12. Parafin su banyosu (LipShaw)

13. Otoanalizatör (Abbott-Architect)

14. Otomatik doku takip cihazı (Leica TP 1020)

15. Işık mikroskobu (Olympus BX51)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Planı

Akut çalışmada, 60 adet (200-250 g) Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Her grupta 10 hayvan olmak üzere 6 grup oluşturuldu. İlk grup kontrol olarak belirlendi ve % 0.9 NaCl (1.0 mL/kg/canlı ağırlık); ikinci ve üçüncü gruplara dört hafta boyunca her gün sırası ile 0,15 mL/kg/canlı ağırlık dozunda NÇY ve 200 mg/kg/canlı ağırlık dozunda BE gavaj ile verildi. Dördüncü gruba intraperitoneal (ip) 1.0 mL/kg/canlı ağırlık CCl₄ ilk hafta, haftada iki kere; beşinci ve altıncı gruplara, ilk hafta iki kez CCl₄ ip enjeksiyonu ile eş zamanlı başlanarak dört hafta boyunca her gün sırası ile 0,15 mL/kg/canlı ağırlık dozunda NÇY ve 200 mg/kg/canlı ağırlık dozunda BE gavaj ile verildi (Tablo 3.2), (Şekil 3.4).

Tablo 3.2. Akut çalışmada oluşturulan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.

GRUPLAR	Uygulanan maddeler	Uygulanan Doz*	Uygulama	
			Şekli	Süresi (gün)
Grup 1 (Kontrol)	% 0.9 NaCl	1.0 mL/kg	<i>ip</i>	7
Grup 2 (NÇY)	NÇY /mısıryağı	0,15 mL/kg	<i>gavaj</i>	30
Grup 3 (BE)	BE/ mısır yağı	200 mg/kg	<i>gavaj</i>	30
Grup 4 (CCl ₄)	CCl ₄ /mısıryağı	1.0 mL/kg /1.0 mL/kg	<i>ip</i>	2
Grup 5 (CCl ₄ +NÇY)	CCl ₄ /mısıryağı	1.0 mL/kg/1.0 mL/kg	<i>ip</i>	2
	NÇY/ mısıryağı	0,15 mL/kg	<i>gavaj</i>	30
Grup 6 (CCl ₄ +BE)	CCl ₄ /mısıryağı	1.0 mL/kg/1.0 mL/kg	<i>ip</i>	2
	BE /mısıryağı	200 mg/kg	<i>gavaj</i>	30
*: mg (mL) madde/mL çözücü/kg rat ağırlığı/gün				



Şekil 3.6. Gavaj ve intraperitoneal uygulamalar.

Kronik çalışmada 60 adet (200-250 g) Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Her grupta 10 hayvan olmak üzere 6 grup oluşturuldu. İlk grup kontrol olarak belirlendi ve on iki hafta süre ile her gün 0,2 mL/kg/canlı ağırlık, % 0.9 NaCl; ikinci ve üçüncü gruplara on iki hafta boyunca her gün sırası ile 0,15 mL/kg/canlı ağırlık dozunda NÇY ve 200 mg/kg/canlı ağırlık dozunda BE gavaj ile verildi. Dördüncü gruba on iki hafta boyunca haftada iki kere 0,2 mL/kg/canlı ağırlık dozunda CCl₄ ip olarak enjekte edildi. Beşinci ve altıncı gruplara, on iki hafta boyunca haftada iki kere 0,2 mL/kg/canlı ağırlık dozunda CCl₄ enjeksiyonu ile eş zamanlı olarak on iki hafta boyunca her gün sırası ile 0,15 mL/kg/canlı ağırlık dozunda NÇY ve 200 mg/kg/canlı ağırlık dozunda BE gavaj ile verildi. (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Kronik çalışmada oluşturulan deney grupları ve bu gruplara yapılan uygulamalar.

GRUPLAR	Uygulanan maddeler	Uygulanan Doz*	Uygulama	
			Şekli	Süresi(gün)
Grup 1 (Kontrol)	% 0.9 NaCl	0,2 mL/kg	<i>ip</i>	12 hafta
Grup 2 (NÇY)	NÇY /mısıryağı	0,15 mL/kg	<i>gavaj</i>	12 hafta
Grup 3 (BE)	BE/mısır yağı	200 mg/kg	<i>gavaj</i>	12 hafta
Grup 4 (CCl ₄)	CCl ₄ /mısır yağı	0,2 mL/kg/0,2 mL/kg	<i>ip</i>	Haftada 2 kez/12 hafta
Grup 5 (CCl ₄ +NÇY)	CCl ₄ /mısır yağı	0,2 mL/kg/0,2 mL/kg	<i>ip</i>	Haftada 2 kez/12 hafta
	NÇY/ mısır yağı	0,15 mL/kg	<i>gavaj</i>	12 hafta
Grup 6 (CCl ₄ +BE)	CCl ₄ /mısır yağı	0,2 mL/kg/0,2 mL/kg	<i>ip</i>	Haftada 2 kez/12 hafta
	BE /mısır yağı	200 mg/kg	<i>gavaj</i>	12 hafta
*: mg (mL) madde/mL çözücü/kg rat ağırlığı/gün				

3.2.2. Dozların belirlenmesi

Ratlarla yapılan çalışmalarda kullanılan CCl₄'ün tek doz (9, 98-100), iki doz (101), haftada üç gün (102), bir ay (103), elli gün ve üç ay süreyle haftada iki kez (104) gibi uygulandığı süre bakımından farklılıklar gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda CCl₄, deney hayvanlarına intragastrik sonda (98, 104), *ip* (100, 101) veya *sc* (102, 103) enjeksiyon gibi farklı şekillerde uygulanmıştır. Bu uygulamalar; zeytinyağı (98, 100), ayçiçek yağı (103), mısırozü yağı (100, 104, 105) gibi farklı çözücülerle yapıldığı gibi; uygulanan CCl₄ dozu da, 0,2 mL/kg -10 mL/kg (13, 105-108) gibi geniş bir aralık içinde değişmiştir.

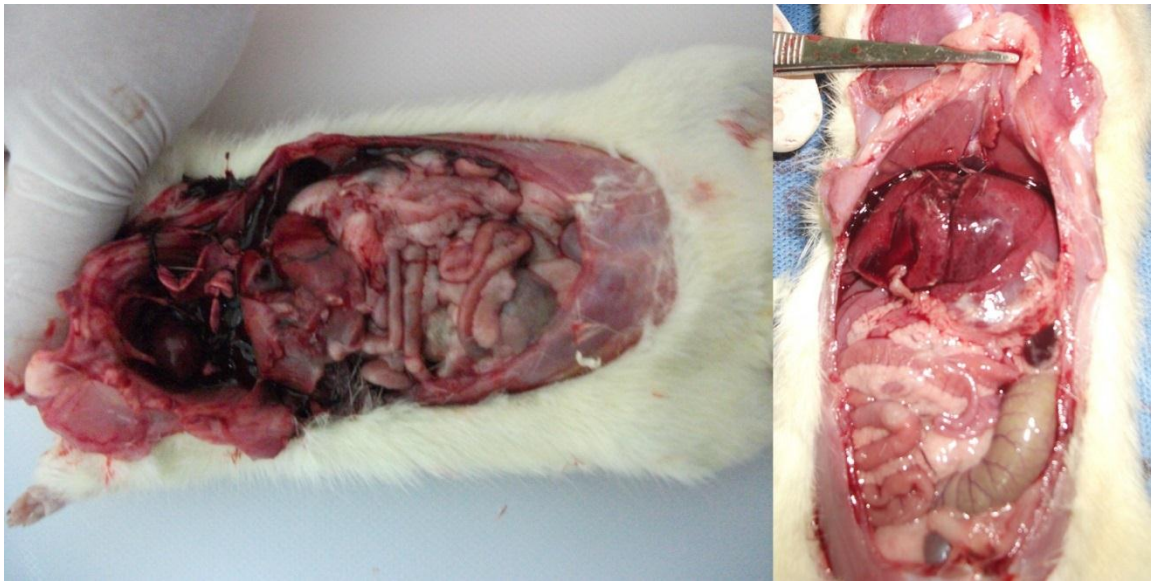
Yapılan çalışmalar dikkate alınarak, akut çalışmada (105, 106, 109) 1:1 oranında mısır yağı ile dilüe edilen iki doz CCl₄, rat başına 1 mL/kg olacak şekilde *ip* olarak

uygulanırken, kronik çalışmada ise 1:1 oranında mısır yağı ile dilüe edilen CCl_4 haftada iki kere üç ay süre ile rat başına 0,2 mL/kg olacak şekilde (110), ip olarak uygulandı ve daha önce yapılan çalışma sonuçları (100, 101, 104, 105, 110) ile uyumlu olarak hepatotoksisite oluşturuldu.

Çalışmadaki NÇY dozu Sarıca Soyer Z (111), BE dozu ise Gutierrez et al. (13) ve Sotelo-Felix et al. (112)'ın yapmış oldukları çalışmaların sonuçlarına göre seçilmiştir.

3.2.3. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması

Akut ve kronik çalışma gruplarındaki ratlar son uygulamadan 24 saat sonra intramusküler 80 mg/kg ketamin (Ketalar, 50 mg/mL, Pfizer) ve 12 mg/kg ksilazin (Rompun, 20 mg/mL, Bayer) (113) ile ip anestezi sağlandıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Daha sonra ratların göğüs ve karın boşlukları açılıp, intrakardiyak kan örnekleri alınarak sistemik nekropsileri yapıldı (Şekil 3.5). Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar, biyokimyasal analizler yapılincaya kadar $-20^{\circ}C$ 'de saklandı. Alınan tüm doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeler için % 10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna (Formaldehit 100 cc; Çeşme suyu 900 cc; NaH_2PO_4 H_2O_4 g; Na_2HPO_4 6.5 g) konuldu (114). Karaciğer dokusunun bir kısmı MDA ve NO analizleri için çalışma gününe kadar $-80^{\circ}C$ 'de saklandı.



Şekil 3.7. Sistemik nekropsi yapılan ratlar.

3.2.4. Histopatolojik İnceleme

Tamponlanmış nötral formaldehit ile tespit edilen karaciğer ve diğer organlara (beyin, akciğer, kalp, böbrek, dalak, mide, ince ve kalın bağırsaklar) ait doku örnekleri 48 saat sonunda trimleme işlemini takiben çeşme suyunda yıkandıktan sonra Leica TP 1020 otomatik doku takip cihazında aşağıdaki doku takip basamaklarından geçirildi (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Doku takip yöntemi.

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	% 70 alkol	1 saat
2	% 80 alkol	1 saat
3	% 96 alkol	1 saat
4	% 96 alkol	1 saat
5	% 96 alkol	1 saat
6	Absolü alkol	1 saat
7	Absolü alkol	1 saat
8	Absolü alkol	1 saat
9	Ksilen	1 saat
10	Ksilen	1 saat
11	Parafin I	2 saat
12	Parafin II	2 saat

Doku takip işlemleri tamamlanan karaciğer ve diğer organlara (beyin, akciğer, kalp, böbrek, dalak, mide, ince ve kalın bağırsaklar) ait doku örnekleri parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 5 µm kalınlığında kesitler lamlara alındı. Kesitler 1 saat 60°C etüvde bekletilerek parafinin erimesi sağlandıktan sonra Hematoksilen-Eosin (HxE) boyama yöntemleri (114) uygulandı. (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.

Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dak
2	Ksilen-II	15 dak
3	Absolu alkol-I	10 dak
4	Absolu alkol-II	10 dak
5	% 96 Alkol	10 dak
6	% 80 Alkol	10 dak
7	% 70 Alkol	10 dak
8	% 50 Alkol	10 dak
9	Akarsu	5 dak
10	Hematoksilen	7-8 dak
11	Akarsu	5 dak
12	Eozin	4-5 dak
13	Akarsu	5 dak
14	% 50 Alkol	10 dak
15	%70 Alkol	10 dak
16	% 80 Alkol	10 dak
17	% 96 Alkol	10 dak
18	Absolu alkol-I	10 dak
19	Absolu alkol-II	10 dak
20	Ksilen-I	15 dak
21	Ksilen-II	15 dak
22	Kapatma	

Gruplardaki her bir ratın karaciğer ve diğer organlarından oluşturulan bloklardan kesitler alındı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 ışık mikroskobunda incelenerek, hasar dereceleri skorlandı. Hazırlanan preparatların fotoğrafları Olympus marka fotoğraf makinası ile çekilerek kaydedildi.

3.2.5. Karaciğer Hasar Skorum Yöntemi

Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde hepatositlerde yağlanma, yangı, nekroz ve fibrozis semikantitatif olarak değerlendirildi. Semikantitatif yöntemde, her karaciğer için her bir kesitte 10 farklı alanda, sözü edilen her bir hasar parametresi ikişer patolog tarafından skorlandı ve grup içerisinde ortalama yüzdelik değerleri hesaplandı. Yağlanma eğer karaciğer hücrelerinin % 33'ünden az ise 1 (hafif), % 33-66 arası ise 2 (orta) ve % 66'dan fazla ise 3 (şiddetli) olarak kabul edildi. İnflamasyon, nekroz ve fibrozis 0-3 arasında derecelendirildi (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3) (115, 116), (Tablo 3.6). Her bir grupta elde edilen değerler istatistiksel olarak değerlendirildi ve gruplar arasındaki istatistiksel önem kaydedildi.

Tablo 3.6. Karaciğerde hasar skorum tablosu.

SKORLAMA TABLOSU				
	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Yangı	0	1	2	3
Yağlanma	0	1	2	3
Nekroz	0	1	2	3
Fibrozis	0	1	2	3

3.2.6. Biyokimyasal Analiz

Alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika Heraeus marka santrifüj ile santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve analiz için -20°C'de saklandı. Serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), glikoz, trigliserid, total kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), total protein, albümin analizleri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Merkez Laboratuvarı, Klinik Biyokimya bölümünde Abbott-Architect marka otoanalizör ile yapıldı.

3.2.7. Doku Homejenatlarının Hazırlanması

Çıkarılan karaciğer doku örnekleri homojenize edilmeden önce tartıldı ve falkon tüplerine etiketlenerek konuldu. 1 g doku alındı ve 1/5 oranında tampon (140 g KCl, 10

g NaHCO_3 , 3 g KH_2PO_4 ve 2 g $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$); (950 mL deiyonize suda NaHCO_3 çözülürken 5 N NaOH ile pH'sı 7.2'ye ayarlandı ve 1000 mL'ye tamamlandı) ilave edilerek buzlu ortamda 30 sn. 15 000 devirde mekanik homojenizasyonu gerçekleştirildi. Ardından 15 000 devirde 45 dk., +4 °C'de Sigma marka soğutucu santrifüj ile santrifüj edildi ve supernatantlar ependorflara alındı (117).

3.2.8. Lowry Metodu ile Protein Miktar Tayini

Karaciğer doku protein düzeyinin belirlenmesinde Lowry'nin metodunu (117) esas alan ve Miller tarafından modifiye edilmiş yöntem (118) kullanıldı. Bu metot ile proteinler alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona girerek folin reaktifi ile indirgenir. Bu sırada oluşan mavi rengin şiddeti ile protein konsantrasyonu arasında bir orantı vardır.

Süpernatanttan 50 μL alınarak deiyonize su ile 1 mL'ye tamamlandı. Ardından üzerine 1 ml bakır reaktifi eklendi ve 30 sn vortekslendi. 10 dakika süre ile karanlıkta beklemeye bırakıldı. 3 mL folin fenol reaktifi (1:10) eklendi ve tüpler 30 sn vortekslendi. Karışım 50 °C su banyosunda 10 dakika bekletildi. Şekillenen mavi renkli kompleksin absorbanşı 540 nm'de köre karşı Thermo Helios Alfa UV-VIS Spektrofotometre ile okundu.

3.2.9. Malondialdehit Tayini

Biyolojik sistemlerde oksidatif hasarın ölçülmesinde en yaygın olarak kullanılan teknik, lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA miktarının ölçülmesidir. Yöntemin esası peroksidasyon ürünü MDA'nın TBA ile oluşturduğu bileşiğin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır (119, 120). Mevcut çalışmada ölçümler için Yoshioka ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem (121) esas alındı. Ependorf tüpleri içine sırasıyla numune, kalibrasyon için kalibrasyon çözeltileri (0.5 mL numune tüpü), TCAA çözeltisi (3.0 ml kör tüpü; 2.5 ml numune tüpü), TBA çözeltisi (1.0 mL kör tüpü; 1.0 mL numune tüpü) konuldu ve tüpler 30 sn. vortekslenerek kapakları kapatıldı. Tüpler 30 dk. 90 °C'lik su banyosunda tutuldu, süre sonunda tüpler buzlu soğuk suda soğutuldu ve üzerlerine n-Butanol (4.0 mL kör tüpü; 4.0 mL numune tüpü) ilave edildi. Tüpler 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabaka (n-butanol) küvete alındı ve çözeltilerin absorbanşı,

Thermo Helios Alfa marka UV-VIS Spektrofotometre’de ve 535 nm’de köre karşı okundu. Sonuçlar nmol/mg protein olarak değerlendirildi (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. MDA analizi çalışma şeması.

Kullanılan maddeler	Kör tüpü	Numune tüpü
Supernatant	--	0.5 mL
TCAA çözeltisi	3.0 mL	2.5 mL
TBA çözeltisi	1.0 mL	1.0 mL
30 sn. vorteks		
30 dk. 90 °C’lik su banyosu ve ardından soğutma		
n-Butanol	4.0 mL	4.0 mL
3000 devirde 10 dk. santrifüj		
535 nm’de köre karşı okuma		

3.2.10. Nitrik Oksit Tayini

Nitrik oksit ölçümleri Griess yöntemi esasına göre, diazotizasyon yöntemiyle (122) yapıldı (Tablo 3.8). Ependorf tüpleri içine sırasıyla numune, kalibrasyon için kalibrasyon çözeltileri (18 mikrolitre), NADPH (0,86 milimol/L, 30 µL), FAD (0,11 milimol/L, 60 µL), 20 mMol’lük fosfat tampon (0,33 M, 60 µL), nitrat redüktaz (1U/1 mL, 30 µL) konuldu ve vortekslendi. Tüpler karanlıkta, oda ısısında 1 saat inkübe edildi ve üzerine 600 mikrolitre Griess Reaktifi (NEDD, 1 mg/mL ve sülfanilamid, 2 mg/mL fosforik asitte çözeltileri 1:1 oranında karıştırıldı) ilave edildi. 10 dk. oda ısısında ve karanlıkta inkübasyonun ardından, çözeltilerin absorbanası, Thermo Helios Alfa marka UV-VIS Spektrofotometre’de 540 nm’de köre karşı okundu. Sonuçlar µmol/mg protein olarak değerlendirildi.

Tablo 3.8. NO analizi çalışma şeması.

Kullanılan maddeler	Stok Çözeltiler	İlave hacim (µL)
Supernatant	-	18
Distile su	-	132
Fosfat tamponu	pH 7.5, 0.33 M	60
NADPH	0,86 mM	30
FAD	0.11 mM	30
Nitrat redüktaz	1 U/mL	30
Karanlıkta, oda ısısında 1 saat inkübasyon		
Griess reaktifi	-	600
Toplam hacim	-	900
10 dk. oda ısısında inkübasyonun ardından 540 nm’de köre karşı okuma		

3.2.11. İstatistiksel Analiz

Kontrol ve deneme grupları arasında biyokimyasal ve lipid peroksidasyon parametrelerinin istatistiksel analizlerinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Karaciğer doku hasarı skor değerleri bakımından deneme ve kontrol grupları arasında farklılığın önem kontrolü Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. İstatistiksel analizlerde SPSS 14.01 (Lisans no: 9869264) paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

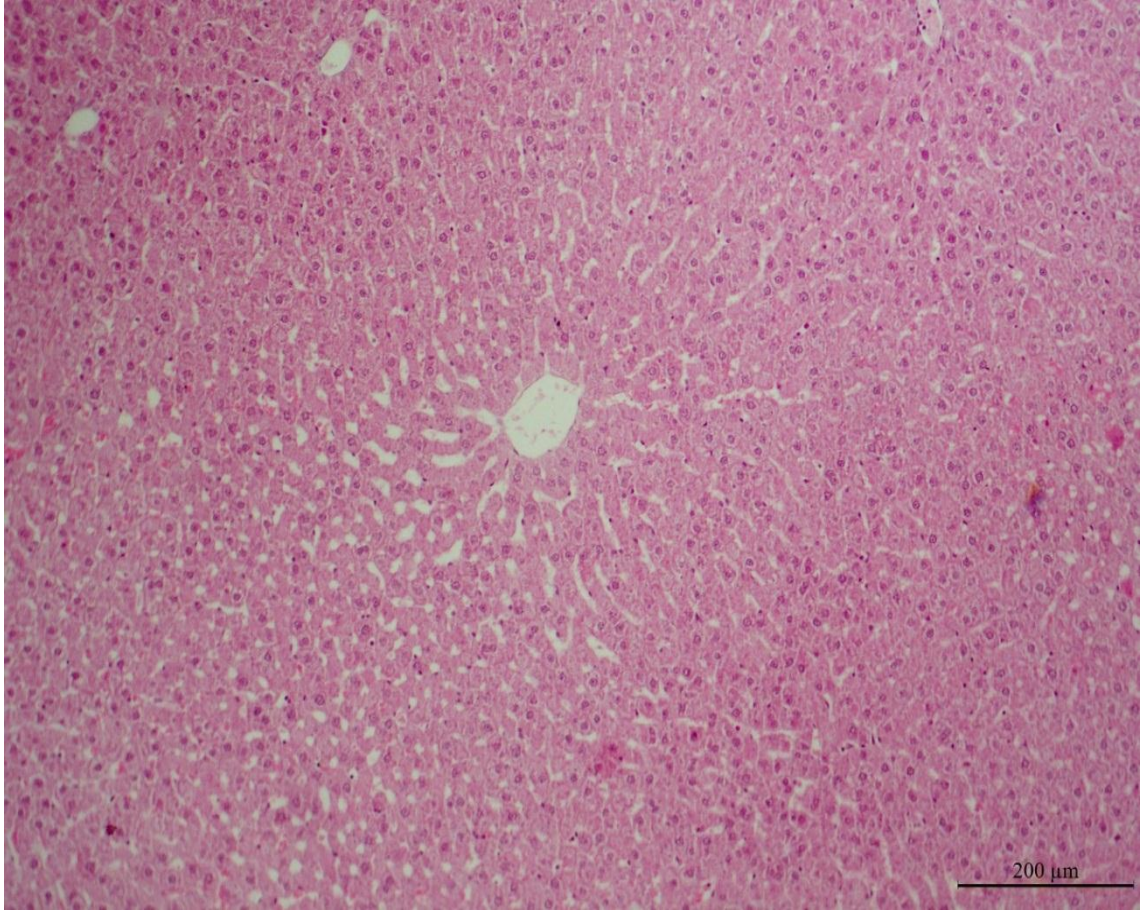
Akut ve kronik dönem kontrol, NÇY ve BE gruplarındaki ratlarda herhangi bir klinik bulgu görülmezken, CCl₄, CCl₄+NÇY ve CCl₄+BE gruplarındaki ratlarda halsizlik, kambur duruş, sendeleyerek yürüme, aşırı tükürük salgısı, pitozis, ataksi ve korneal opasite gibi klinik bulgular gözlemlendi.

4.2. Patolojik Bulgular

4.2.1. Akut Çalışma Grubunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

1. Grup (Kontrol Grubu);

Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.1). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlamasında; fibrozis, yağlanma, yangı ve nekroz parametreleri açısından hasar skoru sıfırdı (Tablo 4.1). Sistemik olarak alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.



Şekil 4.1. Kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, Hx E, 200 μ m.

2. Grup (NÇY Grubu);

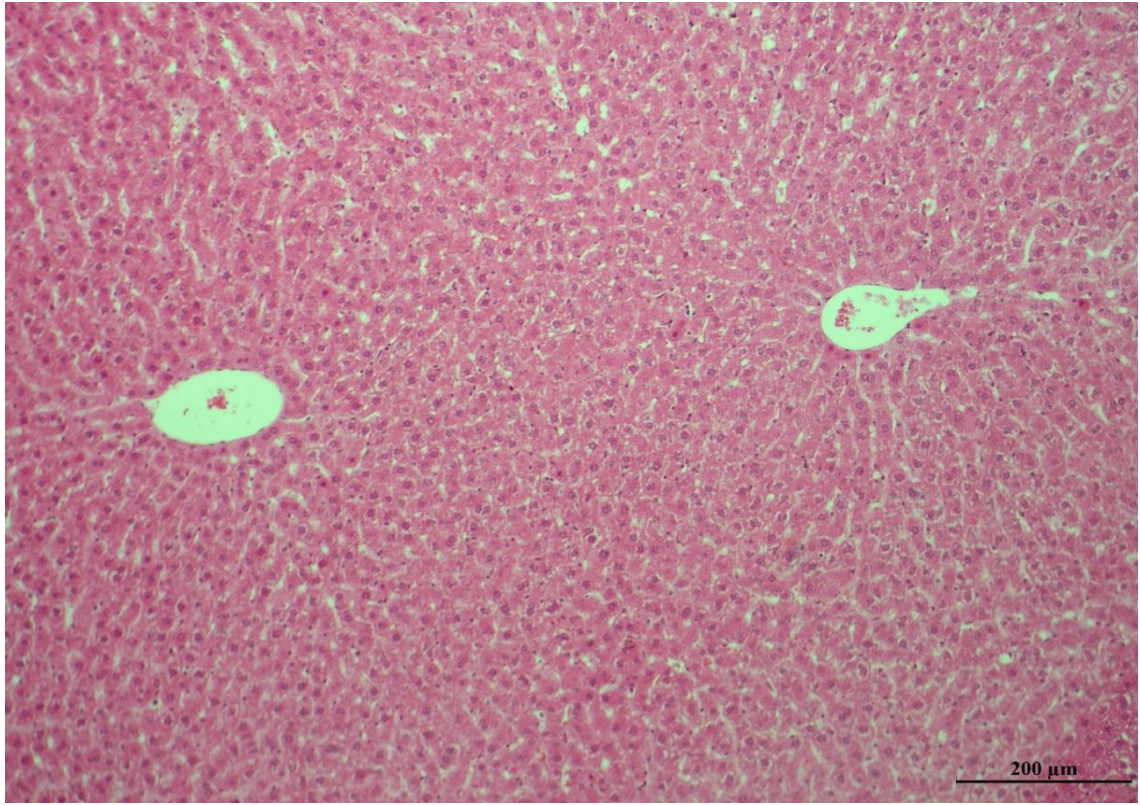
Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.2). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlaması kontrol grubu ile benzerdi (Tablo 4.1). Sistemik olarak alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.



Şekil 4.2. NÇY grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 µm.

3. Grup (BE Grubu);

Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.3). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlaması kontrol grubu ile benzerdi (Tablo 4.1). Sistemik olarak alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.

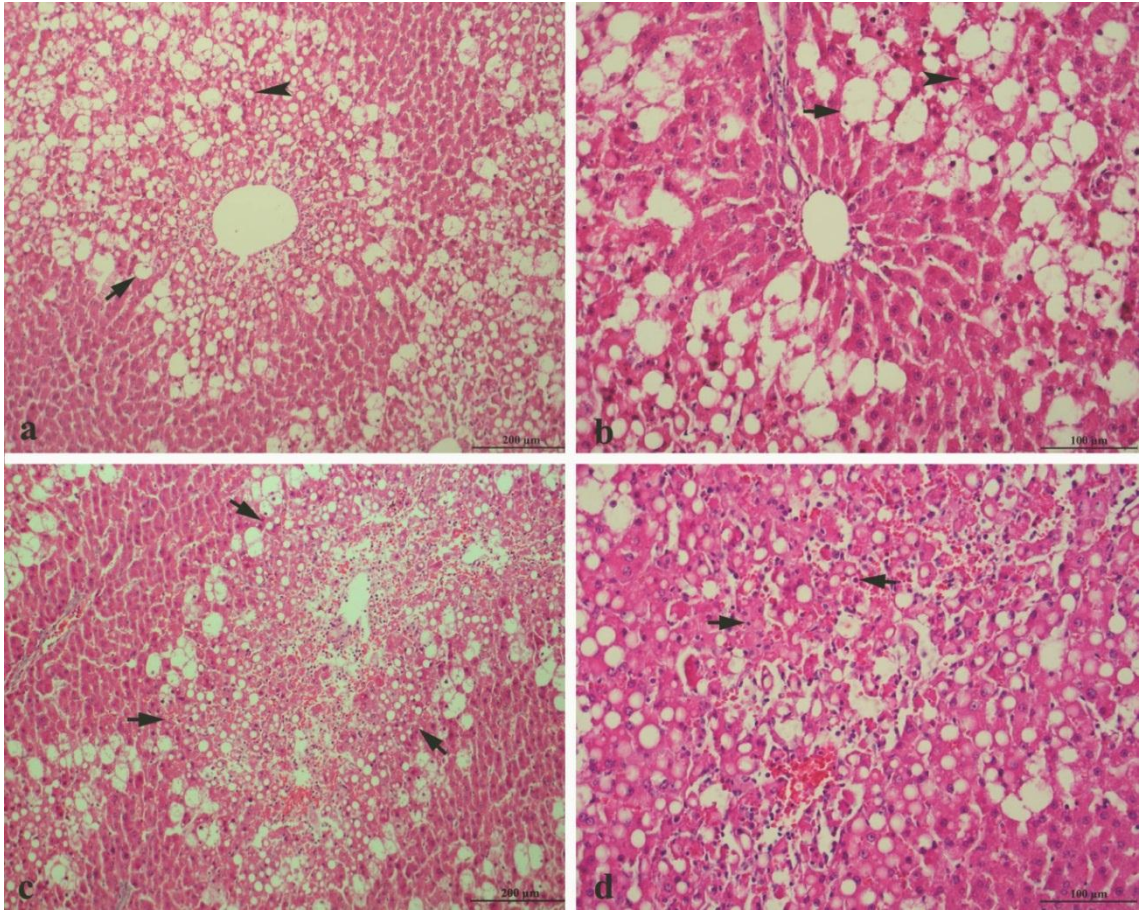


Şekil 4.3. BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, HxE, 200 μ m.

4. Grup (CCl₄ Grubu);

Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularının histolojik incelemesinde hepatositlerde yoğun makro ve mikroveziküler yağ vakuolleri görüldü (Şekil 4.4.a,b). Bu vakuoller parankimdeki hepatositlerin çoğunda saptandı. V. centralis periferinde hepatositlerdeki nekrotik değişiklikler ile alan pembe homojen bir kitleye dönüşmüştü (Şekil-4.4.c). Özellikle portal bölgelere yakın alanlarda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanları yer alırken, seyrek olarak bu durumun V. centralis çevresindeki nekrotik alanlarda ve tüm parankime yayıldığı dikkati çekti (Şekil-4.4.d). Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı.

Karaciğer doku kesitlerinde CCl₄' e bağlı olarak oluşan yağlanma, yangı ve nekroz parametreleri skorlandı. Bu gruba ait hasar skorunun kontrol, NÇY ve BE gruplarından yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 4.1).



- a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
 b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.
 c. Yaygın nekroz alanları (oklar), 200 µm.
 d. Parankimde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre filtrasyon alanları (oklar), 100 µm.

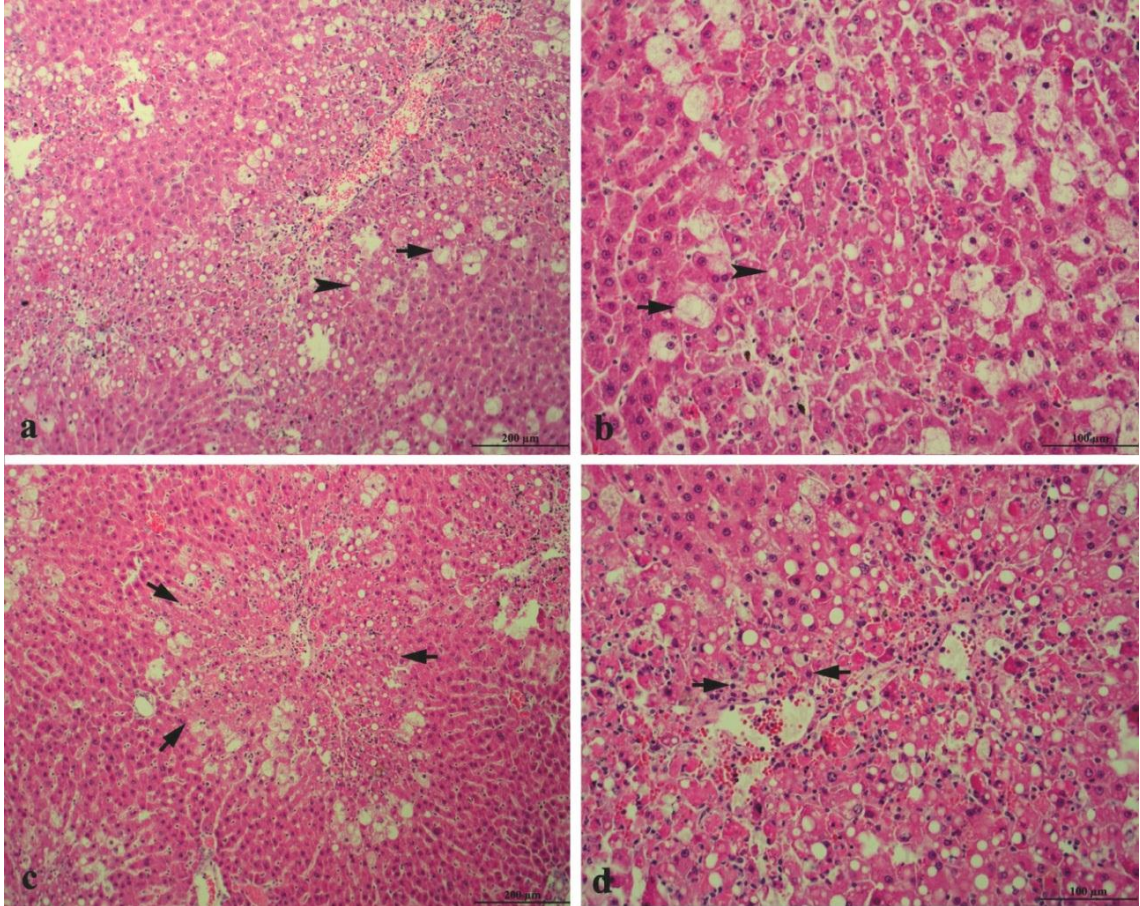
Şekil 4.4. CCl₄ grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

5. Grup (CCl₄+NÇY Grubu);

Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularının histolojik incelemesinde CCl₄ uygulamasına bağlı şekillenen hücresel nekroz (Şekil 4.5.c) ve yağ vakuol oluşumları (Şekil 4.5.a,b) ve hücre infiltrasyonu (Şekil 4.5.d) bakımından CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı. Vena centralis çevresinde yer alan hepatositlerde yağ vakuolizasyonu dikkati çekti (Şekil 4.5.a ve Şekil 4.5.b). Parankimde çoğunluğu lenfosit olan

mononükleer hücre infiltrasyon alanlarının varlığı görüldü (Şekil 4.5.d). Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı.

Karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlamasında kontrol grubundan yüksek, CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 4.1).



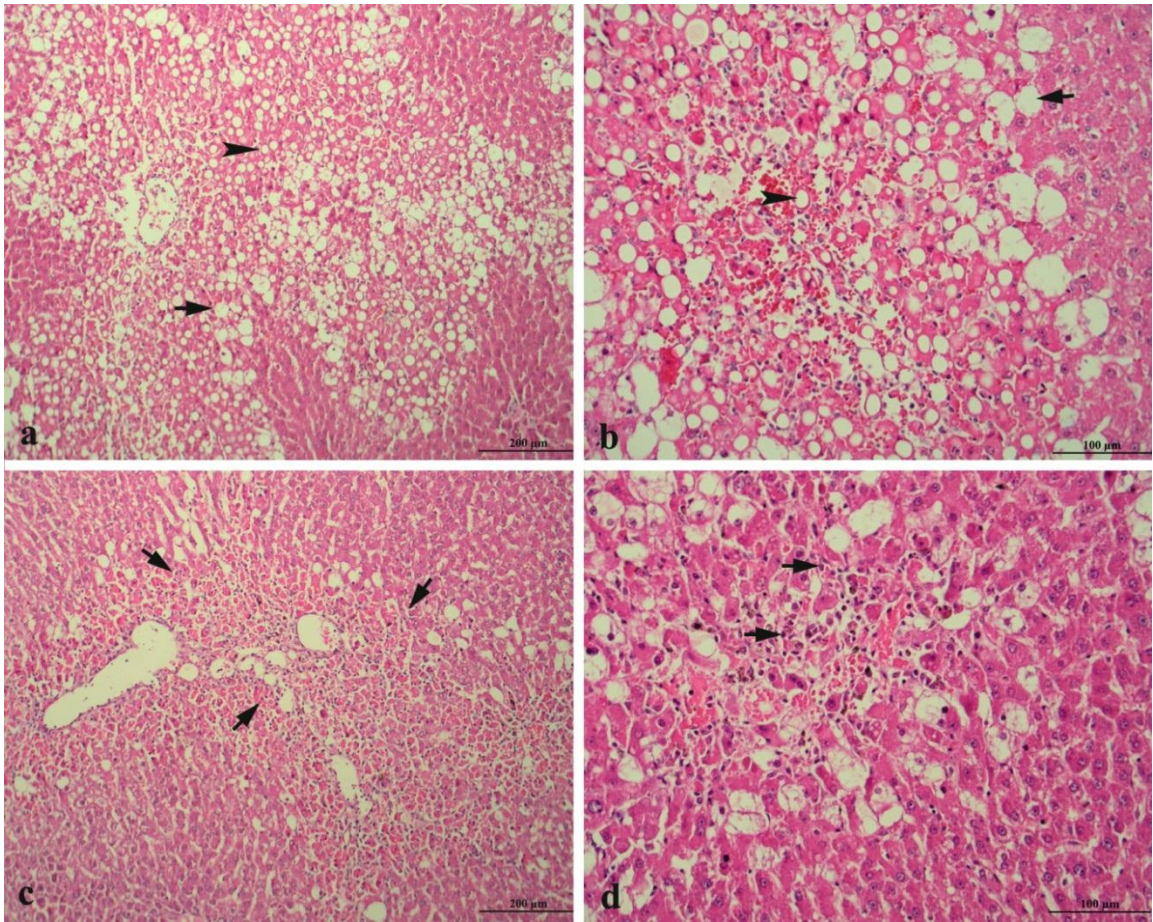
- a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü 200 µm.
- b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü 100 µm.
- c. Nekrotik alanlar (oklar) 200 µm.
- d. Parankimde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Şekil 4.5. CCl₄+NÇY grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

6. Grup (CCl₄+ BE Grubu);

Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsi sırasında karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularının histolojik incelemesinde, mikro

ve makroveziküler yağ vakuolleri, nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü. Tüm parankimde hepatositler içinde irili ufaklı yağ vakuolleri saptandı (Şekil 4.6.a,b). Vena centralis'lerin periferindeki bölgede hepatositlerdeki nekrotik değişiklikler dikkati çekti (Şekil 4.6.c). Özellikle nekroz alanlarında olmak üzere parankimde içerisinde mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4.6.d). Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı. Yapılan karaciğer doku kesitlerindeki histolojik hasar skorlarının CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 4.1).



- a. Keskin kenarlı yağ vakuolleri içeren hücrelerin genel olarak yassılaştırmış ve hücrenin periferine itilmiş çekirdekleri (ok) ile mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
- b. Parankime yayılmış makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü (ok), 100 µm.
- c. Yaygın nekroz alanları (oklar), 200 µm.
- d. Tüm parankime yayılan çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Şekil 4.6. CCl₄+BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

4.2.2. Kronik Çalışma Grubunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

1. Grup (Kontrol Grubu);

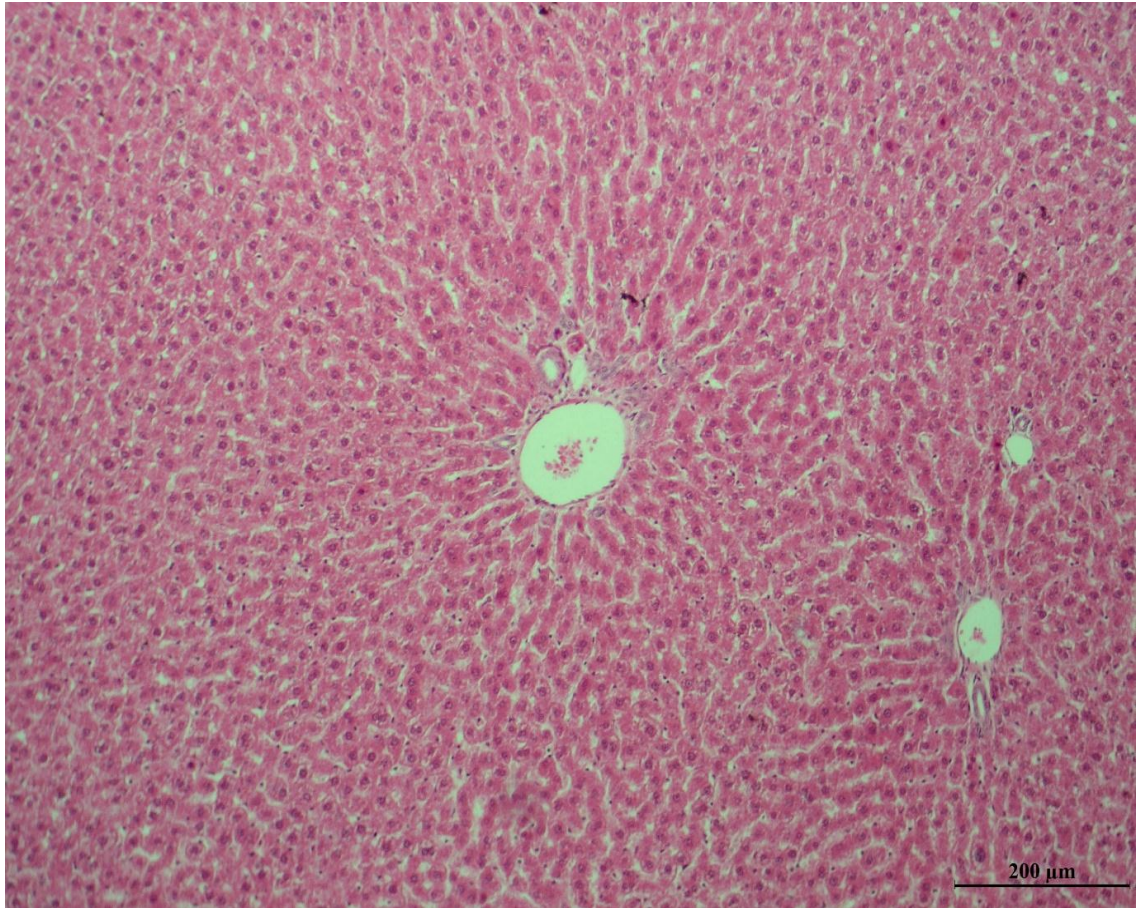
Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.7). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlamasında; fibrozis, yağlanma, yangı ve nekroz parametreleri açısından hasar skoru sıfırdı (Tablo 4.2). Sistemik olarak alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.



Şekil 4.7. Kontrol grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, Hx&E, 200 µm.

2. Grup (NÇY Grubu);

Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.8). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlaması kontrol grubu ile benzerdi (Tablo 4.2). Sistemik olarak alınan diğer dokuların makroskopik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.

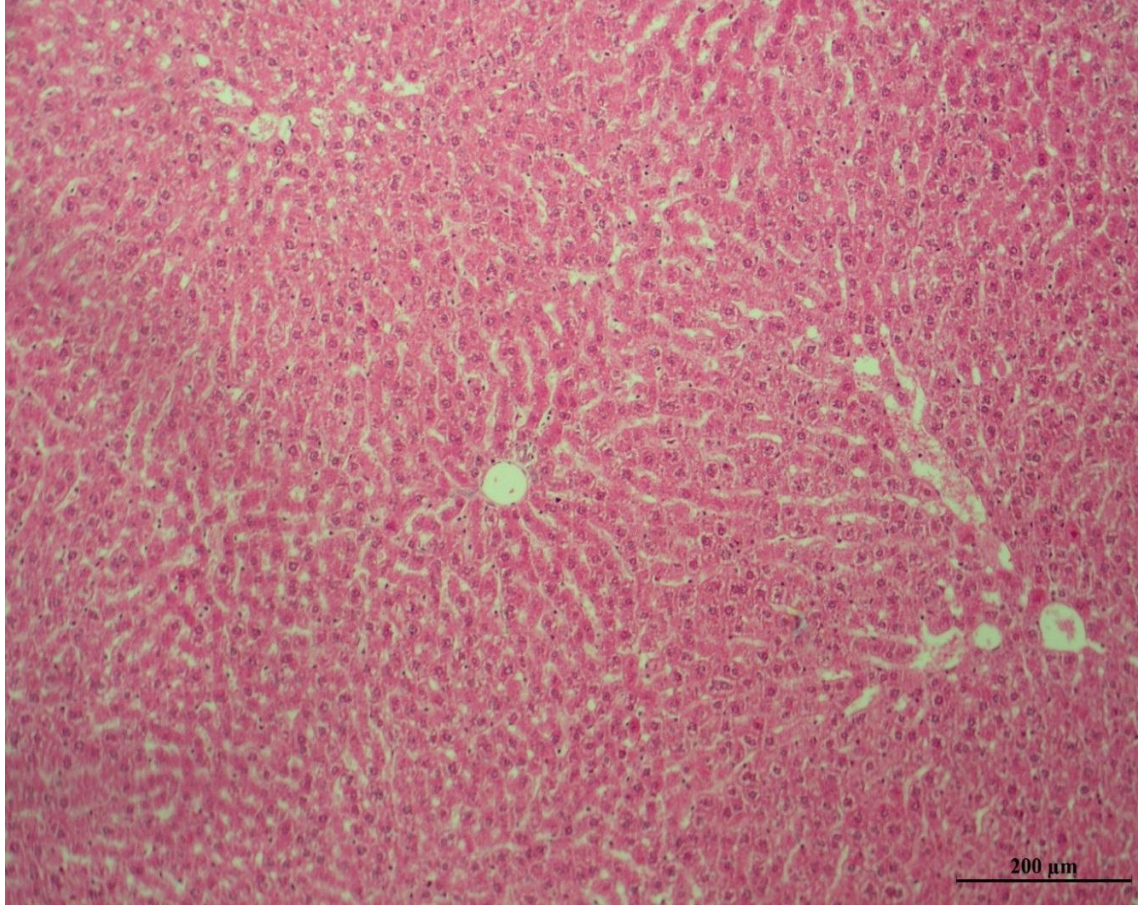


Şekil 4.8. NÇY grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, H&E, 200 µm.

3. Grup (BE Grubu);

Çalışma sonunda ratlara yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerde makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku örneklerinin histolojisinde normal yapıda oldukları görüldü (Şekil 4.9). Gruba ait karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlaması kontrol grubu ile benzerdi (Tablo 4.2). Sistemik olarak alınan diğer

dokuların makroskobik-histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyon bulunmayıp normal yapıda oldukları görüldü.



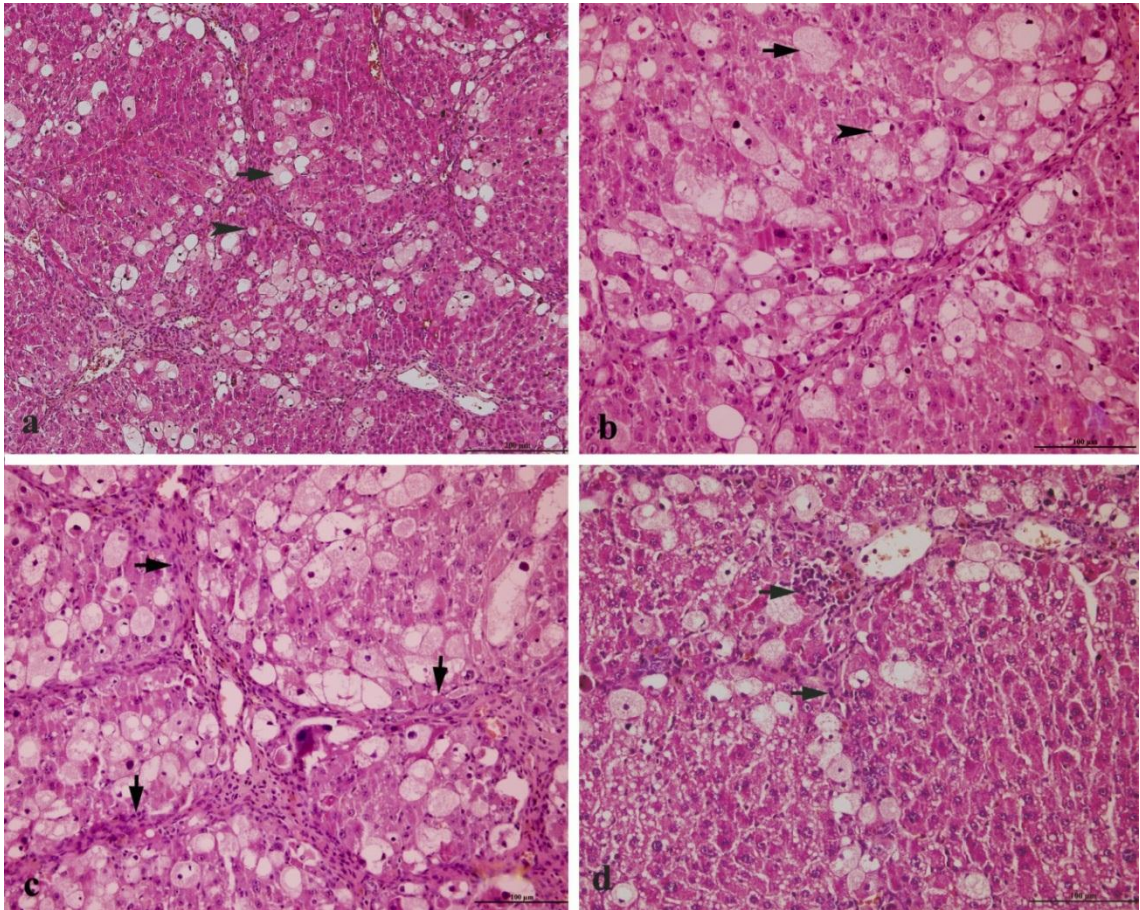
Şekil 4.9. BE grubu karaciğer dokusunun normal histolojik görünümü, Hx E, 200 µm.

4. Grup (CCl₄ Grubu);

Çalışma sonunda, sistemik nekropsileri yapılan ratların karaciğerlerinin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Yapılan histolojik değerlendirmede özellikle portal bölgelerde ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis alanlarının varlığı dikkati çekti. Kronik parankim yıkımlanması sebebiyle yavaş gelişen fibrozisin portal aralıkları V. centralis'ler ile birleştirerek, klasik lobül yapısını bölerek lobulasyona yol açtığı görüldü (Şekil 4.10.c). Hepatositlerde yoğun makro ve mikroveziküler yağ vakuolleri parankimdeki hepatositlerin çoğunda görüldü (Şekil 4.10.a,b). Yağ vakuollerinin görüldüğü bölgelerde dikkati çeken bir diğer bulgu ise, yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonuydu (Şekil 4.10.d). Özellikle portal bölgeye yakın

alanlarda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanları yer alırken, seyrek olarak bu durumun V. centralis çevresindeki yağ vakuolleri arasında ve tüm parankime yayıldığı görüldü. V. centralis'lerin çevresinde kontrol grubuna göre belirgin bir bağ doku artışının olduğu gözlemlendi. Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı.

Karaciğer doku kesitlerinde CCl_4 ' e bağlı olarak oluşan fibrozis, yağlanma ve yangı parametreleri skorlandı. Bu gruba ait hasar skorunun kontrol, NÇY ve BE gruplarından yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 4.2).



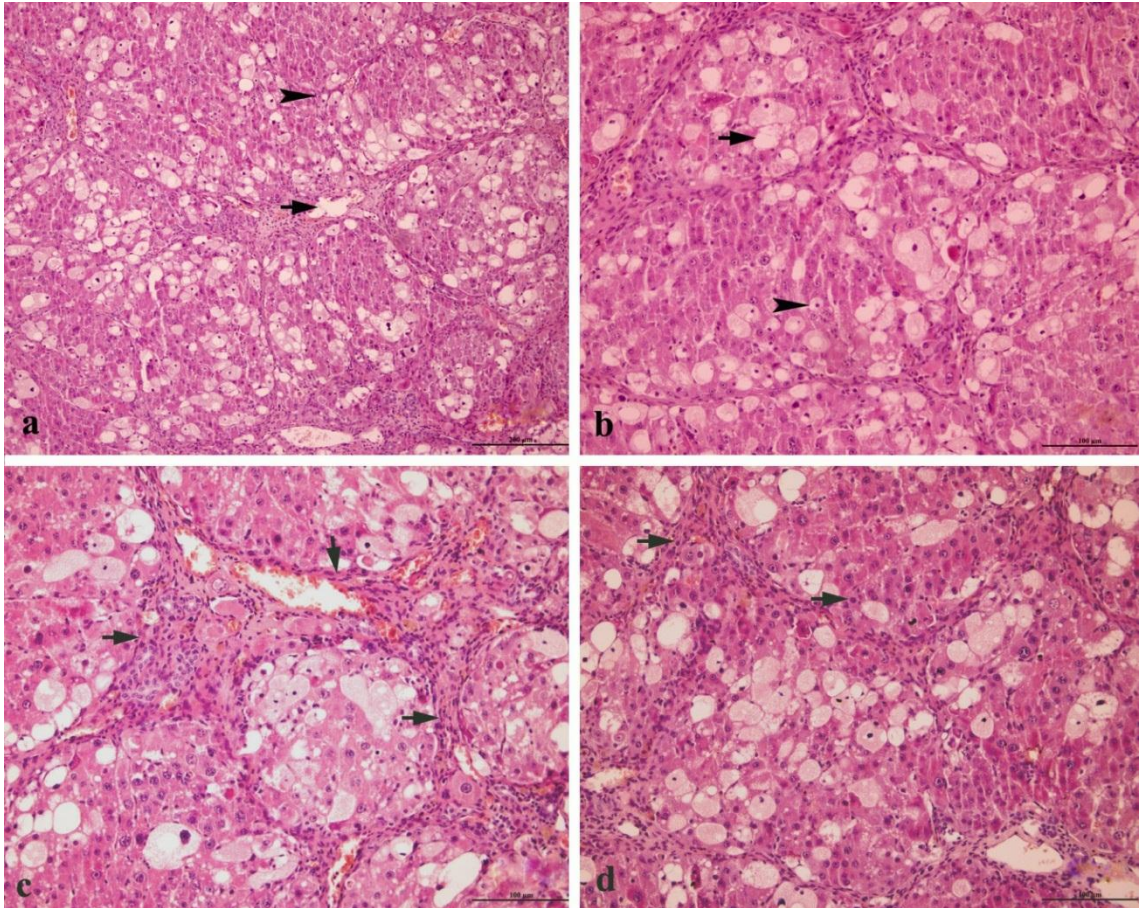
- a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
- b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.
- c. Şekillenen lobulasyon formasyonu (okların sınırladığı alan), 100 µm.
- d. Çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre filtrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Şekil 4.10. CCl_4 grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. Hx&E.

5. Grup (CCl₄+NÇY Grubu);

Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsilerde karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Gruba ait karaciğer dokularının histolojik incelemesinde CCl₄ uygulamasına bağlı şekillenen fibröz bağ dokusu artışı (Şekil 4.11.c) ve yağ vakuolleri (Şekil 4.11.a,b) ile hücre infiltrasyonu (Şekil 4.11.d) bakımından CCl₄ grubu ile benzer olduğu görüldü. Parankimde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanlarının varlığı dikkati çekti (Şekil 4.11.d). Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı.

Karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlamasında kontrol grubundan yüksek, CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 4.2).

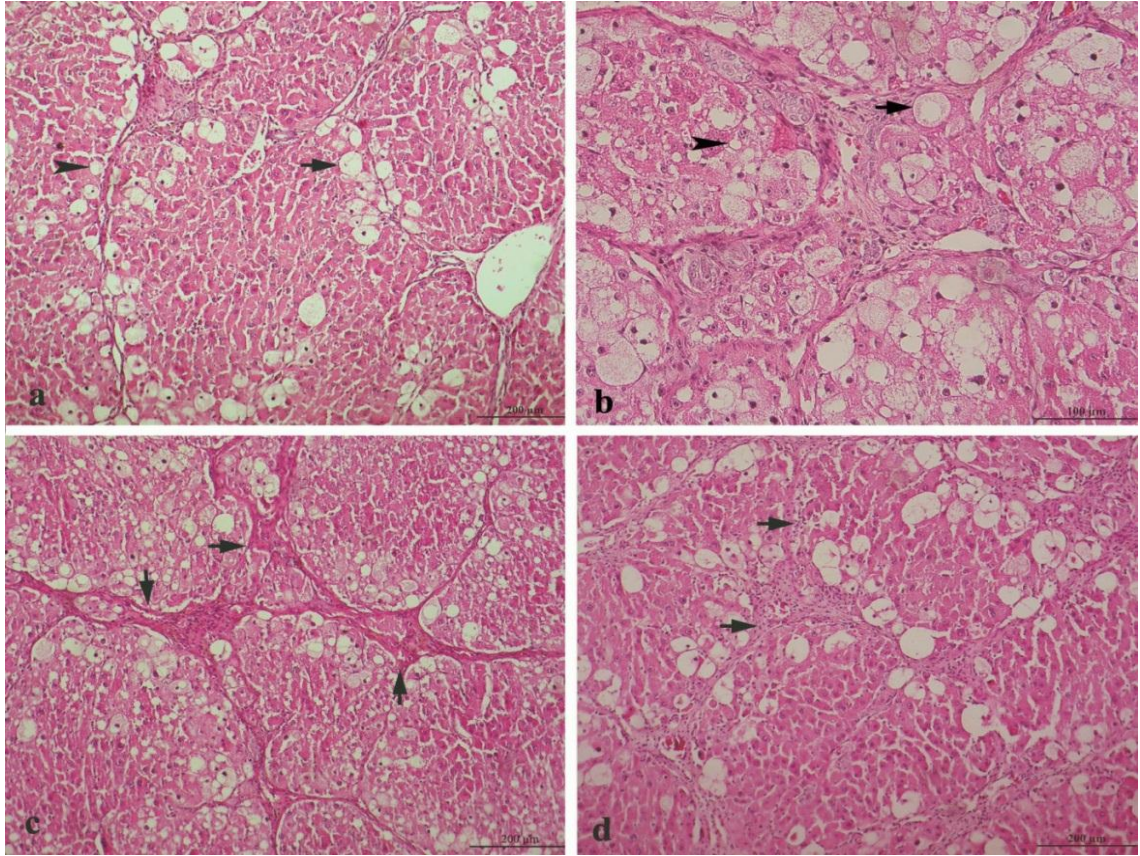


- a. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
- b. Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.
- c. Fibröz dokuda artış (oklar), 100 µm.
- d. Çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre filtrasyon alanları (oklar), 100 µm.

Şekil 4.11. CCl₄+NÇY grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

6. Grup (CCl₄+BE Grubu);

Çalışma sonunda, yapılan sistemik nekropsi sırasında karaciğerlerin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında diğer organlarda makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Bu gruba ait karaciğer dokularının histolojik yönden incelenmesinde parankimde hepatositlerde irili ufaklı yağ vakuol oluşumları dikkati çekti (Şekil 4.11.a,b). Ortadan şiddetliye ulaşan fibrozis alanlarının varlığı ile bağ dokusundaki artışın çoğu kesitlerde karaciğer dokusunda lobulasyon oluşturduğu görüldü (Şekil 4.12.c). Yağ vakuollerinin görüldüğü bölgelerde dikkati çeken bir diğer bulgu ise, yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonuydu (Şekil 4.12.d). Gruba ait karaciğer dokusunun histolojik incelemesinde CCl₄ uygulamasına bağlı şekillenen histopatolojik değişimlerde bir azalma görülmedi. Diğer dokuların histolojik değerlendirmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı. Karaciğer doku kesitlerinden yapılan histolojik hasar skorlarının CCl₄ grubu ile benzer olduğu saptandı (Tablo 4.2).



- Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 200 µm.
- Makro (ok) ve mikroveziküler (ok başı) yağ vakuollerinin görünümü, 100 µm.
- Artmış fibröz doku hücreleri ve şekillenen lobulasyon formasyonu (oklar), 200 µm.
- Çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyonu (oklar), 200 µm.

Şekil 4.12. CCl₄+BE grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. HxE.

4.3. Akut ve Kronik Deneme Gruplarına Ait Karaciğer Hasar Parametre Skorlaması

Yöntem bölümünde tanımlandığı gibi, karaciğer kesitlerindeki yağlanma, yangı, nekroz ve fibrozis gibi mikroskopik değişiklikler semikantitatif olarak değerlendirildi, yok ise 0, % 33'ünden az ise 1 (hafif), % 33-66 arası ise 2 (orta) ve % 66'dan fazla ise 3 (şiddetli) olarak kabul edildi. Akut ve kronik deneme gruplarına ait karaciğer hasar parametrelerinin istatistiksel dağılımları Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verildi.

Akut ve kronik deneme gruplarında, kontrol, NÇY ve BE gruplarındaki hayvanlara ait karaciğer dokularının histopatolojik değerlendirmelerinde, karaciğer hasar parametreleri semikantitatif olarak değerlendirilmiş olup hasar skorlamasının sıfır olduğu tespit edildi.

Akut ve kronik deneme gruplarında, CCl₄ grubuna göre CCl₄+NÇY ve CCl₄+BE gruplarına ait karaciğer hasar parametrelerinde (fibrozis, yağlanma, yangı, nekroz) istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı tespit edildi (P>0,05) (Tablo 4.1; 4.2).

Tablo 4.1. Akut deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.

Gruplar (n=10)	Histopatolojik bulgular Medyan (%25-%75)			
	CCl ₄	CCl ₄ +NÇY	CCl ₄ +BE	İstatistik önem kontrolü (Kruskal-Wallis Test)
Fibrozis	0,5 (0-1)	0 (0-1)	0,5 (0-1)	P>0,05
Yağlanma	3 (3-3)	3 (2-3)	3 (2-3)	P>0,05
Yangı	3 (2-3)	2,5 (2-3)	3 (2-3)	P>0,05
Nekroz	3 (2-3)	2,5 (2-3)	3 (2-3)	P>0,05

a-b: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir.

Tablo 4.2. Kronik deneme gruplarına ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.

Gruplar (n=10)	Histopatolojik bulgular Medyan (%25-%75)			İstatistik önem kontrolü (Kruskal-Wallis Test)
	CCl ₄	CCl ₄ +NÇY	CCl ₄ +BE	
Fibrozis	3 (2-3)	3 (1-2)	3 (1-2)	P>0,05
Yağlanma	3 (2-3)	3 (1-2)	3(2-3)	P>0,05
Yangı	2,5 (1,75-3)	2 (1,75-2,25)	2 (1,75-3)	P>0,05
Nekroz	0,5 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-1)	P>0,05

a-b: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir.

4.4. Biyokimyasal Analiz Bulguları

Akut ve kronik çalışmanın kontrol ve deneme gruplarına ait serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile glikoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, total protein ve albümin değerleri sırasıyla tablo 4.3 ve 4.4’de verildi.

Akut ve kronik çalışmada kontrole göre sadece NÇY ve BE verilen gruplarda serum trigliserid ve total protein düzeyleri ile AST ve ALP aktivitelerinde önemli bir değişiklik görülmedi. Ancak, akut ve kronik NÇY verilen grupta serum total kolesterol düzeyi ($P<0,05$; 0,001) anlamlı olarak azalırken HDL-kolesterol ($P<0,05$; 0,001) ile albümin ($P<0,001$) düzeyleri arttı, BE verilen grupta ise akut dönemde sadece ALT ($P<0,001$) aktivitesinde önemli bir düşüş, kronik dönemde de glikoz ($P<0,001$) düzeyinde bir artış gözlemlendi (Tablo 4.3; 4.4).

Her iki çalışmada CCl₄ grubunda, kontrol grubuna göre serum glikoz, LDL-kolesterol ve total kolesterol düzeyleri ile ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir artışın, HDL-kolesterol, total protein ve albümin düzeylerinde ise önemli bir azalışın meydana geldiği görüldü ($P<0,05$; 0,01; 0,001). Her ne kadar hem

akut hem de kronik dönemde trigliserid düzeyleri CCl_4 uygulamasıyla sayısal olarak artmış ise de, istatistiksel olarak bu artışlar önemli bulunmadı ($P>0,05$). Diğer yandan gerek NÇY gerekse BE uygulaması, CCl_4 verilen gruplarda sayısal olarak artan trigliserid düzeylerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdı. Nar çekirdeği yağı uygulaması, akut dönemde HDL ve LDL-kolesterol hariç diğer parametrelerin değerlerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdı, kronik dönemde de AST, ALT enzim aktiviteleri, glikoz, HDL ve LDL-kolesterol hariç, diğer parametrelerin değerlerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdı. Biberiye ekstraktı uygulamasının ise akut dönemde CCl_4 uygulamasıyla düşen HDL-kolesterol değerlerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığı, ancak diğer parametreler üzerinde istatistiksel anlamda önemli bir etkisinin olmadığı, kronik dönemde de tüm biyokimyasal değerlerde önemli bir farka yol açmadığı dikkati çekti.

Tablo 4.3. Akut karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri.

Parametreler	Kontrol $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	NÇY $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄ $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄+NÇY $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄+BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	İstatistik önem kontrolü
AST (U/L)	166,80±17,10 ^c	165,00±5,80 ^c	166,00±1,91 ^c	320,10±15,70 ^a	209,80±29,05 ^{bc}	318,00±30,34 ^{ab}	P<0,05
ALT (U/L)	62,00±3,72 ^c	75,40±11,90 ^{bcd}	52,35±1,73 ^d	145,90±22,84 ^a	86,40±8,28 ^b	102,60±8,25 ^{ab}	P<0,01
ALP (U/L)	370,50±43,98 ^{bc}	349,80±7,86 ^c	368,56±4,18 ^c	612,30±29,80 ^a	411,50±28,11 ^b	603,00±30,51 ^a	P<0,01
Glikoz (mg/dL)	157,50±22,42 ^c	179,60±25,92 ^{bc}	160,67±9,25 ^c	310,80±13,48 ^a	240,60±17,52 ^b	304,90±30,69 ^a	P<0,01
Trigliserid (mg/dL)	135,70±13,44	126,90±5,11	138,56±13,53	180,30±17,30	139,00±10,259	142,60±12,18	P>0,05
Total kolesterol (mg/dL)	78,10±5,66 ^b	55,00±2,31 ^d	74,11±3,57 ^{bc}	96,20±1,40 ^a	73,00±3,14 ^b	94,00±1,32 ^a	P<0,05
HDL-kolesterol (mg/dL)	44,60±13,09 ^{bc}	60,00±4,22 ^a	45,67±3,80 ^b	25,00±1,44 ^d	26,00±1,46 ^d	34,80±1,92 ^c	P<0,05
LDL-kolesterol (mg/dL)	20,00±2,87 ^{bc}	16,95±0,91 ^c	21,22±2,29 ^b	30,90±1,80 ^a	26,02±1,29 ^{ab}	29,94±2,31 ^a	P<0,05
Total protein (g/dL)	6,58±0,27 ^a	7,10±0,17 ^a	6,58±0,12 ^a	5,82±0,30 ^b	6,60±0,21 ^a	5,79±0,20 ^b	P<0,001
Albümin (g/dL)	1,27±0,09 ^b	1,47±0,08 ^a	1,27±0,05 ^b	0,24±0,04 ^d	1,00±0,07 ^c	0,26±0,04 ^d	P<0,001

a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir.

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: Ortalama± Standart hata

Tablo 4.4. Kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının serum biyokimyasal parametreleri.

Parametreler	Kontrol $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	NÇY $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄ $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄+NÇY $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	CCl₄+BE $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	İstatistik önem kontrolü
AST (U/L)	174,20±16,49 ^b	171,90±6,37 ^b	173,66±6,71 ^b	1670,40±319,69 ^a	1409,40±283,14 ^a	1665,14±64,37 ^a	P<0,001
ALT (U/L)	80,00±7,45 ^b	62,10±3,49 ^b	68,61±2,60 ^b	1285,20±405,06 ^a	990,16±158,34 ^a	1100,00±107,10 ^a	P<0,01
ALP (U/L)	359,60±21,38 ^{bc}	308,30±31,43 ^c	349,40±18,58 ^{bc}	544,90±15,01 ^a	386,80±24,78 ^b	539,29±14,05 ^a	P<0,001
Glikoz (mg/dL)	124,20±22,42 ^c	148,80±10,11 ^c	170,50±5,31 ^b	318,70±29,49 ^a	255,40±28,60 ^a	273,71±8,58 ^a	P<0,001
Trigliserid (mg/dL)	148,00±10,60	141,50±15,91	159,05±12,51	194,50±18,10	168,20±13,48	159,00±7,02	P>0,05
Total kolesterol (mg/dL)	76,30±3,65 ^b	64,80±3,28 ^c	72,28±1,70 ^{bc}	87,70±2,15 ^a	75,10±3,98 ^b	85,14±1,56 ^a	P<0,001
HDL-kolesterol (mg/dL)	31,50±1,26 ^b	44,20±4,75 ^a	32,75±1,72 ^b	23,10±1,25 ^c	28,60±2,11 ^{bc}	24,57±1,17 ^c	P<0,001
LDL-kolesterol (mg/dL)	15,20±3,33 ^{bc}	12,82±2,81 ^c	13,90±1,49 ^{bc}	23,34±1,38 ^a	18,42±2,40 ^{abc}	21,47±2,80 ^{ab}	P<0,05
Total protein (g/dL)	6,04±0,18 ^a	6,53±0,22 ^a	6,15±0,14 ^a	5,48±0,13 ^b	6,00±0,16 ^a	5,50±0,18 ^b	P<0,01
Albümin (g/dL)	1,33±0,08 ^b	1,60±0,06 ^a	1,38±0,05 ^b	0,72±0,05 ^c	1,27±0,05 ^b	0,77±0,05 ^c	P<0,001

a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir.

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: Ortalama± Standart hata

4.5. Lipid Peroksidasyon Bulguları

Akut ve kronik çalışmanın kontrol ve deneme gruplarına ait karaciğer MDA ve NO düzeyleri sırasıyla tablo 4.5 ve 4.6’da verildi. Akut ve kronik dönemde, kontrole göre sadece NÇY ve BE verilen grupların karaciğer MDA ve NO düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişme saptanmadı ($P>0,05$) (Tablo 4.5; 4.6).

Akut çalışmada, CCl_4 grubunda karaciğer MDA ($P<0,001$) ve NO ($P<0,01$) düzeylerinin diğer tüm gruplardan yüksek olduğu görüldü. Karbon tetraklorür grubuna göre, CCl_4 +NÇY grubunda karaciğer MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşme olduğu ($P<0,001$), ancak CCl_4 +BE grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişimin olmadığı gözlemlendi ($P>0,05$). Bununla birlikte CCl_4 uygulaması ile meydana gelen karaciğer NO düzeyindeki artış üzerine NÇY ve BE uygulamalarının istatistiksel önemde bir değişime sebep olmadığı, ancak sayısal bir azalmaya yol açtığı dikkat çekti ($P>0,05$) (Tablo 4.5).

Kronik çalışmada, CCl_4 uygulanan tüm gruplarda karaciğer MDA ve NO düzeylerinin kontrol, NÇY, BE gruplarına göre yüksek olduğu görüldü ($P<0,001$). Karbon tetraklorür uygulamasıyla artan karaciğer MDA düzeyleri NÇY ve BE ilavesinden etkilenmedi ($P>0,05$). Ancak, karaciğer NO düzeyleri NÇY ilavesiyle önemli düzeyde bir düşme ($P<0,001$) gösterirken, BE’nin istatistiksel olarak bu parametre üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmadı ($P>0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.5. Akut karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının karaciğer MDA ve NO değerleri.

Parametreler	Gruplar						İstatistik önem kontrolü (ANOVA)
	Kontrol	NÇY	BE	CCl ₄	CCl ₄ +NÇY	CCl ₄ +BE	
MDA (nmol/mg protein) $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	1,03±0,07 ^b	0,62±0,08 ^b	0,73±0,08 ^b	1,93±0,20 ^a	1,03±0,17 ^b	1,62±0,08 ^a	P<0,001
NO (µmol/mg protein) $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	35,68±4,06 ^b	34,88±3,06 ^b	36,87±3,45 ^b	53,50±3,06 ^a	38,14±4,14 ^{ab}	47,50±6,08 ^{ab}	P<0,01

a-b: Her parametre için aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: Ortalama± Standart hata

Tablo 4.6. Kronik karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda kontrol ve deneme gruplarının karaciğer MDA ve NO değerleri.

Parametreler	Gruplar						İstatistik önem kontrolü (ANOVA)
	Kontrol	NÇY	BE	CCl ₄	CCl ₄ +NÇY	CCl ₄ +BE	
MDA (nmol/mg protein) $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	0,98±0,12 ^{bc}	0,19±0,02 ^b	0,66±0,07 ^b	2,70±0,45 ^a	1,73±0,22 ^{ac}	2,44±0,29 ^a	P<0,001
NO (µmol/mg protein) $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	49,98±4,43 ^{bc}	35,79±3,69 ^b	49,74±7,46 ^{bc}	97,61±5,06 ^a	62,38±6,65 ^c	82,61±4,14 ^a	P<0,001

a-c: Her parametre için aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$: Ortalama± Standart hata

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karbon tetraklorür'ün akut olarak uygulanışının karaciğerde sentrilobüler hepatositlerde nekroz, sitoplazmada vakuoler dejenerasyon ve yağlı karaciğer oluşturduğu (98, 109, 123-128), kronik olarak uygulanmasının ise hepatitis, fibrozis ve siroz ile sonuçlanan karaciğer toksikasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir (4, 10, 13, 110, 129-131).

Karbon tetraklorür'ün hepatositler üzerine etkisiyle, granülsüz endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P450 enzim sistemi aracılığıyla toksik karakterde ara metabolitleri olan triklorometil (CCl_3) ve triklorometil peroksil (CCl_3O_2) serbest radikal metabolitlerine dönüşmesi ile bunların da hücre membranındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatmak veya protein ve yağlara bağlanarak hücre membranlarını bozmak suretiyle karaciğer hasarını oluşturduğu bildirilmektedir (4, 5, 98).

Karbon tetraklorür dozu olarak 3 mg/kg kullanan Arosio et al. (109) ratlarda, uygulamadan 24 saat sonra sitoplazmik vakuolizasyon, yağlı karaciğer ve sentrilobüler alanda orta derecede hepatositlerde nekroz meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Shenoy et al. (125) 0,5 mL/kg dozunda akut olarak yedi gün CCl_4 uygulanan ratlarda sentrilobüler hepatositlerde nötrofillerce çevrelenmiş tek hücre nekrozları ile hidropik değişiklikler, özellikle sentral bölge sinuzoidlerinde yangısal hücre infiltrasyonları ve sentral vende konjesyon, midzonal ve periportal hepatositlerde hafiften şiddetliye kadar değişen yağlanma görüldüğünü bildirmişlerdir. Grizzi et al. (126) da 1 mL/kg (dört hafta) CCl_4 uygulanmasıyla ratların karaciğerlerinde sentrilobuler nekroz, orta derecede yağlanma ile makrofaj ve lenfositten yoğun yangısal hücre infiltrasyonu saptamışlardır. Ratlarda 1,5 mL/kg dozunda akut olarak CCl_4 'ün uygulandığı diğer bir çalışmada (124), karaciğerde yağlanma, nekroz ve yangıya neden olduğu, ayrıca oluşan nekrozun sitokrom P450 sisteminin yoğun bulunduğu portal bölgelerde daha şiddetli görüldüğü

ve oluşan serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşen reaksiyonların, nekrozun muhtemel sebebi olabileceği, bununla birlikte karaciğer lopçuklarında periasiner ve portal bölgelerde hidropik dejenerasyon, koagülasyon nekrozu ve fibrozis ile çoğunluğu mononüklear daha az nötrofil lökositlerden oluşan hücresel eksudasyonun olduğu bildirilmiştir (123). Bir başka çalışmada da (98) aynı doz CCl_4 'ün oral olarak tek doz verilmesinden 36 saat sonra ratların karaciğer hücrelerinde nekroz, sitoplazmada vakuolizasyon, kolestazise bağlı karaciğer parankim hücrelerinde dejenerasyon gözlenmiştir. Diğer yandan ratlarda daha yüksek dozdaki CCl_4 'ün (4 g/kg) akut uygulamasının karaciğerde ödem, akut yangısal infiltrasyon, sitoplazmada genişleme ve çekirdeklerin piknotik görünümü ile hepatositlerde dejenerasyon (112), 5 ml/kg dozunda CCl_4 uygulamasının da hepatositlerin sitoplazmasında vakuolizasyon ve çok sayıda diffuz balonumsu dejenerasyon ve nekroz (127) ayrıca genişlemiş ve konjesyone portal damarların çevresinde mononüklear hücre infiltrasyonu, bazı çekirdeklerde piknoz, karyoreksis ve karyolizis ile genişlemiş sinuzoidlerde Kupffer hücrelerinde hiperplazi ve aktivasyon varlığını (128) bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.

Ratlarda karaciğer hasarı oluşturmak amacıyla CCl_4 'ün kronik olarak uygulandığı çalışmalar da mevcuttur (10, 13, 110, 129, 130, 131).

Ratlara sekiz hafta boyunca haftada üç kere (130), on hafta boyunca haftada bir kere (10), on iki hafta boyunca haftada iki kere (131) uygulanan 0,2 mL/100 g CCl_4 'ün, karaciğer dokusunda özellikle portal bölgeden gelişen fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden oluşan fibröz dokunun çevrelediği şiddetli nekroz, hepatositlerde yağ dejenerasyonu ile yangısal hücre infiltrasyonlarının bulunduğu pseudolob oluşumlarına sebep olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmacıların kullandığı CCl_4 dozunun onda birini (0,2 mL/kg) sekiz hafta boyunca kullanan Khan et al. (110), on iki hafta boyunca haftada bir kere 1 g/kg veren Gutiérrez et al. (13) ve on üç hafta boyunca haftada iki kere 1 mL/kg CCl_4 uygulayan Venukumar and Latha (129) da karaciğerde şiddetli nekroz ile birlikte mikro-makroveziküler yağlanma, balonumsu veya vakuoler dejenerasyon, lenfosit hücre infiltrasyonu, fibroz doku artışı ile şekillenen pseudolob oluşumlarını saptamışlardır.

Sunulan çalışmanın akut döneminde CCl_4 'ün iki doz halinde ve 1 mL/kg intraperitoneal yolla uygulanması sonucunda karaciğerde sentrilobüler nekroz, çoğunluğu lenfosit olan mononüklear hücre infiltrasyonları ve sentrilobüler bölgedeki hepatositlerde

büyüklikleri farklı, keski kenarlı yuvarlak yağ vakuollerinin gözlenmesi, CCl_4 'ün farklı dozları kullanılarak akut karaciğer hasarı oluşturan yukarıdaki araştırmacıların (98, 109, 112, 123-128) bulgularını desteklemektedir. Aynı şekilde kronik dönem karaciğer hasarı oluşturan araştırmacıların (10, 13, 110, 129-131) bulgularıyla paralel olarak, bu çalışmada da CCl_4 'ün on iki hafta boyunca 0,2 mL/kg dozunda uygulanmasıyla, ratların karaciğer kesitlerinde özellikle yağ vakuollerinin yoğun olduğu karaciğer parankiminde ortadan şiddetliye değişen yangısal hücre infiltrasyonu ile fibrozis oluşumları saptanmıştır. Bu çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde CCl_4 'e bağlı oluşan karaciğer toksikasyonunun, dolayısıyla oluşan histopatolojik değişikliklerin, lipid peroksidasyonunun başlamasından sorumlu olan CCl_4 'ün toksik metabolitlerinden (5, 98) ileri gelen lipid peroksidasyonuna bağlı olarak hücre zarından iyonların geçişi, membran enzimlerinin aktivasyonu ve hücre içi sinyal iletimi gibi normal hücre fizyolojisinin devamlılığı için önemli olan membran akışkanlığının azalmasından (127) ve ayrıca artan oksidatif stresin hepatositlerde mitokondriyal hasara neden olmasıyla, yağ asitlerinin mitokondriyal oksidasyonunun azalması ve buna bağlı olarak yağ asitlerinin esterleşerek hepatositlerde trigliserid birikimine sebep olmasından (132) kaynaklanabileceği söylenebilir.

Birçok enzimin dokulara spesifik olarak bulunmasından dolayı kan düzeylerinde tespit edilen artışlar karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kası gibi dokulardaki dejenerasyon ve nekrozla seyreden hastalıkların klinik teşhisine kesinlik kazandırmak amacı ile kullanılır. Bu enzimlerden bir kısmı birden fazla organ ve dokuya spesifikken, bazıları da karaciğer gibi bir organa spesifiktir. Aspartat aminotransferaz ve ALT, dejeneratif ve nekrotik, parankim doku kayıplı hepatik hastalıklarda, hücre bütünlüğünün kaybolmasına bağlı olarak dolaşıma geçerek seviyesi artan enzimlerdir (31, 133, 134). Hepatik dejenerasyonda hastalığın şiddeti ile ilişkili olarak artan ALP enziminin genellikle kolestazise bağlı obstrüksiyon veya transport bozukluklarında dolaşımdaki düzeyi artmaktadır (133). Özellikle ratlarda hepatosellüler hasarın en iyi indikatörlerinin serum ALT, SDH ve GDH enzim aktiviteleri olduğu, ancak en kolay belirlenenin ALT enzim aktivitesi olduğundan, çoğu laboratuvarlarda standart karaciğer enzimi olarak bu enzimin kullanıldığı belirtilmiştir (135).

Karbon tetraklorür gibi nekroza sebep olan ajanların karaciğer parankiminde hasara yol açarak plazma AST ve ALT aktivitelerinde artışa sebep olduğu bildirilmektedir (136).

Yapılan akut çalışmalarda CCl_4 ile oluşturulan hasarın derecesine bağlı olarak, serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin yükseldiği gösterilmiştir (9, 98, 101, 137-142). Yang et al. (137), 1,25 mL/kg tek doz halinde uygulanan CCl_4 'ün ratlarda hepatotoksisite oluşturduğunu ve serum AST ile ALT aktivitelerinin arttığını saptamışlardır. Ratlarda oral olarak 1 mL/kg dozunda CCl_4 ile karaciğer toksisitesi oluşturulan başka bir çalışmada (139), ALT ve AST aktivitelerinin CCl_4 uygulanan grupta 12. saatte artmaya başladığı ve 24. saatte kontrol grubuna göre en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmiştir. Bununla birlikte CCl_4 'ün, iki hafta boyunca 3 defa 1 mL/kg dozunda uygulanmasıyla serum AST ve ALT enzim aktivitelerinin (141) ve yine 5 gün süreyle tek doz 1,6 g/kg (1mL/kg) uygulanmasıyla da ALT aktivitesinin (140) yükseldiğini ifade eden çalışmalar da mevcuttur. Karbon tetraklorür uygulanan ratlarda serum AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin birlikte değerlendirildiği çalışmalarda da; akut olarak tek doz 0,5 mL/kg (138), dört hafta boyunca haftada iki kere (9) ve sadece ilk hafta iki kere (101) olmak üzere uygulanan 1 mL /kg (9, 101, 124), ayrıca tek doz 1,5 mL/kg (98) CCl_4 'ün, bu karaciğer enzimlerini artırdığı ortaya konulmuştur. Kronik çalışmalarda da sekiz hafta 0,1 mL/100 gr (143) ve 0,2mL/kg (110), on hafta 2 mL/kg (haftalık) (10); on iki hafta 1 g/kg (13), 1 mL/kg CCl_4 (126) ve 3 mL/kg (haftalık) (144) uygulanan CCl_4 ile serum AST (10, 110, 126, 144), ALT (10, 13, 110, 126, 144) ve ALP (10, 110, 144) enzim aktivitelerinin artış gösterdiği saptanmıştır. Aynı şekilde sunulan çalışmada da akut ve kronik olarak CCl_4 uygulanan gruplarda, bu maddenin karaciğer hücrelerinde meydana getirdiği hasara bağlı olarak hücre membran permeabilitesinin bozulmasıyla kan dolaşımına geçişleri artan AST, ALT ve ALP enzimlerinin serum aktivitelerinde anlamlı yükselmeler dikkati çekmiştir.

Karaciğer fonksiyonunun belirlenmesinde glikoz, albumin ve kolesterolün serum düzeylerinden de yararlanılabilir. Bu ürünler karaciğerde sentezlenirler bu parametrelerde bir değişiklik saptandığında karaciğerin % 80'i devre dışı demektir. Ayrıca serum glikoz, albumin ve kolesterol konsantrasyonları intestinal, hormonal ve böbrek hastalıkları, sepsis ya da diyet gibi diğer birçok faktörden etkilenebilirler. Bu biyokimyasal parametrelerin bu nedenle karaciğer fonksiyonlarına çok duyarlı olmadığı ifade edilmektedir (133). Bununla birlikte sunulan çalışmada karaciğerde sentezlenmelerinden dolayı, bu parametreler de değerlendirilmiştir.

Ratlarla yapılan çalışmalarda, CCl_4 ile oluşturulan akut hepatotoksitenin glikoz düzeylerine etkileri ile ilgili farklı sonuçlara ulaşılmıştır (145-147). Ahsan et al. (145) ratlarda akut olarak 3 mL/kg dozda CCl_4 uygulamasının serum glikoz düzeyinde önemli bir değişikliğe yol açmadığını bildirmelerine karşın, üç doz 1 mL/kg CCl_4 uygulamasının serum glikoz düzeyini azalttığını (147) ve 2 mL/kg CCl_4 ile de serum glikoz düzeyinde bir artış olduğunu da bildiren araştırmalar da mevcuttur (146). Her ne kadar sunulan çalışmada insülin ve IGF-I'in serumdaki düzeyleri belirlenmemiş ise de Martha et al. (146)'ın bildirdikleri gibi, bu çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde sırasıyla ilk hafta iki doz 1 mL/kg ve on iki hafta boyunca haftada iki kere 0,2 mL/kg CCl_4 uygulaması ile serum glikoz düzeylerinde meydana gelen artışların; muhtemelen CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarına bağlı olarak serum insülin ile IGF-I konsantrasyonlarındaki azalmadan veya CCl_4 'e bağlı olarak gelişen karaciğerde glikojen sentezinin azalmasından (13) kaynaklanabilir.

Akut olarak tek (148) ve üç doz 1 mL/kg (147), tek doz 2 mL/kg (sc) (149), iki doz olarak da 1,25 mL/kg (150), 3 mL/kg (sc) (151) uygulanan CCl_4 'ün ratlarda serum kolesterol ve trigliserid düzeylerinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. Botsoglou et al. (148) 1 mL/kg, Ahsan et al. (145) da 3 mL/kg dozda CCl_4 uygulamasının ratlarda, kolesterolün karaciğer hücre hasarı sonrasında dolaşıma geçmesi sebebiyle serumdaki düzeylerinin yükseldiğini ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan Palaniswamy et al. (149) da serum kolesterol ve trigliserid düzeylerindeki artışları, karaciğerden aşırı miktarda kolesterol ve trigliseridlerin salınmasına dayandırmaktadır. Kronik çalışmalarda da haftada iki kere 1 mL/kg (13 hafta) (129) ve 0,1 mL/100 gr (sekiz hafta) (152) uygulanan CCl_4 'e bağlı oluşan karaciğer hasarında da bu parametrelerde bir artış olduğu sonucuna varılmıştır. Sunulan çalışmada da yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla uyumlu olarak akut ve kronik uygulanan CCl_4 ile oluşan karaciğer hasarına bağlı belirlenen serum total kolesterol düzeyinde anlamlı bir artış, her ne kadar istatistik önemde olmasa da trigliserid düzeylerinde de sayısal bir artış saptanmıştır. Bu serum lipidlerindeki artışın, CCl_4 uygulamasıyla esterleşen yağ asitlerinin hepatositlerde trigliserid birikimine neden olması (132) ve karaciğer hücre hasarına bağlı olarak aşırı miktarda dolaşıma geçmesi (145, 148, 149) sebebiyle olabileceği düşünülmektedir.

Ratlarda CCl_4 ile oluşturulan hepatotoksitede serum LDL ve HDL-kolesterol düzeylerine yönelik sınırlı sayıda çalışmalara ulaşılabilmektedir (110, 150). Khan et al.

(110), dört hafta boyunca haftada iki kere 3 mL/kg, Al-Assaf et al. (150) tek doz 1,25 mL/kg CCl₄'ün LDL-kolesterol düzeyini artırırken, HDL-kolesterol düzeyini azalttığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da bu araştırmacıların (110, 150) bulgularıyla paralel şekilde hem akut hem de kronik dönemde uygulanan CCl₄'e bağlı olarak şekillenen karaciğer harabiyetinde görülen serum LDL-kolesterol düzeylerinde artmalar Al-Assaf et al. (150)'ın bildirdikleri gibi muhtemelen LDL-kolesterol reseptörlerinin üretimi veya fonksiyonlarındaki eksiklik ile bu reseptörlerdeki defektlerden, HDL-kolesterol düzeyindeki azalmalar ise LDL-kolesterol düzeyindeki artışlardan veya LCAT enzim aktivitesinin azalmasından ileri gelebilir.

Protein düzeylerindeki azalmaların, karaciğer hasarının karakteristik bulgusu olduğunu ifade eden Achliya et al. (153) ratlarda tek doz uygulanan CCl₄'ün (1 mL/kg) 8 gün sonra, Gnanaprakash et al (98) da (1,5 mL/kg) 36 saat sonra total protein düzeyini azalttığını saptamışlardır. Aynı şekilde akut olarak ratlarda, Shenoy et al. (125) ve Murali et al. (154), 0,5 mL/kg, Kumar et al. (155) 0,3 mL/kg, Breikaa et al. (147) üç doz 1 mL/kg, Althnaian et al. (142) iki doz 1 mL/kg, Awaad et al. (151) 3 mL/kg (sc) CCl₄ uygulamasının hem total protein hem de albumin düzeylerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Kronik olarak da haftada iki kere on üç hafta (129) ve sekiz hafta (intra gastrik) (152) boyunca 1 mL/kg CCl₄'ün serum total protein düzeylerinde azalmalara neden olduğu ortaya konulmuştur. Total protein düzeylerindeki azalma yani hipoproteinemi genellikle albumin noksanlığına bağlı olarak şekillendiğinden, hipoalbuminemi olarak da isimlendirilir (31). Sunulan çalışmada yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla uyumlu olarak hem akut hem de kronik dönemde CCl₄'e bağlı olarak görülen total protein ve albumin düzeylerindeki azalmaların, bu toksik maddenin endoplazmik retikulumdaki poliribozomları bozarak karaciğerde protein sentezini aksatmasından (155) kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Karbon tetraklorür ile oluşan karaciğer hasarının etki mekanizmasının başlangıcında, primer olarak CCl₄'ün CCl₃ radikale dönüşmesinin etkili olduğu ifade edilse de, ikinci mekanizmanın da Kupffer hücre aktivasyonu olduğu, dolayısıyla aktive olmuş Kupffer hücreleri tarafından salınan proinflamatuvar mediatörlerin etkisiyle karaciğerdeki diğer hücrelerin (endotelial hücreler, uydu hücreleri ve hepatositler) aktive olmasına bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (147).

Malondialdehit, hücresel membran sistemlerinde lipid peroksidasyonun ana ürünüdür. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak hızlıca hücresel yapılara ulaşan ozon oluşumuna neden olur ve membran denatürasyonu ve peroksidasyona yol açan hidrojen peroksit ve reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasına yol açar (52, 53). Diğer yandan CCl_4 'ün sebep olduğu yangı ve doku hasarına karşı Kupffer hücreleri, endotelial hücreler ve hepatositlerden yüksek oranlarda salınan nitrik oksidin de önemli bir mediatör olduğu bildirilmiştir (147). Karaciğer hasarı oluşturmak amacıyla CCl_4 'ün; 0.5 mL (125), 1,6 g/kg (156), 1mL /kg tek (157) veya 3 doz (141), tek doz 5 mL/kg (127) olarak akut uygulanması ve altı hafta 0,15g/100g (3 doz/hafta) (40), sekiz hafta 0,2 mL/100g (3 doz/hafta) (130), on hafta 2 mL/kg (10) ve on iki hafta 1g/kg (13) olarak kronik uygulanması ile de karaciğer MDA (10, 13, 40, 105, 125, 127, 130, 141, 157) ve NO (10, 13, 105) düzeylerinin arttığını bildiren araştırmacılarla uyumlu olarak bu lipid peroksidasyon göstergelerinin sunulan çalışmanın hem akut hem de kronik döneminde CCl_4 verilen gruplarda artış göstermesi, CCl_4 ' ün karaciğer endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P450 enzimi aracılığıyla toksik karakterde CCl_3 ve CCl_3O_2 serbest radikallerine dönüşmesiyle oluşan lipid peroksidasyonunun sebep olduğu doku hasarı ve antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliğinden (5, 98, 125) kaynaklandığı düşünülebilir.

Bitkisel kaynaklı birçok ilacın, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması, toksik ve yan etkilerinin az olmasından dolayı farklı kimyasal maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı, antioksidan ve karaciğer koruyucu etkilerinin belirlenmesi amacıyla hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar 20. yüzyılda popüler hale gelmiştir (8). Nar ve biberiye bitkileri de antioksidan aktiviteleri sebebiyle yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Nar çekirdeği yağının asıl antioksidan bileşenlerinin % 95 punisik asit, yağ asitleri, steroller ve ellagik asit olduğu ifade edilmiştir (61).

Karbon tetraklorürle oluşturulan karaciğer hasarına, biyokimyasal parametreler ve lipid peroksidasyonu üzerine nar bitkisi etkisinin belirlendiği sınırlı sayıda çalışmalara ulaşılabilmiştir (10, 12, 158, 159).

Osman et al. (158) ratlarda haftada iki kere üç hafta boyunca 1 mL/200 g CCl_4 uygulaması ile oluşan sentriasiner hepatositlerde vakuoler dejenerasyon, steatozis ve farklı derecelerde dejeneratiftan nekroza kadar varan değişiklikler ile bu alanlarda fokal

mononükleer yangısal hücre infiltrasyonlarının gözlemlendiği karaciğer hasarı üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla verdikleri 50 mg/kg nar kabuğu ekstraktının güçlü antioksidan aktivitesinden dolayı; karaciğer dokusundaki hasarı azaltmasına paralel olarak, artan serum AST, ALT enzim aktiviteleri ve karaciğer MDA düzeyleri ile azalan total protein, albumin düzeylerini de kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını bildirmişlerdir. Chidambara et al. (12) da, on dört gün süre ile 50 mg/kg nar kabuğu ekstraktı verdikleri ratlara on dördüncü gün tek doz 2 g/kg CCl₄ uygulaması ile karaciğerde oluşan kanama ve nekroza bağlı değişikliklerin nar kabuğu ekstraktının kullanımıyla normale yaklaştığını, sadece parankimde fokal odaklar tarzında kanama alanları varlığınının devam ettiğini saptamışlardır. Ayrıca, bu araştırmacılar karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler üzerindeki olumlu etkisini destekleyici olarak nar kabuğu ekstraktının, artan karaciğer MDA ve NO konsantrasyonları üzerine de iyileştirici bir etkisinin olduğunu da ortaya koymuşlardır. Diğer yandan, kronik olarak on hafta boyunca haftada bir kere 2 mL/kg CCl₄ uygulamasından iki hafta önce, günlük ortalama 5,2-6,5 mL arasında değişen miktarda nar suyunun ratlara verilmesiyle; CCl₄ den ileri gelen sentrilobüler nekroz ve balonumsu dejenerasyon gibi karaciğerde görülen histolojik değişikliklerin gözle görülür şekilde azaldığı belirtilmiş, buna paralel olarak da artan karaciğer enzim (AST, ALT, ALP) aktiviteleri ile birlikte, nar suyunun içerdiği antioksidan etkili flavonoidlerden dolayı, serum ve karaciğer MDA ile NO konsantrasyonlarının da azaldığı saptanmıştır (10).

İnsan karaciğer hücrelerinde CCl₄ ile oluşturulan sitotoksositeye karşı hidroalkol, etilasetat veya n-hekzan ile ekstraksiyonları hazırlanmış nar çekirdeği ve suyunun karaciğeri koruyucu etkilerinin incelendiği invitro bir çalışmada da (159), nar çekirdeği ve suyunun hidroalkol ve etilasetat ekstraktlarının CCl₄ den ileri gelen sitotoksositeyi ve MDA konsantrasyonlarını azalttığı, bunun da nar çekirdeği ve suyunun serbest radikalleri azaltıcı, antioksidan ve karaciğeri koruyucu etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Farklı hepatotoksik ajanlarla karaciğer hasarı oluşturularak nar bitkisinin etkinliğini araştıran çalışmalara da rastlanılmıştır (11, 30, 160-163).

Kaur et al. (11) farelerde tek doz Fe-NTA'nın (9 mg Fe/kg) karaciğerde sebep olduğu yağ dejenerasyonu, nekroz ve kanama üzerinde, yedi gün süre ile farklı dozlarda (50,

100, 150 mg/kg) nar çiçeği ekstraktının, yüksek fenolik içerikli ellagik asit ve ellagitannen bileşenlerinden dolayı iyileştirici etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, Fe-NTA'dan kaynaklanan histopatolojik değişikliklerle birlikte artan karaciğer enzim (ALT, AST, ALP) aktiviteleri, MDA ve NO konsantrasyonları ile azalan serum albümin ve total protein değerlerinin, üç farklı dozda kullanılan nar çiçeği ekstraktı ile bir iyileşme gösterdiğini belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada (30), 2 g/kg ethanol uygulamasıyla oluşturulan akut karaciğer hasarında gözlenen santral venlerde dilatasyon ve konjesyon, Kupffer hücre aktivasyonu ile hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon oluşumlarının, 200 mg/kg nar kabuğu ekstraktı ilavesi ile kontrol grubundaki hepatositlerin normal görünümüne yaklaştığı bildirilmiştir. Ayrıca içeriğindeki flavonoid ve fenolik bileşenlerinden ileri gelen antioksidan aktivitesinden dolayı nar kabuğu ekstraktının, karaciğerde görülen histopatolojik değişimlere olan etkisi ile uyumlu olarak, artmış olan serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri ile trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol ile azalan total protein ve albümin değerleri üzerinde iyileştirici etkisinin olduğu da ortaya konulmuştur. Amal et al. (161) da ratlara on dört gün süre 20 mL/kg nar suyu verdikten sonra D-GalN (300 mg/kg)/LPS (30 µg/kg) ile oluşturdukları karaciğer hasarında, santral bölgede yangısal infiltrasyon ve hücrelerde nekroz ile karaciğer yapısının bozulduğunu, nar suyunun hepatoselüler membranlarının yapısal bütünlüğünü koruyucu aktivite göstererek, bu histopatolojik değişiklikleri önlediğini ve artmış olan AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile karaciğer MDA konsantrasyonlarını normal değerlerine yaklaştırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, ratlarda dimetilnitrozamin (200mg/kg, sc) ve fenolbarbital (500 ppm, içme suyu) bağlı olarak gelişen karaciğer hasarında da, hepatositlerde vakuol oluşumları ve balonumsu dejenerasyon gözlenmiş, 1mL/kg nar suyu (dört hafta, oral) verilmesiyle karaciğer hasarının gözle görülür derecede azaldığı ve ayrıca oksidatif stresi de azalttığı bildirilmiştir (162). Histopatolojik değerlendirilmenin yapılmadığı bir çalışmada; tek doz 2 g/kg asetaminofen ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlara oral yolla verilen 0,1 ve 0,2 mL/100g nar suyunun serbest radikalleri uzaklaştırıcı ve antioksidan etkisi ile lipid peroksidasyonunu düşürücü etkinliğine bağlı olarak; hasara bağlı olarak yükselen serum AST ve ALT aktivitelerinin ve lipid peroksidasyon göstergesi olan karaciğer MDA konsantrasyonlarının azaldığı, antioksidan enzimlerinin ise arttığı saptanmıştır (160). Başka bir çalışmada da, altı hafta boyunca rat rasyonlarına 20 ppm dimethoat ilavesiyle karaciğer hasarı

oluşturulmuş ve buna bağlı olarak serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri, MDA konsantrasyonları artarken, total protein, albumin ve antioksidan enzimlerin konsantrasyonları azalma göstermiş, polifenol, total fenol ve total flavonoidler gibi güçlü antioksidanları yüksek oranda içeren nar çekirdeği (% 5 yem) ilavesinin incelenen parametrelerde önemli ölçüde iyileşmeye neden olduğu rapor edilmiştir (163).

Yukarıdaki araştırmacıların (10-12, 30, 158, 161, 162) aksine, sunulan çalışmada NÇY ilavesinin CCl₄ uygulaması ile oluşan akut ve kronik karaciğer hasarına bağlı gelişen histopatolojik değişiklikler üzerinde iyileştirici bir etkisinin olmadığı görüldü. Diğer yandan bazı araştırmacıların (11, 12, 30, 158, 160-162) bulgularıyla uyumlu olarak NÇY uygulamasıyla; akut dönemde karaciğer MDA konsantrasyonu azaldı, serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri, glikoz, total kolesterol, total protein ve albümin düzeyleri kontrol grubu değerlerine yaklaştı. Kronik dönemde de bazı araştırmacıların bulgularını destekler şekilde, karaciğer hasarı oluşturulan gruplara NÇY uygulamasıyla; NO düzeyleri (10) ile ALP aktivitesi (10, 163), total protein, albümin (163) ve total kolesterol değerlerinde bir düzelme belirlendi, ancak AST, ALT enzim aktiviteleri ile glikoz, HDL ve LDL-kolesterol düzeylerinde bir değişim saptanmadı.

Sunulan çalışmada histopatolojik olarak akut dönemde karaciğer dokusunda iyileşmenin görülmemesi, muhtemelen çalışmada kullanılan NÇY'nin dozunun iyileştirici etki gösterecek düzeyde olmamasına bağlanabilir. Nar çekirdeği yağının içeriğindeki flavonoid ve fenolik bileşenlerinden ileri gelen antioksidan aktivitesine (30) ve ayrıca kolesterol düzeyini düşürücü etkiye sahip punisik asit başta olmak üzere, linoleik ve linolenik asit gibi doymamış yağ asitlerine bağlı olarak (164, 165) akut dönemde bazı biyokimyasal parametreleri kontrol grubu değerlerine yaklaştırmasına karşın, özellikle ratlarda karaciğer hasarının başlıca indikatörü olan ve NÇY uygulaması ile düşen serum ALT enzim aktivitesinin, hala kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olması, karaciğer dokusundaki hasarın düzelmediğinin göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Kronik dönemde de histopatolojik olarak karaciğer dokusunda iyileşmenin görülmemesi ve özellikle karaciğer indikatörlerinden olan ALT gibi bazı biyokimyasal parametreleri etkilememesi, muhtemelen CCl₄'ün uzun süre kullanımına bağlı olarak karaciğerde geri

dönüşümsüz bir hasarın gelişmesinden veya organizmanın, uzun süre uygulanan nar çekirdeği yağına adaptasyonundan ileri gelebileceğini düşündürmektedir.

Karaciğer koruyucu özelliği ile bilinen biberiye ekstraktının antioksidan özelliğinin, ana bileşenleri olan karnosol, karnosik asit, rosmanol, rosmadial, epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmariquinon, rosmarinik asit ve esansiyel yağ bileşenlerine ileri geldiği bildirilmiştir (166-171).

Akut (9, 95, 112, 128, 148) ve kronik (9, 13) CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarı ve biyokimyasal parametreler ile lipid peroksidasyonu üzerine biberiye bitkisinin etkisinin belirlenmesine yönelik sınırlı sayıda çalışmalara rastlanılabilmektedir.

Sotexo-Felix et al. (112), ratlarda 4 g/kg tek doz CCl₄ uygulamasından bir saat sonra 200 mg/kg (6,04 mg/kg karnosol) biberiye ekstraktı uygulamaya başlamış ve beş gün boyunca günlük olarak ratların karaciğerlerinde meydana gelen değişiklikleri belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, CCl₄ uygulamasıyla karaciğerde şiddetli nekroz, ödem, yangısal infiltrasyon, sitoplazmada genişleme ve çekirdekte piknoz oluştuğunu, biberiye uygulamasıyla hepatositlerde sitoplazmik dejenerasyonu ve yangısal hücre infiltrasyonunu azaltarak nekrozu ortadan kaldırdığını ve böylece oluşan histopatolojik değişiklikleri kısmen önlediğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu ekstraktın, CCl₄ uygulamasıyla artan karaciğer MDA konsantrasyonu ve plazma ALT aktivitesi ile azalan karaciğer glikojen düzeyleri üzerine iyileştirici bir etkiye sebep olduğunu saptamışlardır. Bir başka çalışmada (9), ratlara dört hafta süre ile haftada iki kez 1 g/kg CCl₄ uygulanmasıyla karaciğerde makro ve mikro steatozis, orta derecede fibrozis (septum oluşturmayan) hemoraji ve fokal nekroz alanları gözlenmiş, 220 ve 440 mg/kg biberiye ekstraktlarının verilmesiyle vakuloler dejenerasyon, fibrozis ve steatoziste azalma meydana geldiği ve CCl₄ uygulaması ile oluşan histopatolojik değişikliklerle paralel olarak artan serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ile karaciğer MDA konsantrasyonlarında uygulanan biberiyenin doz ve süresine bağlı olarak bir düşme saptandığı ifade edilmiştir. Fahim et al. (128), üç hafta süreyle intragastrik yoldan BE (0,15 g/100gr) uygulamasından sonra tez doz CCl₄ (0,5 mL/100 gr) verilmesiyle akut karaciğer hasarı oluşturdıkları ratların karaciğerlerinde, genişlemiş ve konjesyone portal damarların çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu, bazı hepatositlerin çekirdeklerinde piknoz, karyoreksis ve karyolizis ile karakterize dejeneratiften nekroza

kadar giden değişiklikler ve bazılarının sitoplazmalarında vakuoler dejenerasyon ile sinüzoidlerde genişleme, Kupffer hücrelerinde hiperplazi ve aktivasyon saptamışlardır. Sonuç olarak BE'nin oluşan bu histopatolojik değişiklikleri normal yapıya döndürerek sadece bazı portal damarların ve sinüzoidlerin genişlemiş ve konjesyone olduğunu ve bu etkisi ile uyumlu olarak, artmış serum AST, ALT, ALP enzim aktiviteleri, trigliserid ve glikoz düzeyleri ile azalmış olan albumin, total protein ve glikojen düzeylerini de kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığını ileri sürmüşlerdir. Yapılan başka bir çalışmada (95) ise beş hafta boyunca 10 mL/kg BE verilmesini takiben tek doz 50 mg/kg azatioprin uygulanarak akut karaciğer hasarı oluşturulan ratların karaciğerlerinde hepatositlerde dejenerasyon, orta derecede sentrilobuler ve midzonal nekroz, sinüzoidlerde dilatasyon, lobüllerde konjesyon, parankimde hemoraji ile karışık yangısal hücre infiltrasyonları saptanmış olup, biberiye ekstraktının bu değişiklikler üzerine iyileştirici etkisi ile paralel olarak artan serum ALT ve AST aktiviteleri (% 73'e kadar) ile karaciğer MDA konsantrasyonları (% 100) üzerine olumlu etkisinin görüldüğü saptanmıştır. Botsoglou et al. (148) da altı hafta 20 g/kg BE uyguladıkları ratlara 6. haftanın sonunda tek doz 1 mL/kg CCl₄ uygulaması ile artan serum AST, ALT ve ALP enzim aktiviteleri ve karaciğer MDA konsantrasyonları ile azalan kolesterol ve trigliserid düzeylerinin, kontrol grubu değerlerine yaklaştığını bildirmişlerdir.

Gutierrez et al. (13), birinci deneme grubunda on iki hafta boyunca 1 g/kg/haftalık CCl₄ uygulaması ile 200 mg/kg (6,04 mg/kg carnosol) BE'nin eş zamanlı olarak ve ikinci deneme grubunda da, 1 g/kg/haftalık CCl₄ uygulaması ile siroz oluşturduktan sonra 200 mg/kg (6,04 mg/kg carnosol) BE'nin yine on iki hafta verilmesiyle karaciğerde meydana gelen masif nekroz, şiddetli yangı, hücresel yapının kaybolmasıyla karakterize tüm karaciğer yıkımı ve geniş fibrozis alanlarına karşı biberiye ilavesinin, her iki çalışma grubunda da fibrozisi azalttığını ve rejeneratif nodüllerin görüldüğü nekrotik alanlar üzerine iyileştirici etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar CCl₄ uygulamasının karaciğer MDA ve NO konsantrasyonlarında artış meydana getirdiğini bildirmişler, BE'nin serbest radikal süpürücü etkisi ile MDA düzeyinde %17,5, NO konsantrasyonunda ise % 28 oranında bir azalma olduğunu saptamışlardır. Ayrıca CCl₄ verdikleri ratlarda serum ALT enzim aktivitesinde 12 kat artış gözleendiğini ve bu artışın BE ile % 60 oranında azaldığını, CCl₄ uygulamasıyla ile azalan glikojen düzeyleri üzerine de iyileştirici bir etkiye sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Yukarıdaki araştırmacılar (9, 13, 112, 128, 148) hem biberiye ekstraktının ve hem de aktif bileşenlerinin (karnosol ve karnosik asit) lipid peroksidasyonunu bloke edici etkisinin, muhtemelen ya CCl_4 'ün toksik ara metabolitleri olan Cl_3COO ve OH' ı savurucu ve/veya daha az toksik substanslara dönüştürmesine ya da antioksidan etkinliğine bağlı olabileceğini, ayrıca bu ekstraktın toksik ara metabolitlerin oluşmasına aracılık eden sitokrom CYP2E enzimini inhibe etmesinden ileri gelebileceğini ve bu bitki ile bileşenlerinin antioksidan etkinliğine bağlı olarak karaciğer ve plazma membranlarını koruyucu bir ajan olabileceğini vurgulamışlardır.

Sunulan çalışmada CCl_4 uygulaması ile oluşan akut ve kronik karaciğer hasarına bağlı gelişen histopatolojik değişiklikler, biyokimyasal parametreler ve lipid peroksidasyonu üzerinde BE ilavesinin iyileştirici bir etkisinin görülmemesi, araştırmacıların (9, 13, 112, 148) bildirimleri ile örtüşmemektedir. Bu çalışmada Gutierrez et al. (13) ve Sotexo-Felix et al. (112) ile aynı doz biberiye ekstraktı kullanılmasına karşın, elde edilen farklı sonuçlar muhtemelen uygulanan biberiyenin farklı teknikler kullanılarak elde edilmesinden, bileşenlerinin ve oranlarının değişiklik gösterebilmesinden ileri gelebilir.

Sonuç olarak:

- Sunulan çalışmanın akut döneminde kullanılan 0,15 mL/kg nar çekirdeği yağının, CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan histopatolojik değişiklikler üzerinde olumlu etkisi gözlenmemesine karşın, genel olarak incelenen biyokimyasal ve lipid peroksidasyon değerlerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırdığından, kısmen iyileştirici bir etkisinin olabileceği, ancak bu iyileşmenin karaciğer dokusundaki hasara yansımadağı düşünölmektedir.
- Diğer yandan nar çekirdeği yağının kronik olarak uygulanması ile hem histopatolojik değişiklikler hem de bazı biyokimyasal parametreler üzerinde herhangi bir etkisinin görölmemesi, muhtemelen CCl₄'ün uzun süre kullanımına bağılı olarak karaciğerde geri dönüşümsüz bir hasarın gelişmesinin yanında, organizmanın uzun süre uygulanan nar çekirdeği yağına adaptasyonundan kaynaklanabileceğini düşünölmektedir.
- Akut ve kronik olarak verilen 200 mg/kg biberiye ekstraktının, hem histopatolojik değişiklikler hem de biyokimyasal parametreler ile lipid peroksidasyon göstergeleri üzerinde herhangi bir etkisi görölmedi.
- Nar ve biberiye bitkilerinin etkisinin; bu bitkilerin kullanılan kısımları (kabuk, meyve, çekirdek), elde edilen ürünlerin çeşidi (ekstrakt, yağ, su) ile yetiştikleri toprağın yapısı gibi etkenlere bağılı olarak içeriklerinin farklılığına, farklı işleme teknikleri ile hayvanların bireysel duyarlılıkları gibi birçok faktöre bağılı olarak değişebileceği düşünölmektedir.
- Nar çekirdeği yağı ve biberiye ekstraktının farklı sürelerde ve herhangi bir yan etki oluşturmaksızın en iyi sonucu verecek farklı dozlarda kullanılarak dokular üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik yeni araştırmalara ihtiyaç olduğı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Crawford JM. Karaciğer ve safra yolları. In: Robbins Temel Patoloji (7. Baskı). Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2003: 591-630.
2. Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Therapeut* 1989; 43: 139-154.
3. Muriel P, Mourelle M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl₄ liver damage. *J Appl Toxicol* 1990; 10: 275-279.
4. Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: Eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003; 189: 113-127.
5. Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: A review. *J Environ Sci Heal C* 2007; 25: 185-209.
6. Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 81-86.
7. Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik AM. Biyokimya. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Ankara, 2000: 450-496.
8. Dündar Y. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam. *Kocatepe Tıp Derg* 2001; 2: 131-138.
9. Abdel Wahhab El Deen KG, El Shamy KA, El Zizz El Beih NA, Morcy FA, Mannaa FAE. Protective effect of a natural herb (*Rosmarinus officinalis*) against hepatotoxicity in male albino rats. *Commun Sci* 2011; 2: 9-17.
10. Yehia HM, Al Olayan EM, Elkhadragey MF. Hepatoprotective role of the pomegranate (*Punica granatum*) juice on carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Life Sci J* 2013; 10: 1534-1544.
11. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 984-993.

12. Chidambara MKN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. J Agric Food Chem 2002; 50: 4791-4795.
13. Gutiérrez R, Alvarado JL, Presno M et al. Oxidative stress modulation by *Rosmarinus officinalis* in CCl₄-induced liver cirrhosis. Phytother Res 2010; 24: 595-601.
14. Berkin Ş, Alçıgır G. Nekropsi Yöntem, Medisan Yayınları Serisi, Ankara 2003; 34.
15. Gökmen GF. Sistematik Anatomi. Güven Kitabevi, İzmir 2003: 506-518.
16. Milli Ü, Hazıroğlu R. Veteriner Patoloji (2. baskı). Medipres, Ankara, 2000: 148-212.
17. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd Şti, Malatya, 2009: 106-120.
18. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology, An Introduction to Pathology. Mosby Elsevier Company, Philadelphia, 2009: 495- 513.
19. Sherlock S, Dooley J. Anatomy and Function, Diseases of the Liver and Biliary System (10 th ed), Oxford, Blackwell Science Ltd, UK, 1997: 1-15.
20. Plumlee KH. Clinical Veterinary Toxicology. Mosby, United States, 2004; 155-170.
21. Tür L. Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria chamomilla* L.'nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 2008: 6.
22. Haubrick, WS. Gastroenterology, Saunders Elsevier Company, Philadlphia, 2004: 127.
23. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. Kocatepe Tıp Derg 2004; 5: 1-8.
24. Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji (10. baskı), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006: 332-344.

25. İnci A. Sindirim Kanalının Salgı Fonksiyonları. In: Çavuşoğlu, H (ed), Tıbbi Fizyoloji (9. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996: 827-828.
26. Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Principles of Physiology, (5th eds), Elsevier Mosby, 2006: 542-545.
27. Bischoff K, Ramaiah SK. Liver toxicity. In: Gupta RC (eds), Veterinary Toxicology Basic and Clinical Principles, Academic Press, 2007: 145-160.
28. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Brit Med Bull 1993; 49: 481-493.
29. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. Aliment Pharmacol Ther 2007; 25: 883-889.
30. Abozid MM, Farid HEA. The anti-fatty liver effects of guava leaves and pomegranate peel extracts on ethanol exposed rats. J Biol Chem Environ Sci 2013; 8: 83-104.
31. Tiftik AM. Klinik Biyokimya, Mimoza Yayınları, Konya, 1996.
32. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med 2002; 346: 1221-1231.
33. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. Hepatology 2006; 43: 99-112.
34. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. Crc Cr Rev Toxicol 2003; 33: 105-136.
35. Brattin WJ, Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. J Free Radical Bio Med 1985; 1: 27-38.
36. Fan AM, Alexeeff GV. Public health goal for carbon tetrachloride in drinking water. U.S. Environmental Protection Agency, California, D.C, 2000: 2-21.
37. Thrall KD, Vucelick ME, Gies RA et al. Comparative metabolism of carbon tetrachloride in rats, mice, and hamsters using gas uptake and PBPK modeling. J Toxicol Environ Health A 2000; 60: 531-548.
38. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. Biochem J 1984; 222: 1-15.

39. Muriel P, Escobar Y. Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *J Appl Toxicol* 2003; 23: 103-108.
40. Yılmaz S, Bahçecioğlu İH. Karbon tetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. *Türk J Vet Anim Sci* 2000; 24: 25-28.
41. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oksidative stress and free radical damage, *Alcohol Res Health* 2003; 27: 277-284.
42. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: What for? Part I. *Eur Rev Med Pharmacol* 2006; 10: 291-317.
43. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interac* 2006; 160: 1-40.
44. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-879.
45. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 1990; 1: 1-32.
46. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest Radikaller. *Türk Dern* 1996; 30: 116-122.
47. Rozga J. Animal models of liver regeneration. In: *Surgical Research*, WW and Souba DG (Eds.), Wilmore California, Academic Press, 2001:703-707.
48. Alan A. Sülfakinoksalinin Bildircin Plazmasındaki Malondialdehit Düzeyine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2004.
49. Lowestein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide, a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-237.
50. Schulman H. Nitric oxide, a spatial second messenger. *Mol Psychiatry* 1997; 2: 296-299.
51. Köse K, Dogan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Üniv Tıp Derg* 1992; 1: 340-350.

52. Kelly KA, Havrilla CM, Brady TC, Abramo KH, Levin ED. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environ Health Perspect* 1998; 106: 375-384.
53. Uchida K. 4-Hydroxy-2-Nonenal: A product and mediator of oxidative stress. *Progr Lip Res*, 2003; 569: 1-26.
54. Haddad JJ. Oxygen sensing and oxidant/redox-related pathways. *Biochem Bioph Res Co* 2004; 316: 969-977.
55. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652.
56. Aruoma OI. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem* 1994; 32: 671-683.
57. Faria A, Monteiro R, Mateus N. Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress. *Eur J Nutr* 2007; 46: 271-278.
58. Hertog MGL, Sweetnam PM, Fehily AM et al. Antioxidant flavanols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1489-1494.
59. Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA et al. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 1887-1892.
60. Prashanth D, Asha MK, Amit A. Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia* 2001; 72: 171-173.
61. Jurenka J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A review. *Altern Med Rev* 2008; 13: 128-144.
62. Ozgen M, Durgaç C, Serçe S ve ark. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chem* 2008; 111: 703-706.
63. WEB_2. (2014). Vikipedi, nar. http://tr.wikipedia.org/wiki/Nar#mediaviewer/File:Pomegranate_03_edit.jpg (19.11.2014).

64. Yılmaz C, Özgüven AI. Narda (*Punica granatum* L.) meyve çatlaması. Alatarım 2003; 2: 4-9.
65. Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109: 177-206.
66. Noda Y, Kaneyuki T, Mori A et al. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. J Agr Food Chem 2002; 50: 166-171.
67. Meerts IATM, Verspeek Rip CM, Buskens CAF et al. Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. Food Chem Toxicol 2009; 47: 1085-1092.
68. Harborne JB, Grayer RJ. The anthocyanins. In: Harborne JB (ed), The Flavonoids: Advances in Research Since 1980, Chapman and Hill, London, 1988: 1-20.
69. Harborne, JB. The Anthocyanin Pigments. In: Harborne JB (ed), Comparative Biochemistry of the Flavonoids. Academic Press, New York, 1967: 1-30.
70. Du CT, Wang PL, Francis FJ. Anthocyanins of pomegranate, *Punica granatum*. J Food Sci 1975; 40: 417-418.
71. Çelik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. Food Chem Toxicol 2009; 47: 145-149.
72. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem 2000; 48: 4581-4589.
73. Grossmann ME, Mizuno NK, Schuster T, Cleary MP. Punicic acid is an omega-5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. Int J Oncol 2010; 36: 421-426.
74. Vroegrijk IO, van Diepen JA, van den Berg S et al. Pomegranate seed oil, a rich source of punicic acid, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. Food Chem Toxicol 2011; 49: 1426-1430.

75. Kaufman M, Wiesman Z. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI-TOF/MS triacylglycerol fingerprinting. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 10405-10413.
76. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 1141-1148.
77. Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol* 1999; 66: 11-17.
78. Guo C, Wei J, Yang J et al. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutr Res* 2008; 28: 72-77.
79. Malik A and Mukhtar H. Prostate cancer prevention through pomegranate fruit. *Cell Cycle* 2006; 5: 371-373.
80. Malik A, Afaq F, Sarfaraz S et al. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2005; 102: 14813-14818.
81. Toi M, Bando H, Ramachandran C et al. Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions in vitro and in vivo. *Angiogenesis* 2003; 6: 121-128.
82. Ahmed S, Wang N, Hafeez BB, et al. *Punica granatum L.* extracts inhibits IL-1 β -induced expression of matrix metalloproteinases by inhibiting the activation of MAP kinases and NF- κ B in human chondrocytes in vitro. *J Nutr* 2005; 135: 2096-2102.
83. Hidaka M, Fujita K, Ogikubo T et al. Potent inhibition by star fruit of human cytochrome P450 3A (CYP3A) activity. *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 581-583.
84. Vidal A, Fallarero A, Pena BR et al. Studies on the toxicity of *Punica granatum L.* (Punicaceae) whole fruit extracts. *J Ethnopharmacol* 2003; 89: 295-300.
85. Filippich LJ, Zhu J, Oelrichs P et al. Hepatotoxic and nephrotoxic principles in *Terminalia oblongata*. *Res Vet Sci* 1991; 50: 170-177.
86. Kırpık M. Çukurova Bölgesi Kıraç Ve Taban Arazi Koşullarında Yetiştirilen Biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) Çesitlerinin Verim ve Kalitesi Üzerine

Araştırmalar, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2005.

87. WEB_3. (2014). Vikipedi, biberiye. http://tr.wikipedia.org/wiki/Biberiye#mediaviewer/File:Rosemary_bush.jpg (19.11.2014).
88. Aysel MB. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve mercanköşk (*Origanum onites* L.) bitkilerindeki antioksidan aktivite potansiyellerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008: 58.
89. Banyai ES, Tulok MH, Hgedüs A, Renner C, Varga IS. Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarium officinalis* L.) clones. Acta Biol Szeged 2003; 47: 111-113.
90. Nassu RT, Goncalves LAG, Pereira da Silva MAA, Beserra FJ. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. Meat Sci 2003; 63: 43-49.
91. Löliger J. Natural antioxidants. In: Allen JC, Hamilton RJ (eds), Rancidity in foods. Applied Science Publishers, London, 1983: 89-107.
92. Maslarova VY, Heinonen LM. Rosemary and sage as antioxidants. In: Peter KV (ed), Handbook of Herbs and Spices. Woodhead Publishing Ltd, England, 2001; 78-83.
93. Riznar K, Celan S, Knez Z et al. Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary extract in chicken frankfurters. J Food Sci 2006; 71: 425-429.
94. Dapkevicius A, Venskutonis R, Beek TA, Linssen JPH. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. J Sci Food Agric 1998; 77: 140-146.
95. Amin A, Hamza AA. Hepatoprotective effects of hibiscus, rosmarinus and salvia on azathioprine-induced toxicity in rat. Life Sci 2005; 77: 266-278.
96. Joyeux M, Rolland A, Fleurentin J et al. Tert-butylhydroperoxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: a model for studying anti-hepatotoxic crude drugs. Planta Med 1990; 56: 171-174.
97. Gianmario A, Silvio S, Rita PA et al. Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J Agric Food Chem 2007; 55: 1718-1723.

98. Gnanaprakash K, Madhusudhana CC, Ramkanth S et al. Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. Int J Biol Sci 2010; 6: 51-55.
99. Etim OE, Akpan EJ, Usuh IF. Hepatotoxicity of carbon tetrachloride: Protective effect of *Gongronema latifolium*. J Pharm Sci 2008; 21: 268-274.
100. Zuinen R, Yamaji K, Aoki M, Chikuma T, Hojo H. Early induced, high-level interleukin-6 expression in the rat peritoneal cavity into which a hepatotoxicant carbon tetrachloride was administered. Toxicol Lett 2007; 170: 42-48.
101. Atasever A, Yaman D. The effects of grape seed and colchicine on carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. Exp Toxicol Pathol 2014; 66: 361-365.
102. Ihan N, Seçkin D. Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCl₄-induced hepatotoxicity. FÜ Sağ Bil Tıp Derg 2005; 19: 175-179.
103. Khorshid HR, Azonov JA, Novitsky YA, Farzamfar B, Shahhosseiny MH. Hepatoprotective effects of setarud against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. Indian J Gastroenterol 2008; 27: 110-112.
104. Balderas Renteria I, Camacho Corona M, Carranzo Rozales P et al. Hepatoprotective effect of *Leucophyllum frutescens* on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. Ann Hepatol 2007; 6: 251-254.
105. Çetin E, Çetin N. Sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan oksidatif beyin ve böbrek hasarına karşı grelinin koruyucu etkisi. Atatürk Üniv Vet Bil Derg 2011: 195-200.
106. Ohta Y, Kongo Nishimura M, Matsura T et al. Melatonin prevents disruption of hepatic reactive oxygen species metabolism in rats treated with carbon tetrachloride. J Pineal Res 2004; 36: 10-17.
107. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. Int J Pharm Sci Rev Res 2010; 3: 91-100.

108. Karadeniz A, Yıldırım A, Çelebi F. Protective effect of panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats. Atatürk Üniv Vet Bil Derg 2007; 2: 3.
109. Arosio B, Gagliano N, Fusaro LM et al. Aloe-emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride. Pharmacol Toxicol 2000; 87: 229-233.
110. Feroz Khan Z, Asdaq SMB, Prasanna Kumar SR. Effects of few Indian medicinal herbs on carbon tetrachloride induced hepatic injury in animals. International J Pharm Tech Res 2009; 1: 579-587.
111. Sarıca Soyer Z. Ratlarda Pentaklorofenol Zehirlenmesinde Nar Çekirdeği Yağının Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkileri, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2012.
112. Sotelo-Felix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, De La Torre P. Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. J Ethnopharm 2002; 81: 145-154.
113. Green Cj, Knight J, Precious S, Simpkin S. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. Lab Anim, 1981; 15: 163-170.
114. Manual of Histologic Staining Methods; of the Armed Forces Institute of Pathology, Luna LG (Edt), New York Blakiston Division, McGraw-Hill, 1968, 34-75.
115. Çiçek B, Oğuz D, Erden E, Şahin T. Nonalkolik steatohepatitte histolojik hasarı öngöründe klinik ve laboratuvarın yeri. Akad Gastroenterol Derg 2002; 1: 1-7.
116. Schwimmer JB, Behling C, Newbury R et al. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 2005; 42: 641-649.
117. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-275.

118. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clin sci 1993; 84: 407-407.
119. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-426.
120. Cighetti G, Duca L, Bortone L et al. Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. Eur J Clin Invest 2002; 32: 55-60.
121. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T. Lipid peroxidation in material and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135: 372-376.
122. Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. J Pharmacol Exp Ther 1995; 272: 1011-1015.
123. Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G ve ark. Karbon tetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda vitamin E + selenyum ve *Nigella sativa* (çörekotu)'nın karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. Türk J Vet Anim Sci 2003; 27: 141-152.
124. Lu KL, Tsai CC, Ho LK, Lin CC, Chang YS. Preventive effect of the Taiwan folk medicine *Ixeris laevigata* var. *oldhami* on -naphthyl-isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. Phytother Res 2002; 16: 45-50.
125. Shenoy KA, Somayaji SN, Bairy KL. Hepatoprotective effects of *Ginkgo biloba* against CCl₄-induced hepatic injury in rats. Indian J Pharmacol 2001; 33: 260-266.
126. Grizzi F, Franceschini B, Gagliano N. Mast cell density, hepatic stellate cell activation and TGF-beta1 transcripts in the aging Sprague-Dawley rat during early acute liver injury. Toxicol Pathol 2003; 31: 173-178.
127. Aranda M, Albendea CD, Lostalé F et al. In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline. J Pineal Res 2010; 49: 78-85.

128. Fahim FA, Esmat AY, Fadel HM, Hassan KF. Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *Int J Food Sci Nutr* 1999; 50: 413-427.
129. Venukumar MR, Latha MS. Hepatoprotective effect of the methanolic extract *Curculigo orchoides* in CCl₄ treated male rats. *Indian J Pharmacol* 2002; 34: 269-275.
130. Lv P, Luo HS, Zhou XP et al. Thalidomide prevents rat liver cirrhosis via inhibition of oxidative stress. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 777-788.
131. Tasci I, Mas N, Mas MR, Tuncer M, Comert B. Ultrastructural changes in hepatocytes after taurine treatment in CCl₄ induced liver injury. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4897-4902.
132. Santra A, Chowdhury A, Ghatak S, Biswas A, Dhali GK. Arsenic induces apoptosis in mouse liver is mitochondria dependent and is abrogated by N-acetylcysteine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 220: 146-155.
133. Karagül H. Klinik biyokimya. Medisan Yayınevi, Ankara, 2000: 133.
134. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar (2. Baskı), Bahçıvanlar Basımsanayi AŞ., Konya, 2000.
135. Gad SC. *Animal Models in Toxicology* (2nd ed), CRC Press, Taylor and Francis Group, 2007: 812-814.
136. Plaa GL. Chlorinated methanes and liver injury: highlights of the past 50 years. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 42-65.
137. Yang YS, Ahn TH, Lee JC et al. Protective effects of pycnogenol on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 380-387.
138. Lida C, Fujii K, Koga E et al. Effect of alpha-tocopherol on carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Arch Toxicol* 2009; 83: 477-483.
139. Tanrıverdi G. Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarında Değişik Dozlardaki Nikotinamidin Protektif Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2005.

140. Arıcı OF, Cetin N. Protective role of ghrelin against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced coagulation disturbances in rats. *Regul Pept* 2011; 166: 139-142.
141. Ahn M, Park JS, Chae S et al. Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* Miller fruit and its constituent betaine in CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Acta Histochem* 2014; 116: 1104-1112.
142. Althnaian T, Albokhadaim I, El-Bahr SM. Biochemical and histopathological study in rats intoxicated with carbon tetrachloride and treated with camel milk. *Springerplus* 2013; 2: 57.
143. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl₄-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 399-409.
144. Srinivasan M, Rukkumani A. Sudheer R et al. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19: 491-496.
145. Ahsan R, Islam KM, Musaddik A, Haque E. Hepatoprotective activity of methanol extract of some medicinal plants against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Albino rats. *Global J Pharm* 2009; 3: 116-122.
146. Martha S, Anreddy RNR, Devarakonda KR, Yellu NR, Thungathurthi S. Role of liver in progression of insulin resistance in relation to IGF-I and insulin levels in rats with acute hepatotoxicity. *Lat Am J Pharm* 2009; 28: 914-918.
147. Breikaa RM, Algandaby MM, El Demerdash E, Abdel Naim AB. Biochanin a protects against acute carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2013; 77: 909-916.
148. Botsoglou NA, Taitzoglou IA, Botsoglou E et al. Effect of long-term dietary administration of oregano and rosemary on the antioxidant status of rat serum, liver, kidney and heart after carbon tetrachloride-induced oxidative stress. *J Sci Food Agric* 2009; 89: 1397-1406.
149. Palaniswamy R, Raghunathan PP. Protective effect of *Bacopa monnieri* leaf extract against oxidative stress induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharm Pharmac Sci* 2013; 5: 555-558.

150. Al-Assaf AH. Preventive effect of corosolic acid on lipid profile against carbon tetrachloride induced hepatotoxic rats. *Pak J Nut* 2013; 12: 748-752.
151. Awaad AS, Soliman GA, El-Sayed DF, El-Gindi OD, Alqasoumi SI. Hepatoprotective activity of *Cyperus alternifolius* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Biol* 2012; 50: 155-161.
152. Rajesh MG, Latha MS. Hepatoprotection by *Elephantopus scaber* L. in CCl₄-induced liver injury. *Indian J Physiol Pharmacol* 2001; 45: 481-486.
153. Achliya GS, Wadodkar SG, Dorle AK. Evaluation of hepatoprotective effect of *Amalkadi ghrita* against carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *J Ethnopharmacol* 2004; 90: 229-232.
154. Murali A, Ashok P, Madhavan V. Protection against CCl₄ induced hepatotoxicity by pretreatment with methanol extract of *Hemidesmus indicus* var. pubescens leaf in Wistar rats. *Int J Appl Res Nat Prod* 2012; 5: 5-13.
155. Kumar R, Kumar S, Patra A, Jayalakshmi S. Hepatoprotective activity of aerial parts of *Plumbago zeylanica* linn against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharmacy Pharmaceut Sci* 2009; 1: 171-175.
156. Cetin E, Kanbur M, Cetin N, Eraslan G, Atasever A. Hepatoprotective effect of ghrelin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Regul Pept* 2011; 171: 1-5.
157. Jeon TI, Hwang SG, Park NG et al. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Toxicology* 2003; 187: 67-73.
158. Osman M, Ahmed M, Mahfouz S, Elaby S. Biochemical studies on the hepatoprotective effects of pomegranate and guava ethanol extracts. *N Y Sci J* 2011; 4: 27-41.
159. Jamshidzadeh A, Abbasian M, Mehrabadi AR, Niknahad H. Hepatoprotective effect of pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice and seed extracts against CCl₄-induced toxicity. *Iran Soc Pharm Sci* 2012; 8: 181.
160. Jahangir T, Safhi MM, Alam F. Pomegranate juice attenuates acetaminophen induced hepatotoxicity in rat model of experiment. *Adv Life Sci*, 2014; 2: 5-9.

161. Amal AF, Monira A, Abeer H. Modulatory effects of pomegranate juice on nucleic acids alterations and oxidative stress in experimentally hepatitis rats. *Life sci* 2012; 9: 676-682.
162. Shaban NZ, El-Kersh MA, Bader-Eldin MM, Kato SA, Hamoda AF. Effect of *Punica granatum* (pomegranate) juice extract on healthy liver and hepatotoxicity induced by diethylnitrosamine and phenobarbital in male rats. *J Med Food* 2014; 17: 339-349.
163. Salim R, Al-Subu M, Dawod E. Efficiency of removal of cadmium from aqueous solutions by plant leaves and the effects of interaction of combinations of leaves on their removal efficiency. *J Environ Manage* 2008; 87: 521-532.
164. Saha SS, Ghosh M. Ameliorative role of conjugated linolenic acid isomers agonist oxidative DNA damage induced by sodium arsenite in rat model. *Food and Chem Tox* 2010; 48: 3398-3405.
165. Saha SS, Chakraborty A, Ghosh S, Ghosh M. Comparative study of hypocholesterolemic and hypolipidemic effects of conjugated linolenic acid isomers against induced biochemical perturbations and aberration in erythrocyte membrane fluidity. *Eur J Nutr* 2012; 51: 483-95.
166. Nakatani N, Inatani R. Structure of rosmanol, a new antioxidant from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agric Biol Chem* 1981; 45: 2385-2386.
167. Nakatani N, Inatani R. Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and a revised structure for rosmanol. *Agric Biol Chem* 1984; 48: 2081-2085.
168. Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. *J Am Oil Chem Soc* 1984; 61: 1036-1039.
169. Houlihan CM, Ho CT, Chang SS. The structure of rosmariquinone-a new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *J Am Oil Chem Soc* 1985; 62: 96-98.

170. Wijeratne SSK, Cuppett SL. Potential of rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.) diterpenes in preventing lipid hydroperoxide-mediated oxidative stress in Caco-2 cells. J Agr Food Chem 2007; 55: 1193-1199.
171. Bozin B et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. J Agr Food Chem 2007; 55: 7879-7885.

EKLER**Etik Kurul Raporu**

**ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 18.05.2011

Toplantı Sayısı: 05

Karar No: 11/59

Etik kurul toplantısı

18.05.2011

tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel

Etik Kurul

Prof.Dr. Harun ÜLGER

Başkanlığı'nda gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Harun Ülger	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Abdullah İnci	Prof.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Füsun Ferdağ Erdoğan	Doç.Dr	Tıp Fakültesi	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr		
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		
Asiye Gökdelen			Katılmadı

Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Prof.Dr. Ayhan ATASEVER tarafından yapılan "Ratlarada Karbon Tetraklorür ile Olaşturululan Akut ve Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Nar (Punica Granatum) ve Biberiye (Rosmarinus Officinalis) Ekstraktının Etkisi"adlı araştırması incelenerek eksik kısımlarının düzeltilmesi uygun bulunmuştur.

Ek: Düzeltilmesi gereken hususlar.

ASLININ AYNIYDIR

Tarih : 18.05.2011

Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr. Harun ÜLGER

Değerli Sekreteri
Bingül Kocaman

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Duygu YAMAN

Uyruğu: TC

Doğum Tarihi ve Yeri: 10 Ağustos 1985, İstanbul

Medeni Durumu: Bekar

Tel: +90 352 3399484 (29928) – 0 505 430 24 77

email: dyaman@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,
38039 Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora	ERÜ Sağlık Bil Ens. Veteriner Patoloji ABD	Devam ediyor
Lisans	ERÜ Veteriner Fakültesi	2009
Lise	Hayrullah Kefoğlu Anadolu Lisesi	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011-Halen	Erciyes Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce