

**DENEYSEL KARBON TETRAKLORÜR
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE KROSİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**2017
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

Binnaz Elif COŞGUN

**DENEYSEL KARBON TETRAKLORÜR TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
KROSİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Binnaz Elif COŞGUN

**Karabük Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**KARABÜK
Mayıs 2017**

Binnaz Elif COŞGUN tarafından hazırlanan “DENEYSEL KARBON TETRAKLORÜR TOKSİSİTESİ ÜZERİNE KROSİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Eyüp ALTINÖZ
Tez Danışmanı, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 25/05/2017

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Prof. Dr. Seval AYDIN (İÜ)



Üye : Doç. Dr. Eyüp ALTINÖZ (KBÜ)



Üye : Yrd. Doç.Dr. İsmail HASKUL (KBÜ)



...../...../2017

KBÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nevin AYTEMİZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü





“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Binnaz Elif COŞGUN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DENEYSEL KARBON TETRAKLORÜR TOKSİSİTESİ ÜZERİNE KROSİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Binnaz Elif COŞGUN

Karabük Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Eyüp ALTINÖZ

Mayıs 2017, 103 sayfa

Safran bitkisi incelendiğinde birçok hastalığın tedavisinde olumlu yönde cevap verdiği keşfedilerek antioksidanlar arasında yerini almıştır.

Çalışmamızda “deneysel karbon tetraklorür toksisitesi üzerine krosinin koruyucu etkilerinin araştırılması” amaçlanmıştır. Deney hayvanları biriminden temin edilen 50 adet Wistar rat random olarak her grupta 10 hayvan olacak şekilde beş gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; 1.grup (Kontrol grubu); 1 ml/kg/gün serum fizyolojik uygulandı. 2.grup (Mısır yağı grubu); 1 ml/kg/gün mısır yağı uygulanan grup uygulandı. 3.grup (Krosin grubu); 100 mg/kg/gün krosin uygulandı. 4.grup (CCl4 grubu): 1:1 oranında karbon tetraklorür mısır yağı içinde çözülerek gınaşırı uygulandı. 5.grup (CCl4+ Krosin grubu): 100 mg/kg krosin ve 1:1 oranında karbon tetraklorür mısır yağı içinde çözülerek gınaşırı uygulandı.

Uygulanan tüm kimyasallar her sıçana 1 ml/kg hacimde ve ağız yoluyla (gavajla) uygulandı. Yapılan tüm uygulamalar her gün aynı saatte düzenli olarak 15 gün boyunca tekrarlanmıştır.

Bu çalışmada ratlara, 15 gün boyunca g naşırı olarak kanserojen bir madde olan karbon tetraklorür uygulanarak karaciğer, ince ve kalın bağırsak dokuları üzerindeki hasarlar biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelendi. Bu amaçla alınan doku örneklerinde redükte glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA, en önemli lipid peroksidasyon ürünü), total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidan seviyeleri (TOS) ile katalaz ve s peroksidismutaz enzim düzeylerine bakıldı. Ayrıca serumda, karaciğer fonksiyonunu gösteren ALT, AST ve ALP düzeyleri de ölçüldü. Bunun yanında iyi bir antioksidan olan safranın aktif içeriklerinden biri olan krosin ile de bu hasarın giderilebilip giderilemeyeceği de test edildi.

Ratların karaciğer, ince ve kalın bağırsak dokularında CCl4 uygulaması ile ortaya çıkan oksidatif stres ile meydana gelen hasar sonucu GSH ve TAS içeriği azalırken SOD ve CAT aktivitesi ile MDA (lipid peroksidasyonu son ürünlerinden biri) ve TOS seviyelerinde yükselme olduğunu belirledik. CCL4 uygulamasından sonra karaciğerde, serum AST, ALT ve ALP değerlerinin anlamlı bir artışa ($p<0.05$) sebep olduğu görülmüştür. Çalışmamızda antioksidan olarak kullanılan krosinin uygulanması ile dokularda MDA ve TOS düzeyleri ile AST, ALT, ALP, SOD ve CAT düzeyleri azalırken, GSH ve TAS, düzeyleri artmıştır.

Anahtar Sözcükler : Karbon tetraklorür, oksidatif stres, antioksidan, rat, krosin, MDA, GSH, SOD, CAT, ALT, AST, ALP, TAS, TOS.

Bilim Kodu : 201.1.020

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF CROGIN ON EXPERIMENTAL CARBON TETRAKLORIDE TOXICITY

Binnaz Elif COŞGUN

Karabük University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Thesis Advisor:

Assoc. Prof. Dr. Eyüp ALTINÖZ

May 2017, 103 pages

When the saffron plant is examined, it has been found among many antioxidants that it has responded positively to the treatment of many diseases.

In our study, it was aimed to "investigate the protective effects of crocin on experimental carbon tetrachloride toxicity". 50 Wistar rats obtained from the experimental animal unit were randomly divided into five groups as 10 animals in each group. These groups are; Group 1 (Control group); 1 ml / kg / day saline was applied. Group 2 (corn oil group); 1 ml / kg / day corn oil applied group was applied. Group 3 (Crosin group); 100 mg / kg / day of crossover was administered. Group 4 (CCl₄ group): Carbon tetrachloride was dissolved in corn oil at a ratio of 1: 1 and applied over time. Group 5 (CCl₄ + Crosin group): 100 mg / kg crossover and 1: 1 carbon tetrachloride were dissolved in corn oil and applied over time.

All applied chemicals were administered by mouth (gavage) with 1 ml / kg volume of each rat. All applications were repeated regularly for 15 days at the same time every day.

In this study, rats were treated with carbon tetrachloride, a carcinogenic agent for over 15 days, biochemical and histopathologically examined for liver, small and large intestinal tissues. For the purpose of this study, the levels of catalase and superoxide dismutase enzyme were examined in redissolved glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA, the most important lipid peroxidation product), total antioxidant level (TAS) and total oxidant levels (TOS). ALT, AST and ALP levels were also measured in the serum, indicating liver function. However, one of the active ingredients of bile which is a good antioxidant, crocin, has also been tested to see if this damage can be eliminated.

We determined that SOD and CAT activity were elevated in MDA (one of the end products of lipid peroxidation) and TOS levels, while GSH and TAS contents were decreased by oxidative stress induced by CCl₄ administration in the liver, small and large intestine tissues of rats. A significant increase in serum AST, ALT and ALP levels ($p < 0.05$) was found in the liver after CCl₄ administration. In our study, MDA and TOS levels and AST, ALT, ALP, SOD and CAT levels were decreased while GSH and TAS levels were increased in the tissues by application of crocin, which is used as antioxidant.

Key Word : Carbon tetrachloride, oxidative stress, antioxidant, rat, crocin, MDA, GSH, SOD, CAT, ALT, AST, ALP, TAS, TOS.

Science Code : 201.1.020.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐmasının planlanmasında, araŐtırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalıŐmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç.Dr. Eyüp ALTINÖZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen İnönü Üniversitesi öğretim üyesi Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e ve Zeynep AKSUNGUR, Mehmet Erman ERDEMLİ'ye teşekkür ederim.

Sevgili aileme maddi, manevi hiçbir yardımı esirgemedен her zaman yanımda oldukları için tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
KARBON TETRAKLORÜR	4
2.1. KARBON TETRAKLORÜRÜN GENEL ÖZELLİKLERİ	4
2.2. KARBON TETRAKLORÜR ETKİ MEKANİZMASI	6
2.3. KARBON TETRAKLORÜR VE KARACİĞER	6
2.4. KARBON TETRAKLORÜR VE SİROZ	7
BÖLÜM 3	9
SERBEST RADİKALLER	9
3.1. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI	11
3.2. SERBEST RADİKAL ÇEŞİTLERİ	12
3.2.1. Süperoksit	13
3.2.2. Hidrojen Peroksit	13
3.2.3. Hidroksil	14
3.3. SERBEST RADİKAL ETKİLERİ	15
3.4. OKSİDATİF STRES	15

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 4	17
ANTİOKSİDANLAR	17
4.1. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH-PX)	18
4.2. SAFRAN	18
4.2.1. Krosin	19
BÖLÜM 5	21
TEZ ÇALIŞMASINA DAHİL EDİLEN PARAMETRELER	21
5.1. REDÜKTE GLUTATYON (GSH)	21
5.2. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)	22
5.3. KATALAZ (CAT)	22
5.4. AMİNOTRANSFERAZLAR (AST VE ALT)	23
5.5. ALKALEN FOSFATAZ (ALP).....	24
5.6. OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ.....	24
5.6.1. Malondialdehit (MDA).....	24
5.6.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ve Total Oksidan Seviyesi (TOS) ..	25
BÖLÜM 6	26
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	26
6.1. GEREÇLER	26
6.1.1. Kimyasal Malzemeler	26
6.1.2. Kullanılan Aletler	26
6.1.3. Ratların Temini Ve Bakımı, Grupların Oluşturulması	26
6.2. YÖNTEMLER	27
6.2.1. Grupların Oluşturulması	27
6.2.2. Numune Alınması Ve Hazırlık İşlemleri	27
6.2.3. Redükte Glutatyon (GSH) Analizi.....	28
6.2.3.1. Kullanılan Reaktifler.....	28
6.2.4. MDA Analizi	28
6.2.4.1. Kullanılan Reaktifler.....	28
6.2.5. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü	29
6.2.5.1. Kullanılan Reaktifler.....	29

	<u>Sayfa</u>
6.2.6. CAT Aktivitesi Ölçümü.....	29
6.2.6.1. Kullanılan Reaktifler.....	29
6.2.7. TAS Ve TOS.....	30
6.2.7.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS) Aktivite Tayini	30
6.2.7.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Aktivite Tayini	31
6.2.8. Serumda AST, ALT, ALP Tayini.....	32
6.2.8.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT) Tayini.....	32
6.2.8.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT) Tayini	32
6.2.8.3. Alkalen Fosfataz (ALP) Tayini.....	33
6.2.9. Histolojik İnceleme.....	33
6.2.10. İstatistiksel Analizler	34
BÖLÜM 7	35
DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	35
7.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR	35
7.1.1. Grupların Karaciğer MDA Düzeyleri.....	35
7.1.2. Grupların Karaciğer GSH Düzeyleri	36
7.1.3. Grupların Karaciğer SOD Aktivite Düzeyleri	36
7.1.4. Grupların Karaciğer CAT Aktivite Düzeyleri	37
7.1.5. Grupların Karaciğer TAS Düzeyleri.....	37
7.1.6. Grupların Karaciğer TOS Düzeyleri.....	38
7.1.7. Grupların İnce Bağırsak MDA Düzeyleri	38
7.1.8. Grupların İnce Bağırsak GSH Düzeyleri.....	39
7.1.9. Grupların İnce Bağırsak SOD Aktivite Düzeyleri.....	39
7.1.10. Grupların İnce Bağırsak CAT Aktivite Düzeyleri.....	40
7.1.11. Grupların İnce Bağırsak TAS Düzeyleri	40
7.1.12. Grupların İnce Bağırsak TOS Düzeyleri	41
7.1.13. Grupların Kalın Bağırsak MDA Düzeyleri	41
7.1.14. Grupların Kalın Bağırsak GSH Düzeyleri.....	42
7.1.15. Grupların Kalın Bağırsak SOD Aktivite Düzeyleri.....	42
7.1.16. Grupların Kalın Bağırsak CAT Aktivite Düzeyleri.....	43
7.1.17. Grupların Kalın Bağırsak TAS Düzeyleri	43

	<u>Sayfa</u>
7.1.18. Grupların Kalın Bağırsak TOS Düzeyleri	44
7.1.19. Serum Biyokimyasal Analizler	44
7.2. HİSTOLOJİK BULGULAR	46
BÖLÜM 8	68
SONUÇLAR	68
KAYNAKLAR	76
EK AÇIKLAMALAR A. BİYOKİMYASAL ANALİZLER VE HASAR SKORLARI	92
EK AÇIKLAMALAR B. ETİK KURUL KARARI	101
ÖZGEÇMİŞ	103

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Karbon tetraklorürün metabolizma ürünleri	5
Şekil 3.1. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları	11
Şekil 3.2. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu	12
Şekil 4.1. Krosin yapısı	20
Şekil 7.1. Grupların karaciğer MDA düzeyleri	35
Şekil 7.2. Grupların karaciğer GSH düzeyleri	36
Şekil 7.3. Grupların karaciğer SOD aktivite düzeyleri	36
Şekil 7.4. Grupların karaciğer CAT aktivite düzeyleri	37
Şekil 7.5. Grupların karaciğer TAS düzeyleri.....	37
Şekil 7.6. Grupların karaciğer TOS düzeyleri.....	38
Şekil 7.7. Grupların incebağırsak MDA düzeyleri.....	38
Şekil 7.8. Grupların incebağırsak GSH düzeyleri	39
Şekil 7.9. Grupların incebağırsak SOD aktivite düzeyleri.....	39
Şekil 7.10. Grupların incebağırsak CAT aktivite düzeyleri.....	40
Şekil 7.11. Grupların incebağırsak TAS düzeyleri	40
Şekil 7.12. Grupların incebağırsak TOS düzeyleri	41
Şekil 7.13. Grupların kalınbağırsak MDA düzeyleri	41
Şekil 7.14. Grupların kalınbağırsak GSH düzeyleri.....	42
Şekil 7.15. Grupların kalınbağırsak SOD aktivite düzeyleri.....	42
Şekil 7.16. Grupların kalınbağırsak CAT aktivite düzeyleri.....	43
Şekil 7.17. Grupların kalınbağırsak TAS düzeyleri	43
Şekil 7.18. Grupların kalınbağırsak TOS düzeyleri.....	44
Şekil 7.19. Serum AST düzeyleri.....	45
Şekil 7.20. Serum ALT düzeyleri	45
Şekil 7.21. Serum ALP düzeyleri.....	45
Şekil 7.22. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok). H-E, x10.....	46
Şekil 7.23. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.....	46
Şekil 7.24. Kontrol grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.	47

Şekil 7.25. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.....	47
Şekil 7.26. Kontrol grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x40.	47
Şekil 7.27. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok). H-E, x10.....	48
Şekil 7.28. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.	48
Şekil 7.29. Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.	48
Şekil 7.30. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.	49
Şekil 7.31. Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x40.	49
Şekil 7.32. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok).H-E, x10.....	49
Şekil 7.33. Mısır Yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.....	50
Şekil 7.34. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.	50
Şekil 7.35. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.	50
Şekil 7.36. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok), köprüleşme nekrozu (yıldız). H-E, x10.....	51
Şekil 7.37. CCl4 grubu. Karaciğer. Portal alanda vasküler konjesyon (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x20.....	51
Şekil 7.38. CCl4 grubu. Karaciğer. Köprüleşme nekrozu ve ve hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x20.	52
Şekil 7.39. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven duvarında kalınlaşma (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız), apoptotik cisimcik (ok başı). H-E, x40.	52
Şekil 7.40. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven duvarında kalınlaşma (kalın ok), portal alanda vasküler konjesyon (ince ok), mitoz figürü (ok başı). H-E, x40.	52
Şekil 7.41. CCl4+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x10.....	53
Şekil 7.42. CCl4+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x20.	53
Şekil 7.43. CCl4+Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x20.	54
Şekil 7.44. CCl4+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x40.	54
Şekil 7.45. CCl4+Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok), mitoz figürü (ok başı), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x40.....	54
Şekil 7.46. Karaciğer toplam hasar skoru	55
Şekil 7.47. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkuhn kriptası (yıldız). H-E, x10.	55

Şekil 7.48. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	55
Şekil 7.49. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.	56
Şekil 7.50. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	56
Şekil 7.51. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	56
Şekil 7.52. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.	57
Şekil 7.53. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	57
Şekil 7.54. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	57
Şekil 7.55. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.	58
Şekil 7.56. CCl4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	58
Şekil 7.57. CCl4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkün kriptası hasarı (yıldız). H-E, x20.	59
Şekil 7.58. CCl4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkün kriptası dejenerasyonu (yıldız). H-E, x40.	59
Şekil 7.59. CCl4+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	60
Şekil 7.60. CCl4+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus apikalinde epitel hasarı (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	60
Şekil 7.61. CCl4+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok), villuslarda subepitelyal ödem (ok başı). H-E, x40.	60
Şekil 7.62. İnce bağırsak toplam hasar skoru.	61
Şekil 7.63. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	61
Şekil 7.64. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	61
Şekil 7.65. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x40.	62
Şekil 7.66. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.	62
Şekil 7.67. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.	62

Şekil 7.68. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.	63
Şekil 7.69. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.	63
Şekil 7.70. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.	63
Şekil 7.71. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.	64
Şekil 7.72. CCl4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli hasarı (ok), Liberkühn kriptası dejenerasyonu (yıldız). H-E, x10.	64
Şekil 7.73. CCl4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli metaplazisi ve goblet hücresi kaybı (ok), Liberkühn kriptalarında kollaps ve Goblet hücresi kaybı, lamina propriada inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız). H-E, x20.	65
Şekil 7.74. CCl4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli metaplazisi ve dejenerasyonu (ok), lamina propriada eozinofil infiltrasyonu (yıldız). H-E, x40.	65
Şekil 7.75. CCl4+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde lokal metaplazi alanları (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.	66
Şekil 7.76. CCl4+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde dejenerasyon (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.	66
Şekil 7.77. CCl4+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde dejenerasyon ve yüzeyel kapillarda konjesyon (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.	66
Şekil 7.78. Kalın bağırsak toplam hasar skoru.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar	10
Çizelge 3.2. Serbest radikal ve reaktiflerin bazı endojen ve ekzojen kaynakları.....	11
Çizelge 3.3. Sık Karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri	12
Çizelge Ek A.1. Karaciğer dokusu biyokimyasal analizler.....	93
Çizelge Ek A.2. İncebağırsak dokusu biyokimyasal analizler.....	94
Çizelge Ek A.3. Kalınbağırsak dokusu biyokimyasal analizleri.....	95
Çizelge Ek A.4. Serum biyokimyasal analizler	96
Çizelge Ek A.5. Karaciğer hasar skoru	97
Çizelge Ek A.6. İnce bağırsak hasar skoru	98
Çizelge Ek A.7. Kalın bağırsak hasar skoru	99
Çizelge Ek A.8. Toplam hasar skoru	100

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

CCl ₄	: karbon tetraklorür
CCl ₃	: triklorometil
OOCCl ₃	: triklorometilperoksi
O ₂	: oksijen
O ²⁻	: süperoksit anyonu
OH ⁻	: hidroksi
ROO [·]	: peroksi
RO [·]	: alkoksi

KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
GSH	: Redükte Glutasyon
MDA	: Malondialdehit
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Canlılar ve çevrelerinin etkileşmeleri sonucu oluşan ve devamlılık isteyen ekolojik sistemlerde organizmalara kimyasal etkiden söz edilebilmektedir. Canlıların; toksinler, organik çözücüler, antioksidanlar, çevre kirleticiler gibi olumlu veya olumsuz kimyasal etkenlere maruz kalmaları söz konusudur. Dış kaynaklı olan bu kimyasal maddeler, canlıdaki mükemmel dizayn edilmiş olan biyokimyasal sistemle metabolize edilerek varlığını idame ettirebilmesi yine bu sistemdeki kusursuz işleyişe bağlıdır. Organizma, bünyesine aldığı moleküllü bu biyokimyasal sistemle kontrol ederek yabancı olup olmadığını ayırt eder ve yabancı olması halinde sisteme uygun duruma getirerek veya etkisini yok ederek dışarıya salgısını gerçekleştirir.

Organizmalarda eksojen kaynaklı kimyasal maddeler, kimyasalları tanıyıp olumsuz etkilerini yok edebilen hücrelerden oluşan bağışıklık sistemi veya ksenobiyotik adı verilen yabancı maddeleri vücutta değişikliğe uğratıp etkisiz hale getiren enzim sistemleri ile işlenebilir.

Karaciğer, canlıda yaşamın sürdürülmesi esnasında meydana gelen çok sayıda yapım yıkım gibi kimyasal reaksiyonu organize eden, herhangi bir görevini yerine getirmediği takdirde karaciğer yetmezliği, siroz, karaciğer yağlanması, safra kesesi iltihabı gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıktığı önemli bir organdır. Toksik maddelerin nötralize edilmesi, bazı vitaminlerin ve minerallerin depolanması, lipit metabolizmasında; kolesterol sentezi ve atılması, yağ asidi, lipoprotein, safra asitlerinin sentezi ve vitamin D'nin aktivasyonu, ilaçların inaktivitesi, metabolizması ve atılmaları görevlerini üstlenmiştir.

Hücrelerde iç ve dış kaynaklı etkenlere bağlı olarak serbest radikaller meydana gelir. Serbest radikallerin meydana gelme süreçleri, canlının bunların etkilerini yok eden

veya etkilerini daha azaltabilen katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi iç kaynaklı antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin meydana gelme süreci ile dengede olduğunda canlı serbest radikallerin zararlı etkileriyle karşılaşmaz. Fakat serbest radikal oluşumunun hızı, savunma sistemlerini geçerse, serbest radikallerin zararlı etkileriyle karşılaşan organizmada oksidatif stres ortaya çıkar.

Karaciğer hasarları oksidatif stres, kontrolsüz serbest radikal oluşumuyla gerçekleşmektedir. Karaciğer sirozu, karaciğer hücrelerini kronik olarak etkiler ve karaciğer hücrelerine ait yarılanmaya cevap olarak gelişim gösterir. Reaktif serbest radikallerinin üretiminin artmasının, karaciğerde hücre aralarındaki lifli bağ dokunun artmasına bağlı hastalık gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen bir gerçektir. Böylece zararlı radikaller antioksidan savunma sistemini etkisiz bırakarak karaciğer hücre membranlarında oksidatif strese ve dolayısıyla ciddi doku hasarlarına neden olmaktadır.

CCl₄, ilaçların zehirli etkileri, radyasyon, sigara dumanı, solventler, alkol ve uyuşturucular dış kaynaklı etmenlerdir. Karaciğer; dış kaynaklı bileşiklerin zararlı yönlerini en az seviyeye indirmede görevlidir. İlaçların metabolizmasında ve genel olarak zehirsiz hale getirilmesinde önemli rol üstlenen karaciğer, toksisite için özellikle tehlike altındadır [1].

Canlı yapısındaki yerleşimi, fizyolojik ve biyokimyasal görevleri nedeniyle ilaç ve zararlı maddelere oldukça fazla maruziyeti söz konusu olan karaciğerde hasar meydana getiren maddelerden biri de CCl₄'dür [2].

CCl₄ ile meydana gelen hücre hasarı lipit peroksidasyonundaki yükselişle kendini göstermektedir. CCl₄'ün toksik etkisi, triklorometil (CCl₃·) radikaline dönüşmesi ile başlamaktadır. Son yıllarda gerçekleştirilen karaciğer hastalıklarıyla ilgili çalışmalarda oksidatif stres ile meydana gelen karaciğer hasarı ve fibrozis arasında ilişki olduğundan söz edilmektedir [3].

CCl₄'ün düşük dozlarda hepatositlerde yağ yapılarının bozulup normal fonksiyonlarını yerine getiremeyecek duruma gelmesine; yüksek dozlarda ise hepatositlerin geri dönüşümsüz şekilde hasar görmesi sonucu görülen patolojik ölümüne neden olduğu bildirilmektedir [4,5]. Normal şartlarda hücre sel dengenin devamlı değişmesine neden olan iç ve dış kaynaklı birçok stres faktörüne karşı korunmada antioksidanlar rol oynamaktadır [6,7].

Antioksidanlar, canlı dokularında meydana gelen oksidasyon tepkimelerini engelleyen maddelerdir. Canlılarda, oksitleme gibi kimyasal süreçler yüksek derecede reaktif olan serbest radikallerin meydana gelmesine yol açarak farklı moleküller ile kolayca tepkimeye girme potansiyeli yüksek olduğundan hücrelere ve dolayısıyla canlıya zarar verebilir. Antioksidanlar serbest radikallerle tepkimeye girip onlarla bağ kurarak kontrolsüz bir şekilde hücre komponentlerine saldırmasını engelleyerek hücrelere zarar vermelerini önler. Bazı bitkilerin antioksidan özelliğinden faydalanılarak hastalıkların tedavisinde doğal iyileştirici özelliklerinin kullanılması amacıyla araştırmalar yapılmaktadır. Safran bitkisi incelendiğinde birçok hastalığın tedavisinde olumlu yönde cevap verdiği keşfedilerek antioksidanlar arasında yerini almıştır.

Safranın bileşenlerinden olan krosin; cis ve trans formlarıyla safrana renk özelliğini verir ve moleküler formülü C₄₄H₆₄O₂₄ şeklinde yazılır. Safranın renk özelliğinin yanı sıra tadı ve aromasını belirleyen bileşenleri pikrokrosin (C₁₆H₂₆O₇) ve safranaldır.

Bu çalışmada ratlara, 15 gün boyunca gınaşırı olarak kanserojen bir madde olan CCl₄ uygulanarak karaciğer, ince ve kalın bağırsak dokuları üzerindeki hasarlar biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenecektir. Bu amaçla alınan doku örneklerinde redükte glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA, en önemli lipid peroksidasyon ürünü), total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidan seviyeleri (TOS) ile CAT ve SOD enzim düzeylerine bakılacaktır. Ayrıca serumda, karaciğer fonksiyonunu gösteren ALT, AST ve ALP düzeyleri de ölçülecektir. Bunun yanında iyi bir antioksidan olan safranın aktif içeriklerinden biri olan krosin ile de bu hasarın giderilebilip giderilemeyeceği de test edilecektir.

BÖLÜM 2

KARBON TETRAKLORÜR

2.1. KARBON TETRAKLORÜRÜN GENEL ÖZELLİKLERİ

CCl₄; sanayinin birçok alanında, organik bileşiklerin oluşturulması esnasında ve benzeri yerlerde geniş kullanım alanlarına sahip mevcut rengi bulunmayan, uçucu ve zararlı bir kimyasaldır. Apolar bir molekül olan CCl₄, bir karbon atomuna bağlı dört klor atomunun tetrahedral konumda bağlı yapıya sahiptir. Kullanım alanlarında kuru temizleme, böcek ilaçları, yangın söndürme, soğutucu düzenekte ısı transfer elemanı olarak kloroflorokarbon sentezi de bulunur. CCl₄'ün kanserojen etkisi göz önüne alındığında kimya fabrikalarına yakın yerlerde ikamet edenlerin, böcek ilacı uygulayanların, kuru temizleyicilerin tehlike altında oldukları söylenebilir [8].

Çevreden insan vücuduna günlük ortalama 0.1 µg CCl₄ girişi sözkonusudur [9]. Vücuda giriş yolları hava, su, gıda ve deri teması olarak gerçekleşir ve karaciğer, beyin, böbrek gibi organlara nüfuz ederek vücuda dağılım gerçekleşir. Vücuttan atılımı solunum, dışkı, idrar yoluyla mümkündür [10]. Vücuda girişi gerçekleşen CCl₄ yağ dokularına yerleştikten sonra akciğere doğru hareket eder ve metabolizesi gerçekleşen bu yapının bir kısmı solunum yolu ile dışarı atılır. Vücutta emilimi gerçekleşen CCl₄, birkaç gün sonra karaciğerde yağlanma ve karaciğer hasarına neden olur. Karaciğerde meydana gelen bu değişimlerden dolayı aspartat aminotransferaz (AST) ve aldolaz enzim düzeylerinde artış meydana gelmektedir. Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi (EPA) hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlara göre, CCl₄ insan için olası kanserojen madde sınıfında yer almaktadır [9,11].

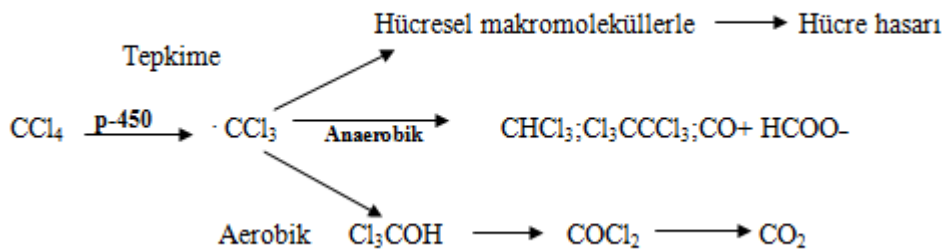
CCl₄, merkezi sinir sistemine etki ederek, dozuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak vücutta çeşitli şekillerde kendini belli edebilir. Baş dönmesi, güçsüzlük, sersemlik, uyuşukluk, dengesizlik bu belirtilerden bazılarıdır. CCl₄'e kronik maruz

kalma sonucu siroz meydana gelebilirken, akut maruz kalma karaciğer hasarına yol açmaktadır [12].

Canlı organizması için yabancı olan maddelere ksenobiyotik adı verilmekle birlikte zamanla gelişen teknoloji bu ksenobiyotiklerin sayısının artmasına neden olmuştur. Organizma bu yabancı maddelerin etkisinden korunmak için koruyucu enzim sistemleri geliştirmiştir. Sitokrom P450 enzimi bu koruyucu sistemlerden olup bitki, hayvan, bakteri, insanda bulunur.

Sitokrom P450 enzimlerinin katalizlediği tepkimelerden bazıları steroid hormon biyosentezi, ksenobiyotiklerin serbest radikallere dönüşüm metabolizması, yağda çözünen vitaminlerin metabolizması ve detoksifikasyonlardır. Bu enzim sisteminin en fazla bulunduğu yer karaciğer olup bu enzimler aracılığıyla ksenobiyotik adı verilen yabancı maddeler reaktif toksik maddeler olan ara metabolitler haline dönüştürülür [13,14].

Sitokrom P-450 enzim sistemi, CCl_4 'ü reaktif toksik madde olan $\cdot CCl_3$ ara metabolitine dönüştürür ve sonra oksijen varlığında triklorometilperoksi ($\cdot OOC Cl_3$) oluşumuna neden olur. Reaktif toksik madde olan $\cdot OOC Cl_3$, poliansatüre yağ asitleri ile tepkimesi sonrası lipid peroksidasyonu başlar veya yağlara, proteinlere kovalent bağlanmasıyla hücre zarı bozulmasına, böylelikle de karaciğerde hasara neden olmaktadır [14-19].



Şekil 2.1. Karbon tetraklorürün metabolizma ürünleri [15].

2.2. KARBON TETRAKLORÜR ETKİ MEKANİZMASI

Canlılarda hepatoksisiteye neden olan CCl₄, serbest radikal oluşumu ile hücrede hasar meydana getirebilen bir ksenobiyotiktir. Deneysel çalışmalarda toksisite oluşturmak için yaygın olarak kullanılır. Lipit peroksidasyonundaki artış, CCl₄ ile oluşumu gerçekleşen hücre hasarının meydana getirdiği sonuçlardandır. Muriel vd. ile Wang vd. çalışmalarına göre CCl₄'ün meydana getirdiği toksisitenin reaktif metabolit olan ·CCl₃'e dönüşümü ile başladığı yaptıkları çalışmalar ile bildirilmiştir [20,4].

CCl₄ ile karaciğerinde hasar oluşturulmuş ratlarda yapılan çalışmalara göre yağ dokusu dejenere olmuş ve sentrilobüler nekrozisin serbest radikaller ile olan tepkimelerden sonuçlanarak CCl₄'ün hepatotoksik ajan olduğu kanısına varılmıştır [21].

CCl₄'ün uygulandığı ve karaciğerde hasar oluşturulan ratlarda karaciğer yağlanması tespit edilmiştir. CCl₄'e maruz kalan canlılarda merkezi sinir sistemi baskılanması meydana gelir ve çeşitli şekillerde semptomlarla karşılaşılabilir. Sıçanlarda yapılan deneyler ile CCl₄'ün sperm üretimini azaltıp testislerde dejenerasyona sebebiyet verdiği gözlemlenmiştir [22].

Bazı çalışmalarda antioksidan maddelerin sitokrom P-450 sistemini baskılamasıyla reaktif toksik maddelerin oluşumu önlenmiş ve CCl₄'ün zararlı etkisi azaltılmıştır [14].

2.3. KARBON TETRAKLORÜR VE KARACİĞER

Canlı yaşamını devam ettirebilmesi için meydana gelen birçok kimyasal tepkime karaciğerde gerçekleşmektedir. Karaciğerde işlev bozukluğu ciddi bir sağlık sorununa neden olabilmektedir. Karaciğer hastalığının tedavisinde kullanılan interferon ve kortikosteroidler gibi sentetik ilaçlar pahalıdır ve daha fazla hasara neden olabilir [23]. Doktorlar ve hastalar yan etkileri daha düşük olan terapötik ajanlara ihtiyaç duymaktadırlar [24].

CCl₄, karbon disülfürle ya da kükürt monoklorür ile tepkimeye girmesi sonucu serbest radikallerin fazla olması ile siroz meydana getirebilen kimyasaldır [4].

Oksidatif stres ve hidroksi ve oksijen serbest radikalleri oluşumu ile hepatosit membranında hasar olduğu deneysel olarak belirtilmiştir [25]. Karaciğerde CCl₄'ün metabolize edilmesiyle meydana gelen serbest radikaller, membran lipid ve membran proteinlerine direkt ve indirekt olarak etki edebilir [26].

CCl₄'ün direkt etkisi, metabolizma esnasında stabil olmayan serbest radikal $\cdot\text{CCl}_3$ 'ü meydana gelerek protein ve lipidler ile kovalent bağ oluşturması ile kloroform ya da $\cdot\text{OCCl}_3$ 'e dönüşümüyle ortaya çıkar. İkincil olarak MDA ve hidroperoksit yapılarından meydana gelen kısa zincirli karbonhidratların oluşumu söz konusudur [27]. Karaciğer hücrelerinde nekroz gelişiminde, toksik etki sonrası oluşan serbest radikallerin hücre membranındaki fosfolipidlerde doymamış yağların peroksidasyonuna yol açmasıyla zararlı etkisi mevcuttur [28-30].

CCl₄'ün indirekt etkisinde, karaciğerdeki antioksidan savunma sistemleri, serbest radikalın üretimi ile aşılması sonrası doku hasarında lipid peroksidasyonu ortaya çıkar ve hasar sonrası karaciğer fibrozisi ardından siroz meydana gelebilmektedir [31,32]. CCl₄ karaciğerde üç şekilde etki bırakabilir: Karaciğer yağlanması, hidropik dejenerasyon ve hepatosellüler zon [33]. Karaciğer rahatsızlıkları ile ilgili gerçekleştirilen çalışmalarda, oksidatif strese bağlı karaciğer hasarı ve fibrosiz ilişkisi görülmektedir [3,34].

2.4. KARBON TETRAKLORÜR VE SİROZ

Siroz; karaciğerde rejenerasyon nodüllerinin varlığı ve fibrozisteki artış ile teşhisi konulan bir hastalık olup invitro ve invivo çalışmalar, oksidatif stresin karaciğer fibrogenezindeki önemini ortaya koymaktadır. Deneysel çalışmalarda kullanılan ratlarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarı patogenezinde serbest radikallerin rolü büyük olup serbest radikaller hücre proteinlerini oksidatif hasara uğratarak hücrelerin fonksiyonlarında değişim meydana getirir.

CCl₄, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik gibi toksik maddeler, enfeksiyon ve parazit larvası, karaciğerdeki alyuvar yıkımı sonucu aşırı seviyede hemosiderin

birikimi gibi faktörler karaciğerde siroza neden olup yapılan araştırmalarda pek çok araştırmacı siroz oluşturmak amacıyla CCl4 kullanmıştır [35-39].

CCl4'ün oluşturduğu hasardan ve bu hasarlardan biri olan sirozdan karaciğer, dalak, pankreas, akciğer, kalp gibi çok fazla sayıda organ doğrudan ya da dolaylı etkilenir. Ayrıca dolaşım sistemi, solunum sistemi, boşaltım ve sinir sisteminin etkilenmesi de kaçınılmazdır [38-42].



BÖLÜM 3

SERBEST RADİKALLER

Bileşimin kararlı bir yapıya sahip olması elektronlarının birbirleriyle düzenli etkileşimlerine bağlıdır ve element, bileşiklerin dış yörüngesindeki çiftleşmemiş elektronlar “serbest radikal” olmalarına yol açmaktadır. Tepkime sırasında değişmeden kalan atom grupları, literatürde radikal adıyla yer almaktadır [43].

İnsan yaşamı için çok gerekli olan oksijen, metabolik olaylar sırasında reaktif oksijen türleri şeklinde üretildiğinde vücuda çok zararlı olabilmektedir [44]. Büyük bir kısmı serbest radikallerden meydana gelen reaktif oksijen türlerinin normal oksijene göre kimyasal reaksiyona girme eğilimi daha yüksektir [45]. Reaktif oksijen türlerinin de içinde bulunduğu serbest radikallere çiftleşmemiş elektronlar reaktivite kazandırarak vücudun çeşitli fonksiyonlarına zarar vermelerine yol açmaktadır. Lipid, protein, DNA ve nükleotid ile koenzimler serbest radikallerden zarar gören başlıca biyolojik materyallerdir ve yapılarının bozulmasıyla yaşlanmayla birlikte kalp-damar rahatsızlıkları, kanser, sinir sistemi dejenerasyonu gibi birçok hastalığa sebebiyet vermektedirler [44].

Çevre kirleten maddeler, radyasyon, çeşitli tedavi amaçlı kullanılan ilaç ve yöntemler metabolizmaya etki ederek hücrede reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesinde rol oynamaktadır. Tekli oksijen (O_2), süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksi ($\cdot OH$), peroksi ($ROO\cdot$) ve alkoksi ($RO\cdot$) bu radikallerin bazıları olup vücutta bu serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı savunma sistemleri bulunur. Bu savunma sistemleri farklı hücrelerde farklı radikaller üstünde görevlidir ve bu nedenle birbirlerini tamamlayan bir düzen içerisindedirler [44,46].

Serbest radikaller, ömürleri çok kısa olan kararsız yapıda olup bu radikaller kararlı yapıya geçmek için çevresindeki moleküllerle etkileşirler ve elektron almaya çalışırlar.

Serbest radikaller, canlıdaki metabolik olaylar esnasında, hücrede iç kaynaklı yani mitokondriyal solunum zincirinde veya hücre dışında yani dış kaynaklı radyasyon, ilaçlar, zararlı kimyasal maddeler ile oluşabilmektedir [47,48].

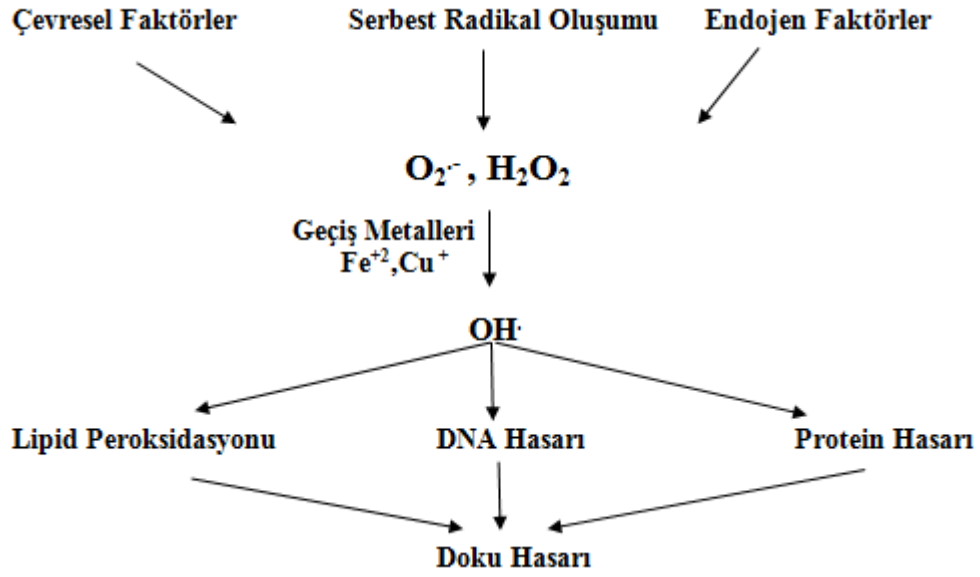
Çizelge 3.1. Serbest radikallerin sebep olduğu hastalıklar.

Down Sendromu	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar
Astım	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 üretimi
Kanser	Bağırsak, Göğüs, Karaciğer, Akciğer, Lösemi, Prostat
Zehirlenme	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
Diyabet	Anormal substrat oksidasyonu veya oksijen konsantrasyonundaki değişim
Zenobiyotik	İlaç ve toksin kullanımında
Alzheimer	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $HClO$ üretimi
Metal iyonları (Hg, Fe, Cu)	Geçiş metallere oksijene elektron transferi
Parkinson	Hücrelerdeki yapısal bozulmalar
Damar sertliği	Savunma sistemindeki aşırı yüklenme veya hatalar

Serbest radikaller, canlı organizmada mitokondri ve hücre membranına bağlı olan serbest haldeki enzimlerin tepkimeleri ile meydana gelmektedir [49]. Oksijenli ortamda yaşayabilen canlılarda serbest radikallerin oluşumunda oksijen ve azottan söz edilebilir ve bir kısmı radikal nitelikli olup bazıları da tepkime sonrası radikallere dönüşmektedir [48]. Canlıların yaşamını sürdürebilmesi, hareket etmesi, iş yapabilmesi ve büyümesi için enerjiye ihtiyacı vardır [50-52].

Oksidatif metabolizmada enerji elde edilmesi için oksijenin bir kısmı suya indirgenirken bir kısmı da elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelere yani serbest radikallere dönüşerek moleküllerin yapılarını, fonksiyonlarını değişime uğrattır birçok dokuda hasar meydana getirmektedir [53-55].

Hücre üzerinde direk etki gösteren serbest radikaller damar sertliği, kanser, yaşlılık gibi birçok rahatsızlığın meydana gelmesinde rol oynayarak kalıcı hasarlar bırakabilmektedir [56,57].



Şekil 3.1. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları.

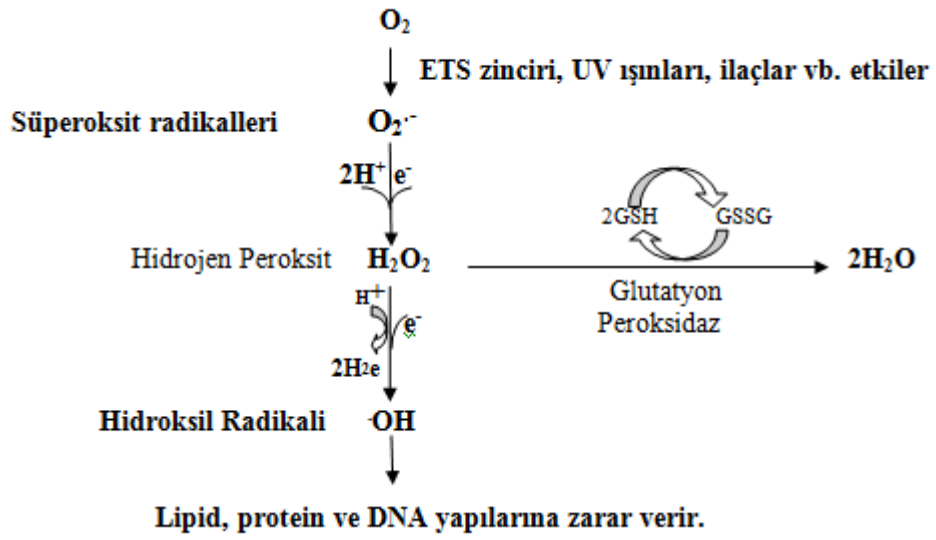
3.1. SERBEST RADİKAL KAYNAKLARI

Organizmada meydana gelen oksidan maddelerin kaynağı, metabolizmada besinden enerjinin üretimi tüketiminde gerçekleşen kimyasal olaylardır ve meydana gelen serbest radikallerin kaynağı da elektron transport sistemi, oksidasyon reaksiyonları, UV ışınları, sigara, kanserojen maddeler gibi dış kaynaklardır. Reaktif oksijen radikali oluşumu, mitokondriyal elektron transport zinciri sızıntıları, mitokondri iç zarında yer alan oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenlerinin yüksek oranda indirgenmesi ile meydana gelmekte ve süperoksit radikal üretimi böylece artmaktadır [31,58]. Serbest radikal oluşumu endojen ve ekzojen kaynaklı olabilmektedir. Serbest radikallerin bazı endojen ve ekzojen kaynakları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Serbest radikal ve reaktiflerin bazı endojen ve ekzojen kaynakları.

Endojen Kaynaklar	Ekzojen Kaynaklar
Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri	Diyet Faktörleri
Redoks Reaksiyonları	Sigara Dumanı
Otooksidasyon Reaksiyonlar	İlaçlar
Oksidatif Reaksiyonlar	Ksenobiyotikler

NADH ve FADH₂'de yer alan indirgeme potansiyeli yüksek olan elektronlar, glikoliz, yağ asitleri ve TCA devrinde meydana gelmektedirler. Bu elektronlar, elektron transport zinciriyle mitokondri iç membranında moleküler oksijene (O₂) aktarılırken bu sırada oksijenin kısmi indirgenmiş ürünleri oluşmaktadır. Oksijenin çok reaktif yapıdaki kısmi indirgenmiş ürünleri, biyomolekül yapısına kalıcı hasar bırakmaktadır [59]. Dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin metabolizmada oluşum yolları Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu.

3.2. SERBEST RADİKAL ÇEŞİTLERİ

Oksijenli solunum gerçekleştirebilen canlı organizmalarda oksijen bulunan ortamda radikal üretimi meydana gelmektedir. Çizelge 3.3'de sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri görülmektedir.

Çizelge 3.3. Sık karşılaşılan radikaller, simgeler ve kimlikleri.

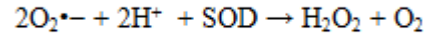
Simge	Radikal	Tanım
$H\cdot$	Hidrojen	En basit radikal denilebilir.
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit	Oksijen metabolizmasında ilk ara ürün.
$OH\cdot$	Hidroksil	Reaktif oksijen metabolitidir.
H_2O_2	Hidrojen Peroksit	Düşük reaktiviteye sahiptir.
O_2^{\cdot}	Singlet oksijen	Yarılanma ömrü hızlıdır.

3.2.1. Süperoksit

Moleküler oksijenin elektron alarak indirgenmesiyle oluşan süperoksit radikali, metabolizmada gerçekleşen normal kimyasal tepkimelerde fazla miktarda sentezlenebilmektedir. Daha çok oksijenli solunum yapan hücrelerde meydana gelen süperoksit radikali, hücrenin elektron transfer sisteminde de oluşabilmektedir. Toksik yapıda olmaları nedeniyle vücutta savunma sisteminde rol alan mikroorganizmaları öldüren süperoksit radikali, NADH oksidaz enzimi tarafından çok miktarda üretildiği gibi mitokondride solunum zincirinde oluşan oksijen kaçakları sonucu da fazla miktarda üretilmektedirler [60,61].

Birçok enzim tarafından oluşturulabilen süperoksit radikali, enzimatik olmayan elektron transferleri ile de meydana gelebilmektedir [62].

SOD enzimi, süperoksit radikalının yok edilmesi görevinde rol üstlenerek $O_2^{\cdot-}$ 'nin H_2O_2 ve O_2 'e dönüşümünü katalizlemektedir [61]. Süperoksit radikalının daha az reaktifliğe sahip hidrojen peroksite dönüşümü şu tepkimeyle mümkün olmaktadır.



Zayıf asidik ortamda SOD enzimi olmadan da hidrojen peroksite çevrilebilen süperoksitin, SOD enziminin yüksek katalitik etkisi sebebiyle hücrelerde birikimi engellenmektedir. Süperoksit üretiminin artması gibi çeşitli patolojik durumlarda süperoksite özgü reaksiyonlar oluşabilmektedir [63,64].

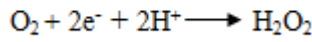
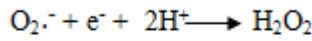
3.2.2. Hidrojen Peroksit

İki elektron alan oksijenin indirgenmesi sonucu hidrojen peroksit oluşumu gerçekleşmektedir. Ayrıca organizmada süperoksitten elektron transferi sonucu SOD ile enzimatik dismutasyon tepkimesi sonucu hidrojen peroksit oluşmaktadır. Hidrojen peroksit oluşma yollarından biri de süperoksit moleküllerinin meydana getirdiği enzimatik olmayan dismutasyon tepkimesi olup süperoksitin dismutasyonu tepkimesi

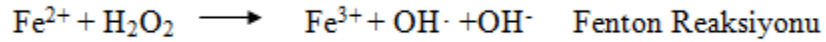
iki proton alan süperoksit moleküllerinin H₂O₂ ile moleküler oksijen oluşturma esasına dayanmaktadır [65].



Süperoksitin etrafındaki moleküllerden bir elektron alması sonucu oluşan peroksit iki proton (H⁺) ile birleştiğinde hidrojen peroksit oluşmaktadır [60,66,67].



Reaktif bir tür olmayan H₂O₂, yapısında paylaşılmamış elektron bulunmadığı için radikal niteliği taşımamaktadır. H₂O₂'in oksitleyici olduğu kabul edilmektedir [68].



3.2.3. Hidroksil

Oksijen merkezli ve reaktif bir tür olan hidroksil radikalinin hücrede yarılanma ömrü 10⁻⁹ sn olup hidrojen peroksitin metal iyonları katalizörlüğünde meydana getirdiği Fenton reaksiyonu sonucunda oluşumu gerçekleşen hidroksil miktarı; vücutta üretimi sağlanan hidrojen peroksit derişimi ve serbest metal iyonlarının varlığına bağlı olmaktadır [68,69]. Hidroksil, suyun radyasyona maruz kalması sonucu meydana geldiği gibi hidroperoksitlerin (ROOH) parçalanması ile de oluşumu mümkün olabilmektedir [69].

Serbest radikal zincir reaksiyonu olan lipid peroksidasyonu, hücre membranında hidroksil radikalinin bıraktığı hasardan kaynaklanmaktadır. Hidroksilin hedefi yağ asidi olup hücre zarında meydana gelen lipid peroksidasyonu zarın yapısına zarar vererek hücre geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilmektedir [31,70].

Hücre membranında meydana gelen hasardan dolayı akciğer, böbrek rahatsızlıkları, damar tıkanıklıkları, kanser gözlenebilmektedir [61].

3.3. SERBEST RADİKAL ETKİLERİ

Ortalama difüzyon yarıçapları büyük olmayan olan serbest radikaller, son derecede aktif olup düşük aktiviteli radikallerde yüksek difüzyon hızına karşılık hücrede belirgin tahribata neden olmazlar. Serbest radikal olan $\cdot\text{CCl}_3$ ve $\cdot\text{OH}$ 'in yarılanma ömürleri bir kaç mikrosaniye olduğu saptanmıştır [71].

Zincir reaksiyon olarak nitelendirilebilen radikalik tepkimeler üç basamakta gerçekleşirken ilk basamakta radikal oluşumu meydana gelir. Basamakların ikinci safhası ara metabolit olan serbest radikaller üzerinden yürür ve bu basamağa ilerleme basamağı adı verilir. Hücrede hasar bu aşamadaki serbest radikaller ile ortaya çıkarken bu basamaktaki tepkimeler sonsuza kadar sürebilir ya da radikalleri yok edici etmenler tarafından sonlandırılabilir. Hücrenin sağlıklı bir şekilde varlığını devam ettirebilmesi bu radikal yok edenlerin var olması ve kusursuz işlemesine bağlı olup aksi durumda sitotoksite ortaya çıkmaktadır [72].

3.4. OKSİDATİF STRES

Oksidatif stresin, protein ve nükleik asit yapısının modifikasyonları, membran iyonu taşınımına ve geçirgenliğine hasar verme, lipid peroksidasyonu ile hücrelerin yok edilmesi gibi hücrel metabolizmanın başlıca bozulmalarına neden olduğu bilinmektedir. Serbest radikaller ile antioksidan arasındaki denge, oksidatif stresin neden olduğu hücrel membranın hasar görmesini önlemek için önemli bir gereklilik haline gelir.

Organizmada, antioksidan savunma sistemi ile denge halinde bulunan reaktif oksijen türleri denge bozulmadığı takdirde fayda sağlamaktadır. Serbest radikallerin görevleri arasında; hücreler arası haberleşme, hücre büyümesini sağlayan olayların düzenlenmesi, proteinlerin yapı ve işleyişlerini düzenlemede yer almaktadır [73,74].

Canlı sistemde reaktif oksijen türlerin zararlı etkilerinden koruyup bu zararlı etkileri yok eden antioksidan savunma sistemleri bulunur ve bu işleyiş dengede olduğu sürece organizmada hasar meydana gelmemektedir. Ancak savunma sistemleri görevini tam olarak yerine getiremezse ya da bu zararlı radikallerin üretim hızı savunma sisteminin gücünü aşarsa serbest radikaller organizmada hasar oluşturabilmektedirler. Antioksidan savunma sistemi ve serbest radikal oluşum hızı arasındaki denge bozulmasıyla oksidatif stres etkisi ortaya çıkmaktadır [73,75-78].

Oksidatif stresin, hücre organelleri ve hücre zarında lipid ve protein yapısını bozmak, enzimleri etkisiz hale getirmek, DNA yapısını ve oksijenli solunumu bozmak, potasyum kaybına yol açmak, trombosit agregasyonunu artırmak, mikro ve makromolekülleri etkilemek ve kapiler geçirgenliği bozmak gibi etkileri bulunmaktadır.

BÖLÜM 4

ANTIOKSİDANLAR

Serbest oksijen radikallerini ve serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarı önlemek için vücuttaki kusursuz işleyişin parçası olan antioksidan adı verilen savunma sistemi gelişmiştir. Etki mekanizmaları zararlı radikalleri tutarak ya da daha zayıf bir moleküle dönüşmesini sağlayarak işleyen antioksidan sistemleri; serbest radikalleri kendilerine bağlayarak tepkime zincirini kırar veya onarır [79-83].

Oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge mevcuttur [84]. Oksidanlar olması gerekenden fazla üretilir ya da antioksidanlar olması gerekenden az görevini yaparsa yani oksidan-antioksidan oranında dengesizlik durumu ortaya çıkarsa organizmadaki protein, karbonhidrat, nükleik asitlere oksidan moleküllerin zararlı etkisi söz konusudur [85].

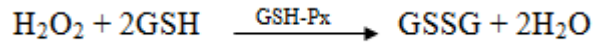
Oksidan etkisi olan organizmaya zarar veren maddeler çevreden veya besin yoluyla vücuda alınabilir. Ayrıca yaşlılığın neden olduğu enzim aktivitesindeki azalma ile vücutta antioksidan savunma sistemi istenilen düzeyde görevini yerine getiremeyebilmektedir. Beslenme ile antioksidan görevi olan vitamin, mineral, belirli enzimler vücuda alınabilir, böylece antioksidan savunma aracı ihtiyacı karşılanabilmektedir [86-88].

Antioksidan adı verilen zararlı radikallerin sebebiyet verdiği oksidasyonları engelleyen bu sistem birincil ve ikincil olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar olan SOD, GSHPx ve CAT gibi enzim sistemleri; serbest radikallerle tepkime gerçekleştirerek zarar veren yapılara dönüşmelerini önleyen bileşiklerdir [89]. Bu enzimler DNA, protein ve lipitlere serbest radikallerin zarar vermesine engel olarak bölgeler arası geçişi de önlemektedir [44]. İkincil antioksidanlardan olan C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşikler serbest

oksijen radikallerini yakalar [90]. Sigara, egzersiz, ateşli hastalıklar, radyasyon, çoklu doymamış yağ asitleri oksidan olarak adlandırılmaktadır. Antioksidan savunma mekanizmaları ise SOD, CAT, GSH, β- karoten ve diğer karotenoidlerdir [44].

4.1. GLUTATYON PEROKSİDAZ (GSH-PX)

Yapısı tetramerik olup 4 selenyum atomu içeren ve sitozolde yer alan glutatyon peroksidazın görevi, redükte glutatyonu yükseltgeyip hidrojen peroksiti suya çevirerek hücre membranındaki lipidleri ve hemoglobini oksidatif strese karşı korumaktır [91]. Kalp, akciğer, beyindeki aktivitesi kaslarınkine oranla daha yüksek olup %60-75 'i stoplazmada, %25-40 'ı mitokondride yer almaktadır.



Vücutta yabancı organizma ve maddeleri sindirerek yok eden biyolojik hücrelerde glutatyon peroksidaz enziminin önemli işlevleri mevcuttur. Solunum patlaması olayı sırasında diğer antioksidanların da varlığında hücrelerin serbest radikallerin verebileceği zararlardan korunması görevini üstelenen glutatyon peroksidaz eritrositlerde oksidatif hasara karşı en etkili antioksidan olma niteliğini taşımaktadır. Glutatyon peroksidaz enzimi aktivitesi yaşlılarda, down sendromu olan hastaların eritrositlerinde yüksek, prematüre bebeklerin eritrositlerinde ise düşük seviyededir.

4.2. SAFRAN

Dünya genelinde takip edilen geleneksel tıbbi uygulamalarda, bitkiler çeşitli karaciğer rahatsızlıklarının yönetiminde önemli bir rol oynamaktadır [92].

Safran; *Crocus sativus* L. türünün kurutulmuş stigmalarına verilen isim olup bitkisi de bu isimle anılır ve süsengiller (Iridaceae) familyasından olan safran bitkisi, sonbaharda çiçek açan, soğanlı bir kültür bitkisidir. Safran tarımında; 20. yüzyıldan itibaren gerileme yaşanmıştır. Ekonomik açıdan yetersizlik ve işgücü yetersizliği gibi etkenler sebebiyle eskiden ihraç edilen safran, ithal edilen durumuna gelmiştir.

Safran bitkisi ülkemizde Safranbolu'nun yaklaşık 40 köyünde yetiştirilen bir bitki iken, şimdi 6 köyde yaklaşık olarak 15000 m² lik alanda yetiştirilen bir bitki olarak yetiştirilmektedir [93].

Safran, antioksidan özelliğinden faydalanılarak hastalıkların tedavisinde doğal iyileştirici özelliğine sahip, hipolipidemik, antiinflamatuvar ve antikanserojen etkileri de var olan bir bitki olup yaygın olarak kullanılan ismi *Crocus sativus* Linnaeus'dur [94,95]. Safranın dünya çapında yıllık üretim miktarı yaklaşık olarak 220 ton olmakla birlikte, bu üretimin %74'ü İran, %10'u Yunanistan, İspanya, İtalya, Hindistan'da yapılmaktadır [96].

Safran; yapılan bazı arkeolojik ve tarihsel çalışmalara göre kültüre alınması, toplanmasına dair resmedilmiş fresklerin milattan önce 2500-1500 yılına uzanmakta olduğu belirtilmiş bu da safran yetiştiriciliğinin tarihi hakkında bilgi vermektedir. Ortadoğu ve Mısır'da safranın en az 3500 yıllık bir geçmişi olduğu ve baharat olarak yetiştirildiği rapor edilmiştir. Safran bitkisi; Mısır, Yunanistan ve Roma'da parfüm, boya maddesi, tıbbi bitki ve baharat olarak kullanılmıştır [97,98].

Safranın ana bileşenleri krosin, krosetin, safranaldır. Ek olarak safran; protein, şeker, vitamin, flavonoids, aminoasit, yaşam için gerekli mineraller ve diğer kimyasal bileşenleri içermektedir [98-100].

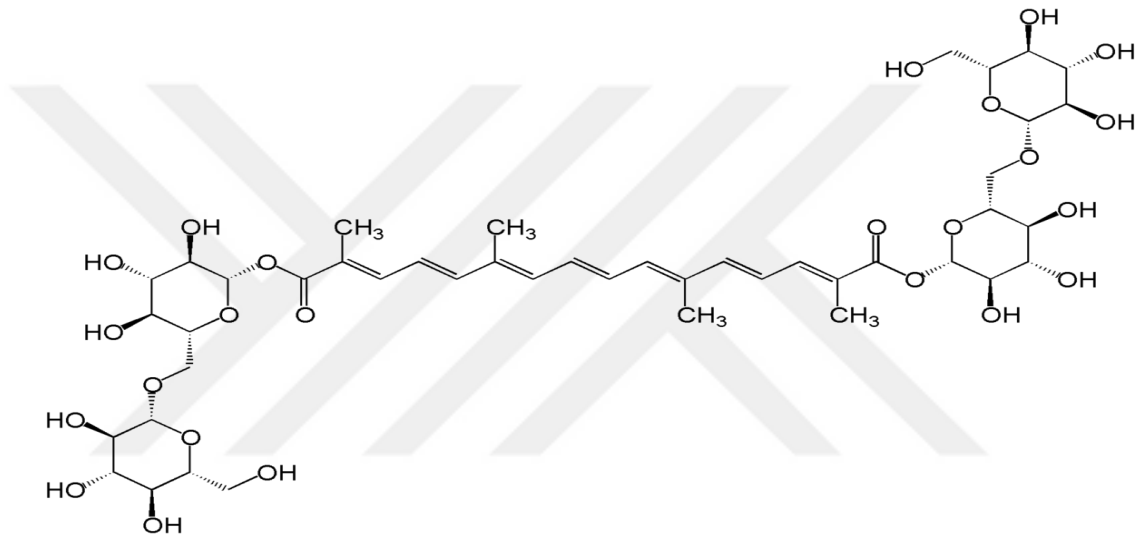
Safran genel olarak %15-16'sı su, %10-14'ü protein, %13-14'i şeker, %6-7'i nişasta, %9-10'u gıamlar ve dekstrin, %6-7'i pentozlar, %5-8'i kül, %4-5'i lif, %0.8-1'i uçucu yağ, %8-13'ü bitkisel yağdan (palmitik, stearik, laurik ve oleik asitler) oluşmaktadır. Safran ayrıca B2 vitamini ve B1 vitaminleri ile Ca, Fe, P, Na ve K gibi mineraller de içermektedir [101].

4.2.1. Krosin

Krosin, safran, çiğdem, gardenya gibi bitkilerde var olan karotenoid bir bileşik olup safranın renginden sorumludur. Gentiobioz adı verilen disakkarit ile krosetin adı

verilen dikarboksilik aitten oluşur. Güçlü bir antioksidan olma özelliğine sahip olan krosin sulu çözeltilisinde turuncu renk meydana getirir [102-104].

Krosin, safranın suda çözünen ve aktif bileşenlerinden olup sıçanlarda yapılan araştırmalara göre iskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterebilmektedir. Aynı zamanda safran ekstraktı, safranal ve krosin; antioksidan özelliklerinden dolayı serbest radikallerin aktifliklerini ve zararlı etkilerini ortadan kaldırebilmektedirler [105,106].



Şekil 4.1. Krosin yapısı.

Safranda; zeaksantin, likopen, α - ve β -karoten gibi 150'den fazla uçucu ve aroma içeren bileşik bulunmaktadır. Safran; altın sarısı, turuncu renklerini α -krosinden almaktadır. Krosinler, krosetin esterlerin monoglikosil ya da diglikosil olmayan hidrofilik bir grup karotenoiddir [107].

Safran renk özelliğini esas olarak cis ve trans şeklinde bulunan krosinlerden almaktadır. Krosin sülfirik asit yoğunluğuna bağlı olarak kırmızıdan mavi renge doğru değişim göstermektedir. $C_{44}H_{64}O_{24}$, krosinin moleküler formülüdür [101].

BÖLÜM 5

TEZ ÇALIŞMASINA DAHİL EDİLEN PARAMETRELER

5.1. REDÜKTE GLUTATYON (GSH)

GSH; DNA ve protein sentezi, enzim aktivitesi düzenlenmesi, hücre transport sistemi gibi hücre fonksiyonlarda önemli rol üstlenmektedir. Hücrenin fonksiyonel protein yapılarını oksidatif strese karşı koruyan GSH, antioksidan olarak hücre savunmasını gerçekleştirmektedir [108,109]. Aktif olan grubu sistein kalıntısında bulunan tiyol (-SH) olup tüm organlarda sentezi gerçekleşir ve memeli dokularının tamamında yer almaktadır [110]. Sitozolda yaklaşık %85-90'ı bulunan GSH'ın %10-15 kadarı mitokondride ve diğer organellerde yerini alırken bazı durumlarda mitokondride de sitozol gibi GSH'ın %85-90 kadarı bulunabilmektedir. GSH sentezi yeterli düzeyde olmadığında sitozolden alınarak sürekliliği sağlanabilmektedir [111].

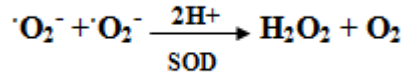
Glutatyon; glutamat, sistein, ve glisin aminoasitlerinden meydana gelmektedir. Glutatyon molekülünün ortasında yer alan sistein amino grubu ile glutamatın yan zincirindeki karboksile, karboksil grubu ile glisine bağlı olup sistein ve glutamat arasındaki bağ, molekülü hücre içinde peptidazlara karşı korumaktadır [112].

Antioksidan olarak önemli bir görevde rol üstlenen glutatyon karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duymaksızın sentezlenebilir, serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif hasarı en aza indirger. Ayrıca glutatyonun görevleri arasında hemoglobinin oksitlenmesini engellemek, DNA sentezi ve hasarlı DNA parçaları onarımında rol almak, zehirli maddelerin inaktif hale dönüşmesini yani detoksifikasyonunu gerçekleştirmek, proteinlerdeki -SH gruplarını oksidasyona karşı korumak da yer alır. Böylece glutatyon, protein ve enzimlerin inaktivasyonunun önüne geçmiş olur [113,114]. Glutatyondaki tiol grubu adı verilen aktivitesi en yüksek grubun oksitlenmesi sonucu GSSG oluşur. Hücredeki glutatyonun yaklaşık üçte biri disülfid

halinde ve tiol grubu bulunduran sistein, koenzim-A bileşikleriyle birlikte yer alır. GSSG oluşumu, antioksidan özelliğini kaybederek gerçekleşir [115].

5.2. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD)

SOD enzimi; $\cdot\text{O}_2^-$, O_2 ve H_2O_2 dönmesini katalize eder, zararlı olan serbest radikallerin etkisini azaltır. Bu enzim Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiş ve 3 çeşit SOD'dan söz edilmiştir. Bunlar; mitokondride lokalize Mn-SOD, sitozolde lokalize Cu-Zn SOD, bakır içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dur [116,117].

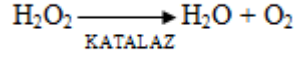


Aerobik organizmalar SOD enzimi içerir ve reaksiyon hızını artıran süperoksit dismutaz enzimi oldukça güçlü bir katalizördür. Oksidan olarak nitelendirilen süperoksit anyonu da H_2O_2 gibi daha reaktif olan ve toksisite oluşturma eğilimi yüksek olan oksijen türlerinin meydana gelmesinde rol almaktadır [118]. SOD enzimi bu süperoksit anyonu gibi toksinleri dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesine neden olur. Ayrıca SOD enzimi substrat olarak serbest radikal kullanmasıyla bilinmektedir [119].

5.3. KATALAZ (CAT)

Katalaz enzimi indirgenme-yükseltgenme tepkimesini teşvik eden etkili protein katalizörlerinden olup Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize durumda saflaştırılmıştır [117,118].

Peroksizomlarda, sitozolde, mikrozomal fraksiyonda bulunan katalaz enzimi, süperoksit dismutaz enzimi faaliyeti sonrası oluşan hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene çevirmektedir [113,120].



5.4. AMİNOTRANSFERAZLAR (AST VE ALT)

Aminotransferazlar (AST ve ALT); karaciğer hasarını ve karaciğer hücrelerinde oluşan nekrozu tespit etmek için en çok kullanılan enzimlerdir. Her iki enzim de koenzim olarak piridoksal fosfatı kullanır. Piridoksal fosfat enzim proteinindeki lizin kalıntısını bağlar ve aminoasitler ile geçici Schiff temelli reaksiyon oluştururlar ve amino grubunu alarak bir α ketoaside transfer eder. AST enzimi, aspartatın alfa amino grubunu, ketoglutarik asitin alfa keto grubuna transfer ederek glutamik asit ve oksaloasetik asit oluşturmaktadır.

AST enzimi, başlıca karaciğer, kalp ve iskelet kasında, böbrek, pankreas ve eritrositler dokularında yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Herhangi bir hasar meydana geldiğinde, AST hücrelerden kana geçerek serumdaki seviyelerinde ciddi düzeyde yükselmeler görülmektedir. Ancak serum AST düzeyinin hangi organdan kaynaklandığını tespit edebilecek bir yöntem bulunmamaktadır. Hepatositler de bulunan AST enziminin %80'i mitokondride bulunurken %20'si ise sitoplazma da bulunur. ALT enzimi alanin aminoasidinin alfa amino grubunu ketoglutarik aside transfer ederek glutamik asit ve pürivik asit oluşturur [121]. ALT enzimi ise sadece hepatositlerin sitoplazmasında bulunmaktadır ve karaciğer dışı dokularda çok düşük miktarlarda olmasından dolayı karaciğer hasarı için spesifiktir. Karaciğer hasarında, serumda ALT enzimi genellikle AST enzimi ile birlikte yükselme gösterir. Ancak AST'de herhangi bir yükselme olmadan ALT'nin hafif veya orta derecede yükselmesi kronik hepatitin (özellikle hepatit C) ve karaciğer yağlanması'nın bir göstergesidir [121,122].

AST ve ALT enzimleri, hasar oluşan hücrelerden hücre membranlarında oluşan permeabilite artışı ve nekrozun şiddetine bağlı olarak seruma çıkarak serumdaki seviyeleri yüksek değerlere çıkar. Serumdaki AST, ALT'den daha hızlı uzaklaştırılır ve olasılıkla ROS hücreleri tarafından yıkılanmaktadır. Mitokondrideki AST enziminin salınımı, stoplazmik AST izoenziminin veya ALT enziminin salınımına

göre daha şiddetli bir hasarı gerektirmektedir. Bu sebeple mitokondriyal/sitoplazmik AST oranı veya mitokondriyal/total AST oranının belirlenmesi şiddetli hücre nekrozu ve alkolik karaciğer hastalıklarında tanısal önemi olduğu ileri sürülmektedir.

5.5. ALKALEN FOSFATAZ (ALP)

ALP; bir metalloenzim olup aktif merkezinde serin içeren çinko bulundurur. Özellikle alkali pH'da katalitik aktivite gösterip birçok organik fosfat esterini hidrolize edebilme kabiliyeti gösteren bir enzim grubudur. Hemen hemen vücuttaki çoğu dokuda mevcut olup reaksiyon sonunda çeşitli ortofosfatlardan inorganik fosfatların salınımına sebep olur. Alkaleen fosfataz'ın substratları, pirofosfat, fosfoserin ve fosfoditiletanolamin içermektedir ve intestinal mukoza da bulunan izoenzimi Ca^{+2} ye bağımlı olup ATPaz gibi çalışmaktadır. Bunun dışında karaciğer dokusunda bulunan alkaleen fosfataz ise hepatositlerin sinüsoidel yüzeylerinde ve safra kanaliküllerinin mikrovilluslarında lokalize olmuştur. Dokularda bulunan ALP enzimleri için gen sekansları yapılmıştır. Sonuç olarak; karaciğer, kemik ve böbrek kökenli olan alkaleen fosfatların aynı genden, intestinal ve plasenta da bulunan enzimin ise farklı genlerden transkripsiyona uğradığı tespit edilmiştir [122]. Serumda tespit edilen ALP, başlıca kemik ve karaciğerden kaynaklı izoenzimlerdir. İntestinal dokularda bulunan alkaleen fosfataz, normal bireylerin %20'sinde mevcut olup enzimin total aktivitesinin en fazla yüzdesinden sorumlu olabilir [122,123]. Bağırsakta bulunan ALP, iki farklı mRNA ile 2 farklı izoenzim olacak şekilde lokalize olmuştur. Bu izoenzimlerden biri bağırsak villuslarının fırçamsı kenar üzerinde bulunurken, diğer izoenzimi ise plazmaya salınmaktadır [121].

5.6. OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ

5.6.1. Malondialdehit (MDA)

Hücre membranında yer alan fosfolipid, glikolipid, gliseridlerin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksit, alkol, aldehit, hidroksi yağ asitlerine yıkılmasına lipid peroksidasyonu adı verilir ve oluşan çeşitli kompleks ürünler DNA ve proteinlere bağlanarak toksik etki meydana getirirler [124,125]. MDA oluşumu, çift bağa sahip

yağ asitlerinin peroksidasyonu ile ortaya çıkar. MDA tiyobarbütirik asit reaktif maddeleri olarak ölçülmektedir [116,126]. Oksidatif stres belirteci olarak kullanılan MDA, kan ve idrarda tespit edilebilir. MDA; lipid peroksit seviyesinin indikatörü olarak kullanılmaktadır. Lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanan lipid peroksidasyonu, yağların yükseltgenmesi sonucu bozulmasıyla gerçekleşmektedir. MDA, tiyobarbütirik testi ile ölçülür ve lipid peroksidasyonu saptanmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [127,128].

5.6.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ve Total Oksidan Seviyesi (TOS)

Canlılarda iç ve dış kaynaklı sebeplerle oluşan serbest radikaller ve radikallerin neden olduğu oksidatif stres ile mücadelenin gerçekleştirildiği savunma sistemi mevcuttur. Total oksidan kapasiteye en fazla etki endojen olarak vücutta sentezi gerçekleştirilen serbest oksijen radikalleri tarafından yapılır. Bu radikaller sentezlendikleri yerde hemen yok edilemedikleri için zararlı etki meydana getirirler. Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmada yer alan antioksidan moleküller tarafından gerçekleştirilir ve bu antioksidanlar etkileşim halinde bulunarak sinerjistik etki oluştururlar.

Oksidan ve antioksidan molekülleri ile vücuttaki oksidatif stres ve antioksidan kapasite belirlenir ve bu moleküllerin total ölçümünü sağlayan yöntemler bulunmaktadır. TOS seviyesinin, TAS seviyesine oranlanmasıyla oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplanmaktadır [129].

BÖLÜM 6

GEREÇ VE YÖNTEMLER

6.1. GEREÇLER

6.1.1. Kimyasal Malzemeler

Araştırmamızda krosin, fosforik asit, tiobarbutirik asit (TBA), n-butanol, triklorasetik asit (TCA), disodyumhidrojenfosfat (Na_2HPO_4), 5,5' dithiobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB), trisodyum sitrat, ksantin, ksantin oksidaz, Na_2EDTA , NBT, Na_2CO_3 , BSA, KH_2PO_4 , H_2O_2 , Potasyum tartarat, bakır sülfat, NaOH, Folin Ciocalteu-Fenol ayırıcı, TAS ve TOS kitleri kullanıldı.

6.1.2. Kullanılan Aletler

Araştırmalar esnasında gilson marka (10, 100 ve 1000 μL) otomatik pipetler, cenco whirlmix vorteks, libor-AEG 320 marka hassas terazi, hermler marka soğutmalı santrifüj, LKB biochrom ultraspec marka UV/visible spektrofotometre, hanna marka pH metre, clifton marka manyetik karıştırıcı, IKA ultra turrax, T 25 basic homojenizatör.

6.1.3. Ratların Temini Ve Bakımı, Grupların Oluşturulması

Bu araştırmada, ağırlıkları ortalama 225-250 gram olan 50 adet erkek wistar albino türü rat, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi (İNÜTF-DEHÜM) Biriminden temin edildi. Çalışmaya deney hayvanları etik kurulu onayı alınarak başlandı. İçme suları günlük olarak değiştirildi ve gün aşırı kafes temizliği yapıldı. Ratlar sıcaklığın 21°C , ortam neminin % 55-60

olduğu, 12 saat ışık (08:00-20:00 saatleri) ve 12 saat karanlık uygulanan odalarda bakıldı. Sıçanlar çalışma süresince standart pellet yemle ad libitum beslendi.

6.2. YÖNTEMLER

6.2.1. Grupların Oluşturulması

Çalışmamızda “deneysel karbon tetraklorür toksisitesi üzerine krosinin koruyucu etkilerinin araştırılması” amaçlanmıştır. Deney hayvanları biriminden temin edilen 50 adet Wistar rat random olarak her grupta 10 hayvan olacak şekilde beş gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; 1.grup (Kontrol grubu); 1 ml/kg/gün serum fizyolojik uygulandı. 2.grup (Mısır yağı grubu); 1 ml/kg/gün mısır yağı uygulanan grup uygulandı. 3.grup (Krosin grubu); 100 mg/kg/gün krosin uygulandı. 4.grup (CCl4 grubu): 1:1 oranında karbon tetraklorür mısır yağı içinde çözülerek gınaşırı uygulandı. 5.grup (CCl4+Krosin grubu): 100 mg/kg krosin ve 1:1 oranında CCl4 mısır yağı içinde çözülerek gınaşırı uygulandı.

Uygulanan tüm kimyasallar her sıçana 1 ml/kg hacimde ve ağız yoluyla (gavajla) uygulandı. Yapılan tüm uygulamalar her gün aynı saatte düzenli olarak 15 gün boyunca tekrarlanmıştır.

6.2.2. Numune Alınması Ve Hazırlık İşlemleri

Deney sonunda ratlar ksilazin-ketamin anestezisi altında laparotomi yapılarak kalp içinden heparinize tüplere kan alındı. Daha sonra, tüm ratlar dekapite edilerek ince ve kalın bağırsak ile karaciğer doku örnekleri alındı. Doku örnekleri serum fizyolojikle yıkanarak fazlalık kanın uzaklaştırılması sağlandı.

Dokuların bir parçası histopatolojik incelemeler için %10'luk formol içersine kondu. Diğer parçası ise çalışma gününe kadar -80 C°'de saklandı. Çalışma günü dokular derin dondurucudan çıkarılarak tartıldı. %10'luk homojenat oluşacak şekilde fosfat tamponu ilave edilerek buz içinde 1-2 dakika süreyle 12000 devir/dakika homojenize edildi (IKA, Germany). Elde edilen homojenatlarda MDA düzeyleri ölçüldü. Doku

homojenatları 5000 rpm'de, +4 derecede, 30 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Elde edilen bu süpernatantlarda; GSH, SOD, CAT, TAS, TOS ve protein düzeyleri ölçüldü. Alınan kan örneklerinde ise rutin Biyokimya laboratuvarında AST, ALT ve ALP düzeylerine bakıldı.

6.2.3. Redükte Glutasyon (GSH) Analizi

6.2.3.1. Kullanılan Reaktifler

1. 1.% 10'lük triklor asetik asit
2. % 1'lik trisodyum sitrat
3. % 0.4'lük 5,5'-Ditiyobis 2-nitrobenzoik asit
4. 0.3 molar disodyum hidrojen fosfat

GSH analizi Ellman'ın [130] tarif ettiği yöntemle yapıldı. Kimyasalların deney tüplerine eklenmesiyle ortamdaki glutasyonun, 5,5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyon vermesi sonucunda sarı-yeşilimsi bir renk oluşmaktadır. Oluşan bu rengin ışık şiddetinin 410 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okunarak redükte glutasyonun miktarı tayin edilebilmektedir.

6.2.4. MDA Analizi

6.2.4.1. Kullanılan Reaktifler

1. % 8,1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. % 20'lik asetik asit
3. %0,8'lik 2-tiyobarbutirik asit (TBA)
4. 2 mmol/L 1,1',3,3' tetraetoksipropan

MDA analizi Ohkawa ve ark'larının [131] tarif ettiği yöntemle göre analiz edilmiştir. Temel prensip homojenattan alınan numuneki MDA'nın 95 °C'de tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli ürünün n-butanol fazından ekstrakte edilen süpernatantın spektrofotometre ile 535 nm'de ölçülmesiyle belirlendi.

6.2.5. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

6.2.5.1. Kullanılan Reaktifler

1. Çalışma reaktifi (Assay reaktifi)
 - 1.1. 0.3 mmol/L ksantin
 - 1.2. 0.6 mmol/L Na₂EDTA
 - 1.3. 150 µmol/L NBT
 - 1.4. 400 mmol/L Na₂CO₃
 - 1.5. 1 gr/L BSA
2. Ksantin oksidaz (167 Ü/L)
3. 0.8 mmol/L CuCl₂
4. 2 M (NH₄)₂SO₄

SOD enzim aktivite ölçümü Sun ve arkadaşlarının [132] yöntemine göre yapıldı. Bu yöntemde ksantin-ksantin oksidaz tarafından süperoksit radikalleri üretilir. Süperoksit radikali NBT'yi (nitro blue tetrazolium) indirgeyerek renk oluşturur. Bu indirgenme mavi renkli formazon oluşturur. Böylece oluşan formazonun 560 nm'de verdiği absorbanstan SOD aktivitesi hesap edilmektedir.

6.2.6. CAT Aktivitesi Ölçümü

6.2.6.1. Kullanılan Reaktifler

1. EDTA'sız fosfat tamponu (pH=7,50): 600 ml 50 mM Na₂HPO₄ ile 50 mM KH₂PO₄'in 400 ml'si karıştırılarak hazırlanır.
2. Hidrojen peroksitli EDTA'sız, absorbansı 0.500 olan fosfat tamponu: Hidrojen peroksitli EDTA'sız fosfat tamponu hazırlanırken absorbansın 0.500 olmasına dikkat edilir.

CAT enzim aktivite ölçümü Aebi ve arkadaşlarının [133] yöntemine göre yapıldı. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ultraviyole spektrumunda absorpsiyon veren bir maddedir.

Maksimal absorbanans 240 nm'de meydana gelmektedir. Deney ortamına ilave edilen hidrojen peroksidin katalaz tarafından su ve oksijene parçalanması 240 nm'de absorbanans azalması ile kendini gösterir. absorbansta gözlenen bu azalma 1 dakika boyunca kayıt altına alınarak enzimin aktivitesi ölçülmektedir.

6.2.7. TAS VE TOS

6.2.7.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS) Aktivite Tayini

Erel'in metoduna göre çalışıldı [134] Total Oksidan Seviyesi kiti (Rel Assay Diagnostics) Synergy HT, Biotek biyokimya otoanalizörüne uyarlanarak çalışıldı. Örnek içinde bulunan oksidanlar ferröz iyon şelatör komplekslerini ferrik iyonlara çevirir. Oluşan ferik iyonlar kromojen solusyonu ile renkli bir kompleks oluşturdu. Oluşan bu kompleks örneklerdeki oksidan miktarıyla doğru orantılı olarak 530 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Standart olarak 20 mikromol / L H₂O₂ solusyonu kullanıldı.

Reaktifler

Ayraç 1 (Assay Buffer) : 50 ml

Ayraç 2 (Prokromojen solüsyon) : 10 ml

Standart 1 (Blank solüsyon) : Solüsyon içermez veya dionize su kullanılır.

Standart 2 Solüsyon (SSSS) : 5 ml

Stabilize Standart Stok Solüsyon (SSSS) : 800 mM H₂O₂ Equiv./L

Stabilize Standart Stok Çözeltisi (SSSS)

1. SSSS, 40000 kez deiyonize su ile seyreltilerek çalışma solüsyonu hazırlandı.
2. 10 ml deiyonize suya SSSS' in 50 mikrolitre (μ L) sıvısı eklendi ve vortekslendi (1. adım solüsyon).
3. Hazırlanan solüsyonun 50 μ L sıvısına 10 ml deiyonize su eklenir ve vortekslenir (2. adım solüsyon).
4. Standart çalışmanın son konsantrasyonu 20 mikromol / L H₂O₂' dir.

Hücreye 500 µL reaktif 1 ve 75 µL standart (veya numune) konulur. İlk absorbans noktası için 530 nm dalga boyunda okunur. Daha sonra 25 microliter reaktif 2 eklenerek 10 dk. oda sıcaklığında inkübe edilerek 530 nm dalga boyunda 2. absorbans noktası olarak absorbans okunur. Sonuçlar µmol /L olarak ifade edilir.

Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = (\Delta\text{Abs numune} / \Delta\text{Abs standart 2}) * 10$$

$\Delta\text{Numune absorbans}$: (Numunenin 2. absorbansı-Numunenin 1. absorbansı)

$\Delta\text{Standart 2 absorbans}$: (Standart 2'nin 2. absorbansı - Standart 2'nin 1. absorbansı)

6.2.7.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Aktivite Tayini

Erel'in metoduna göre çalışıldı [134] TAS düzeyi, REL ASSAY marka ticari kit kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalini antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır [135]. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Sonuçlar, mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi.

Reaktifler

Ayraç 1 (Assay Buffer) 1× 50 ml

Ayraç 2 (ABTS radikal solüsyon) 1× 10 ml

Standart 1 (0.01 mmol Trolox E Equiv./L) Solüsyon içermez veya dionize su kullanılır.

Standart 2 (1.0 mmol Trolox E Equiv./L) Solüsyon 1× 5 ml

1. 500 Regant 1' i hücrelere eklenir. Sonra 30 µl standart (veya numune) eklenir. İlk okumayı 660 nm' de yapılır.
2. 75 µl Regant 2'yi hücrelere eklenir ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir veya 37°C' de 5 dk bekletilir. 660 nm' de okutulur.

Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{Abs Std1}) - \Delta\text{Abs Numune}] / [(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]$$

Δ Absorbans Standart 1: (Std 1' in ikinci absorbansı - Std 1' in birinci absorbansı)

Δ Absorbans Standart 2: (Std 2' nin ikinci absorbansı - Std 2' nin birinci absorbansı)

Δ Numune Absorbans = (Numunenin ikinci absorbansı - Numunenin birinci absorbansı)

6.2.8. Serumda AST, ALT Ve ALP Tayini

6.2.8.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT) Tayini

Serum AST düzeyleri tayini, kit kullanılarak (Architect/Aeroset Aspartate Aminotransferase Reagent Kit) enzimatik-kolorimetrik metodla, kabaca numune ve reaktifleri uygun ölçülerde alıp karıştıran, belirli bir süre ve ısıda inkübe eden, gerekli sürelerde optik okumaları yapıp sonunda ilgili analiz sonucunu hesaplamış olarak kullanıcıya sunan otoanalizör cihazında (Architect C8000) tespit edildi.

6.2.8.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT) Tayini

Serum ALT düzeyleri tayini, kit kullanılarak (Architect/Aeroset Alanine Aminotransferase Reagent Kit) enzimatik-kolorimetrik metodla, otoanalizörde (Architect C8000) tespit edildi.

6.2.8.3. Alkalen Fosfataz (ALP) Tayini

Serum ALP düzeyleri tayini, kit kullanılarak (Architect/Aeroset Alkalen Fosfataz Reagent Kit) enzimatik-kolorimetrik metotla, otoanalizörde (Architect C8000) tespit edildi.

6.2.9. Histolojik İnceleme

Karaciğer, ince bağırsak ve kalın bağırsak doku örnekleri %10'luk formaldehit ile 48 saat süreyle oda sıcaklığında belirlendi. Ardından doku örnekleri yıkama işlemini takiben artan derecelerdeki etanol serilerinden (%50-%99) geçirilerek dehidratasyon, ksilen serilerinden geçirilerek şeffaflandırma ve 62°C'de eritilmiş parafin serilerinden geçirilerek infiltrasyon işlemlerini takiben parafin bloklar içine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 5-6 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak lamalar üzerine alındı. Tüm kesitler hematoksilin-osin ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu (Nikon Eclipse Ni), kamera (Nikon DS-Fi2) ve görüntü analiz sistemi (Nikon NIS-Elements Documentation) (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ile incelenerek fotoğraflar alındı.

Karaciğer kesitlerinde; Fokal nekroz, apoptoz ve fokal inflamasyon skoru (1 odak /x10 büyütmede =1, 2-4 odak /x10 büyütmede = 2, 5-10 odak /x10 büyütmede = 3, 10'dan fazla odak /x10 büyütmede = 4) yapıldı. Köprüleşme nekroz skoru (Fokal köprüleşme nekroz =1, Zon3 nekroz (az sayıda) = 2, Zon3 nekroz (çok sayıda) =3, Zon3 nekroz ve az sayıda Portal-Santral köprüleşme nekrozu = 4, Zon3 nekroz ve çok sayıda Portal-Santral köprüleşme nekrozu = 5, Panasiner veya multiasiner nekroz = 6).

Portal inflamasyon skoru (Hafif, bazı veya tüm portal alanlarda = 1), Orta, bazı veya tüm portal alanlarda = 2, Orta/şiddetli, tüm portal alanlarda = 3, Şiddetli, tüm portal alanlarda = 4).

Fibrozis skoru (Fibröz portal genişleme ± kısa septum (fokal) = 1, Fibröz portal genişleme ± kısa septum (yaygın) = 2, Nadir portal-portal köprüleşme = 3, Sık portal-

portal köprüleşme = 4, Sık köprüleşme fibrozisi ve nadir nodül oluşumu = 5, Siroz = 6) [136].

Hepatositlerde vakuolizasyon (Vakuolizasyon yok = 0, hafif ve düşük yaygınlıkta vakuolizasyon = 1, orta derecede ve yaygınlıkta vakuolizasyon = 2, şiddetli ve yaygın vakuolizasyon = 3) [137].

İnce bağırsak kesitlerinde (villus küntleşmesi, epitel hasarı, villus hasarı, Liberkühn kripta hasarı ve inflamasyon) ve kalın bağırsak kesitlerinde (Goblet hücresi azalması-kayıbı, epitel hasarı, mukozal fibrozis, Liberkühn kripta hasarı and inflamasyon) her bir kesitte hasar parametreleri 0-3 arasında (Normal histoloji = 0, Hafif = 1, Orta derecede = 2, Şiddetli = 3) skorlandı. Maksimum skor 15'dir [138].

6.2.10. İstatistiksel Analizler

İstatistik için SPSS 21 paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi, tanımlayıcı olarak ortalama ve standart sapma verildi. Varyansların homojenliğini test etmek için Levene testi kullanıldı. Varyansları homojen olan grupları karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi ve sonrasında Tukey HSD ikili karşılaştırma yöntemi kullanıldı. Varyanslar homojen olmadığı durumda ise Welch testi ve Tamhane T2 ikili karşılaştırma yöntemi kullanıldı. Histolojik skora için Veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile özetlendi. Grupların karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmalarda Conover yöntemi kullanıldı. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi.

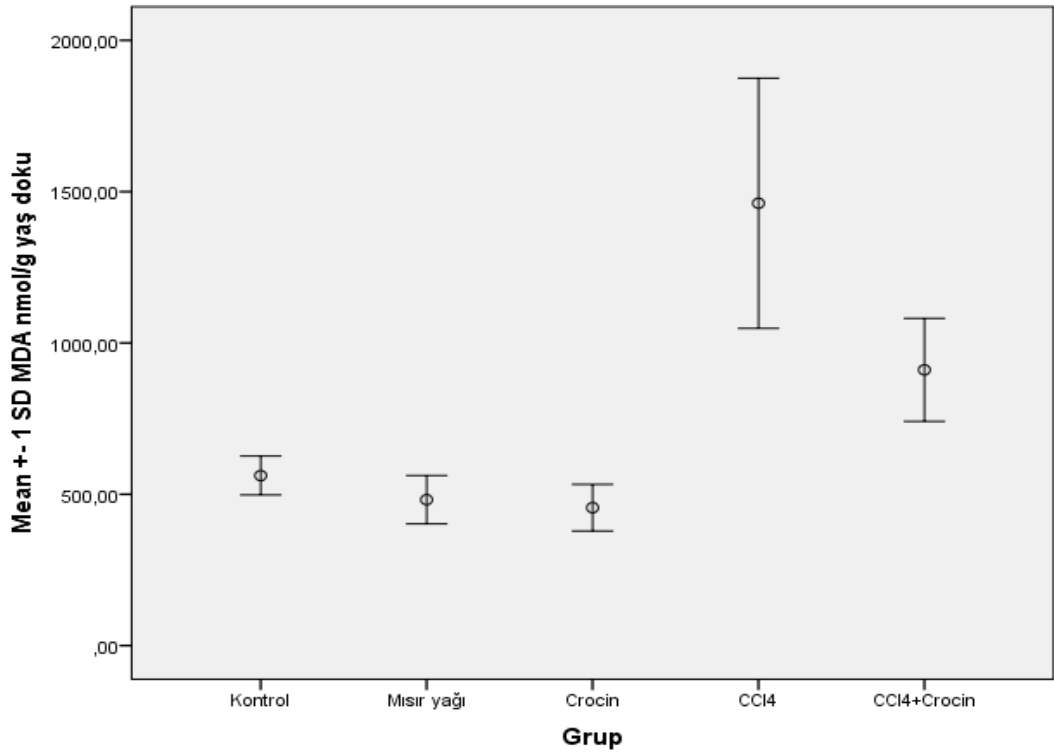
BÖLÜM 7

DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

7.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

7.1.1. Grupların Karaciğer MDA Düzeyleri

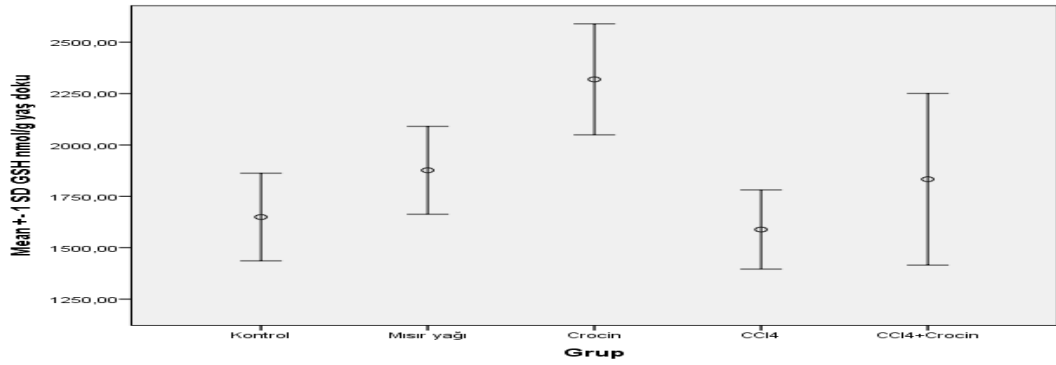
CCl₄ grubunun MDA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı derece ($p < 0.05$) artış gösterdiği, ancak CCl₄ ile beraber krosin uygulandığında ise MDA seviyesinin istatistiki olarak anlamlı bir düşüş ($p < 0.05$) gösterdiği gözlemlendi (Şekil 7.1).



Şekil 7.1. Grupların karaciğer MDA düzeyleri.

7.1.2. Grupların Karaciğer GSH Düzeyleri

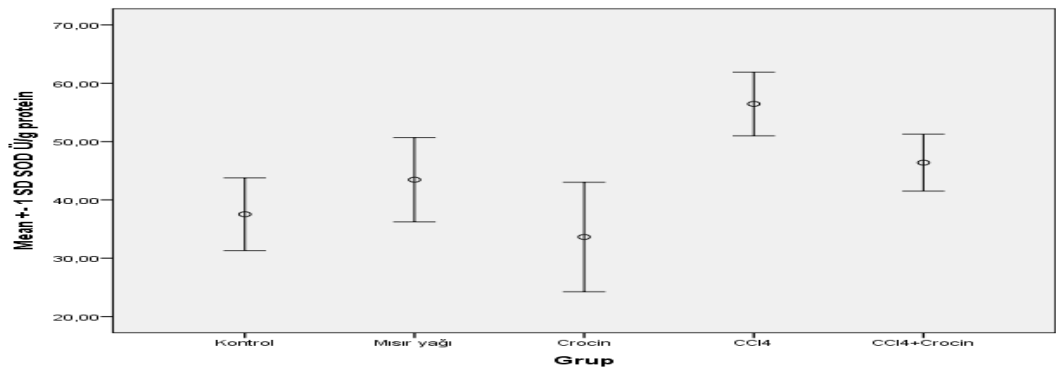
Karaciğer dokusu GSH düzeyleri yönünden incelendiğinde, krosin uygulamasının kontrol grubuna göre GSH düzeylerinde anlamlı derecede bir artışa ($p < 0.05$) sebep olduğu tespit edilmiştir. CCl₄ uygulaması ise karaciğer GSH düzeylerinde bir düşüşe sebep olduğu, krosinin ise CCl₄ ile birlikte uygulanması GSH düzeylerinde bir yükselişe sebep olmuştur (Şekil 7.2).



Şekil 7.2. Grupların karaciğer GSH düzeyleri.

7.1.3. Grupların Karaciğer SOD Aktivite Düzeyleri

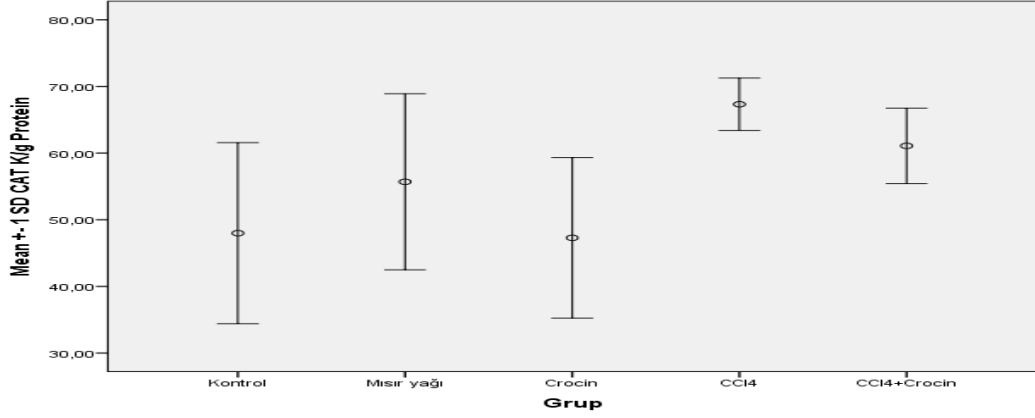
CCl₄ uygulaması karaciğer SOD aktivitesinde kontrol, mısır yağı ve krosin gruplarına göre belirgin bir artış gözlenirken ($p < 0.05$), krosin ile beraber CCl₄ uygulandığında ise SOD aktivitesinde istatistiki olarak anlamlı bir düşüş ($p < 0.05$) gözlenmiştir (Şekil 7.3).



Şekil 7.3. Grupların karaciğer SOD aktivite düzeyleri.

7.1.4. Grupların Karaciğer CAT Aktivite Düzeyleri

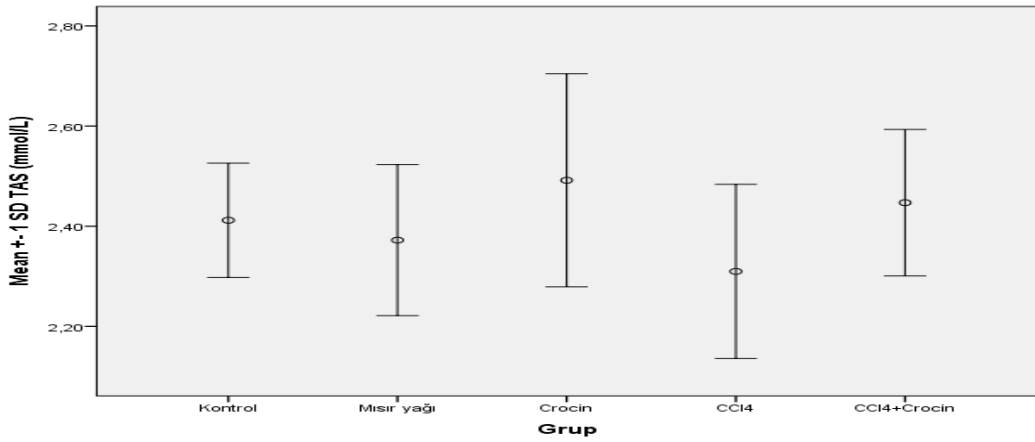
Karaciğer CAT aktivitesi CCl₄ uygulandığında kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak bir artış gözlemlenirken ($p < 0.05$), CCl₄ ile krosin uygulaması aktivitedeki bu artış da anlamlı olmayan bir düşüşe sebep olmuştur (Şekil 7.4).



Şekil 7.4. Grupların karaciğer CAT aktivite düzeyleri.

7.1.5. Grupların Karaciğer TAS Düzeyleri

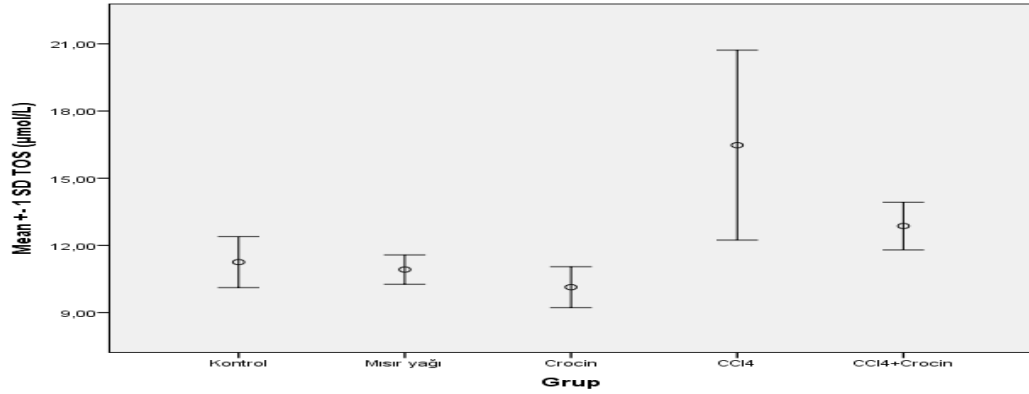
Krosin uygulamasının karaciğer TAS düzeyini kontrol grubuna göre yükselttiği, CCl₄ uygulamasının ise karaciğer TAS düzeylerinde bir düşüşe sebep olduğu ancak değişikliklerin istatistiki olarak anlamlılığı tespit edilememiştir (Şekil 7.5).



Şekil 7.5. Grupların karaciğer TAS düzeyleri.

7.1.6. Grupların Karaciğer TOS Düzeyleri

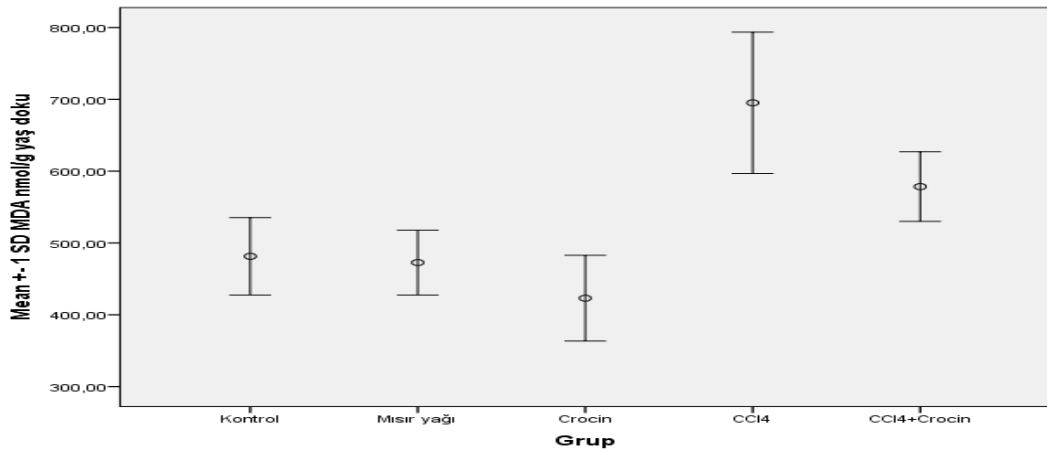
Karaciğer dokusunda CCl4 uygulaması TOS düzeylerinde bir artışa sebep olurken, CCl4 ile beraber krosin uygulandığında TOS seviyelerinde bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 7.6).



Şekil 7.6. Grupların karaciğer TOS düzeyleri.

7.1.7. Grupların İncebağırsak MDA Düzeyleri

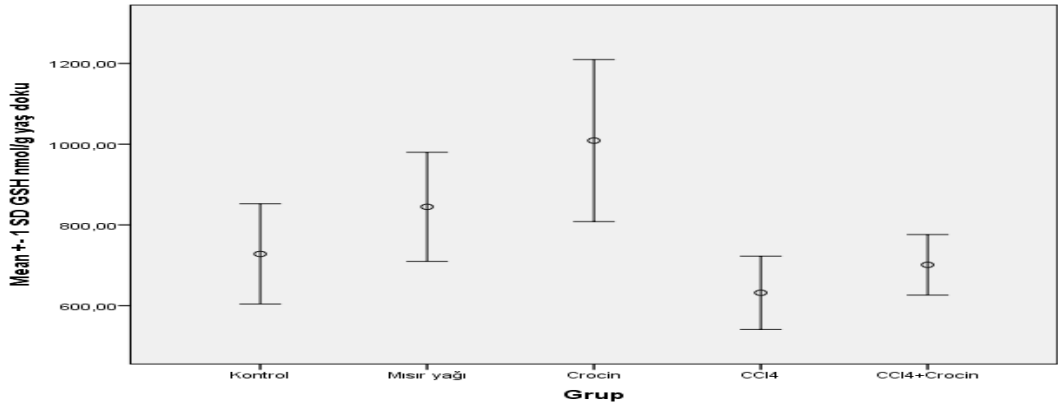
CCl4 grubunun MDA seviyeleri; kontrol, mısır yağı ve krosin gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı derece ($p < 0.05$) bir artış gösterdiği, ancak CCl4 ile beraber krosin uygulandığında kontrol grubu değerlerine yakın istatistiki olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 7.7).



Şekil 7.7. Grupların incebağırsak MDA düzeyleri.

7.1.8. Grupların İncebağırsak GSH Düzeyleri

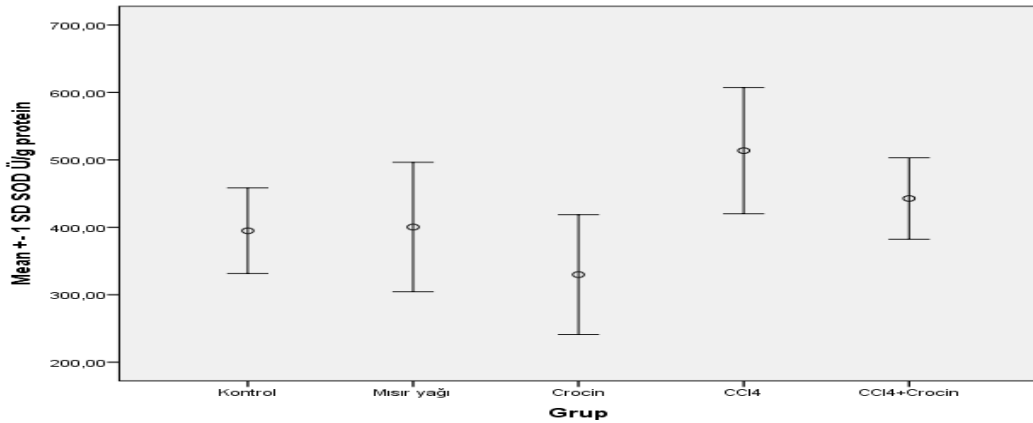
İncebağırsak GSH düzeyleri krosin uygulamasının ardından kontrol ve mısır yağı gruplarına göre anlamlı bir artış ($p<0.05$) gözlenirken, CCl₄ uygulaması ise GSH düzeylerinde belirgin bir düşüş ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Krosin ile beraber CCl₄ uygulandığında ise GSH değerlerinde yükselme tespit edilmiştir (Şekil 7.8).



Şekil 7.8. Grupların incebağırsak GSH düzeyleri.

7.1.9. Grupların İncebağırsak SOD Aktivite Düzeyleri

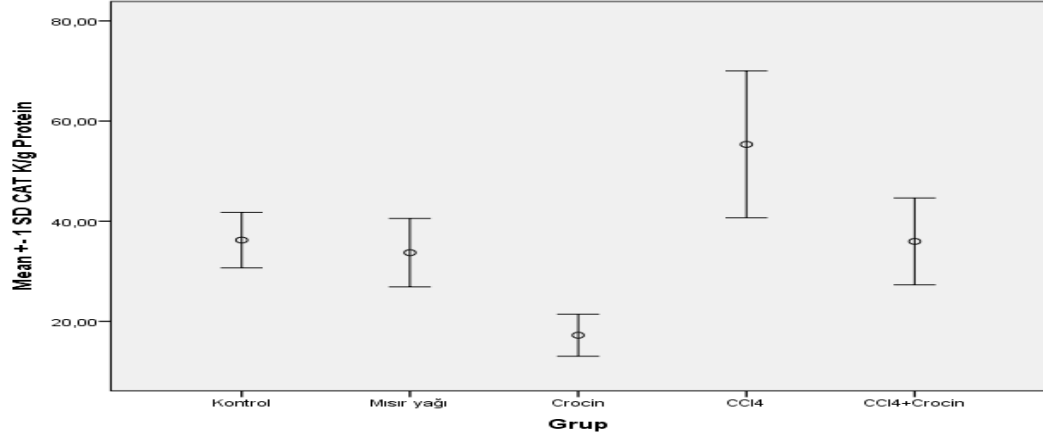
İncebağırsaklarda SOD aktivitesi CCl₄ uygulandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p<0.05$) gözlenirken, krosin uygulaması enzim aktivitesini düşürerek ($p<0.05$) kontrol grubu değerlerine yaklaştırmıştır (Şekil 7.9).



Şekil 7.9. Grupların incebağırsak SOD aktivite düzeyleri.

7.1.10. Grupların İncebağırsak CAT Aktivite Düzeyleri

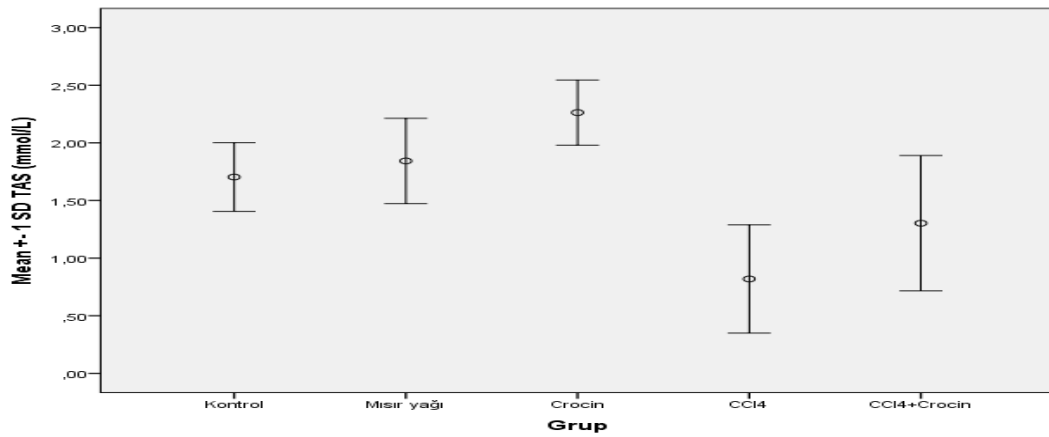
CAT enzim aktivitesi CCl₄ uygulamasıyla birlikte kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışa sebep olurken ($p < 0.05$), CCl₄ ile krosinin birlikte uygulanması ile enzim aktivitesinde anlamlı derecede bir düşüş ($p < 0.05$) görülmüştür (Şekil 7.10).



Şekil 7.10. Grupların incebağırsak CAT aktivite düzeyleri.

7.1.11. Grupların İncebağırsak TAS Düzeyleri

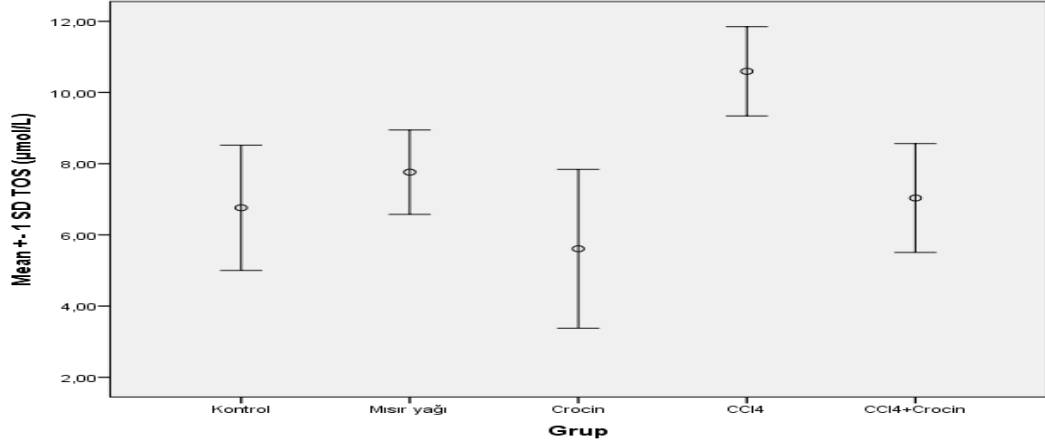
CCl₄ uygulaması TAS düzeylerinde belirgin bir düşüşe ($p < 0.05$) sebep olurken, krosin ile beraber CCl₄ uygulandığında ise TAS düzeylerinde yükselme gözlenmiştir (Şekil 7.11).



Şekil 7.11. Grupların incebağırsak TAS düzeyleri.

7.1.12. Grupların İncebağırsak TOS Düzeyleri

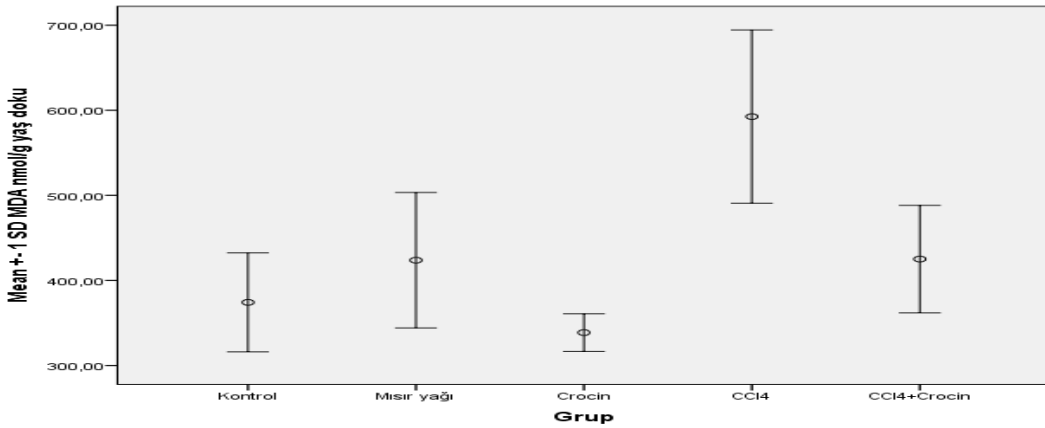
İncebağırsaklardaki TOS düzeyleri, CCl₄ uygulamasıyla birlikte anlamlı derecede ($p<0.05$) artış gösterirken, krosin uygulaması ise TOS düzeylerinde düşüşe sebep olmuştur (Şekil 7.12).



Şekil 7.12. Grupların incebağırsak TOS düzeyleri.

7.1.13. Grupların Kalınbağırsak MDA Düzeyleri

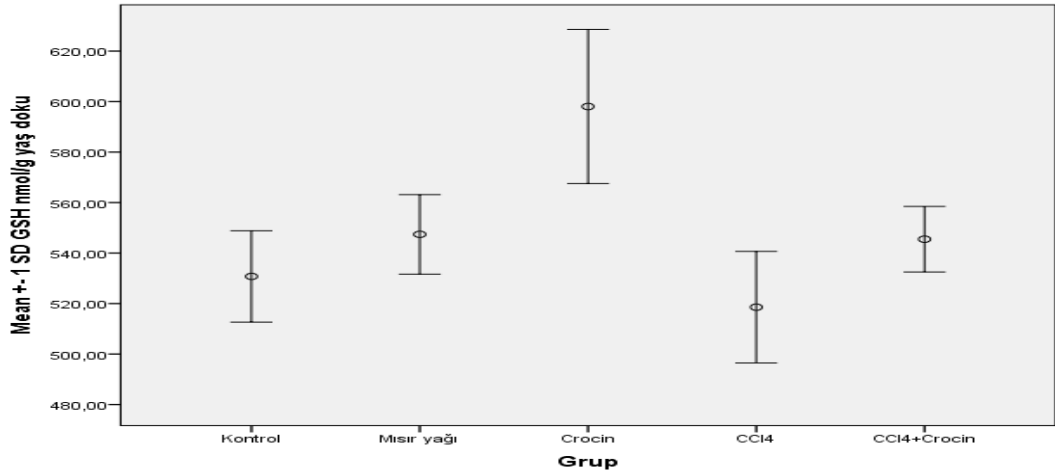
MDA düzeyleri CCl₄ uygulaması ile birlikte anlamlı bir artış ($p<0.05$) gösterirken, krosin uygulaması ise MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe ($p<0.05$) sebep olmuştur (Şekil 7.13).



Şekil 7.13. Grupların kalınbağırsak MDA düzeyleri.

7.1.14. Grupların Kalınbağırsak GSH Düzeyleri

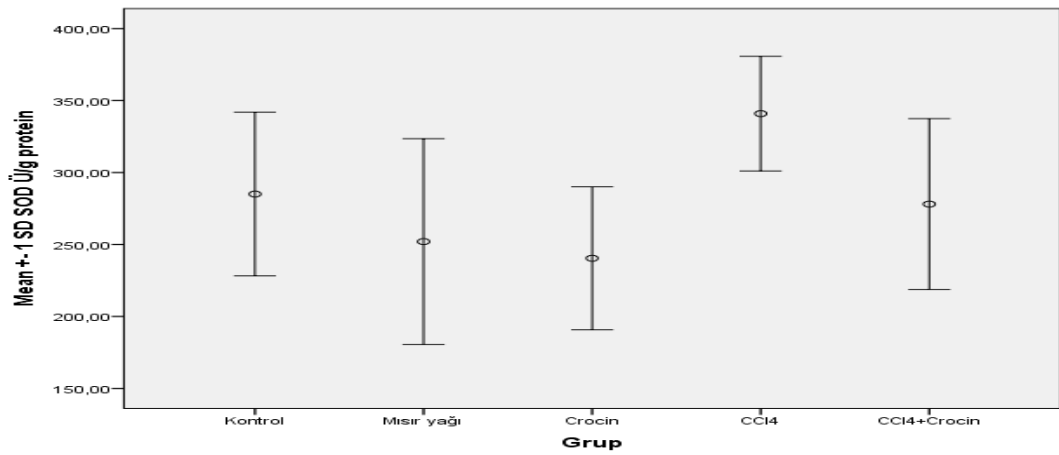
Kalınbağırsak GSH düzeyleri CCl₄ uygulaması ile birlikte anlamlı bir düşüşe uğrarken ($p < 0.05$), krosin uygulandığında GSH düzeylerinde kontrol grubuna yakın değerlere ulaşıldığı gözlenmiştir (Şekil 7.14).



Şekil 7.14. Grupların kalınbağırsak GSH düzeyleri.

7.1.15. Grupların Kalınbağırsak SOD Aktivite Düzeyleri

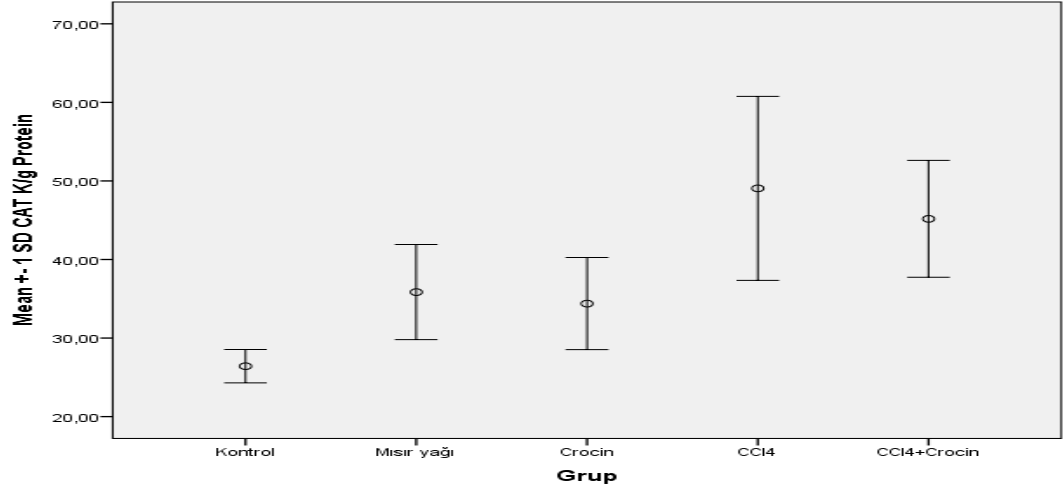
SOD enzim aktivitesi CCl₄ uygulanmasıyla beraber anlamlı derecede artışa uğrarken ($p < 0.05$), krosin SOD aktivitesini kontrol grubu değerlerine indirmiştir (Şekil 7.15).



Şekil 7.15. Grupların kalınbağırsak SOD aktivite düzeyleri.

7.1.16. Grupların Kalınbağırsak CAT Aktivite Düzeyleri

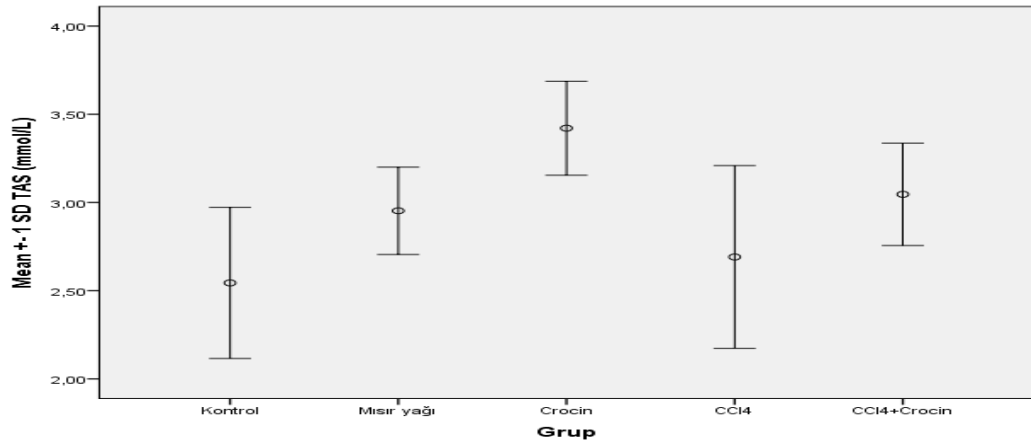
CAT enzim aktivitesi CCl₄ uygulamasıyla birlikte istatistiki olarak anlamlı bir artışa uğramış ($p<0.05$), krosin ise CAT enzim aktivitesinde düşüşe sebep olmuştur (Şekil 7.16).



Şekil 7.16. Grupların kalınbağırsak CAT aktivite düzeyleri.

7.1.17. Grupların Kalınbağırsak TAS Düzeyleri

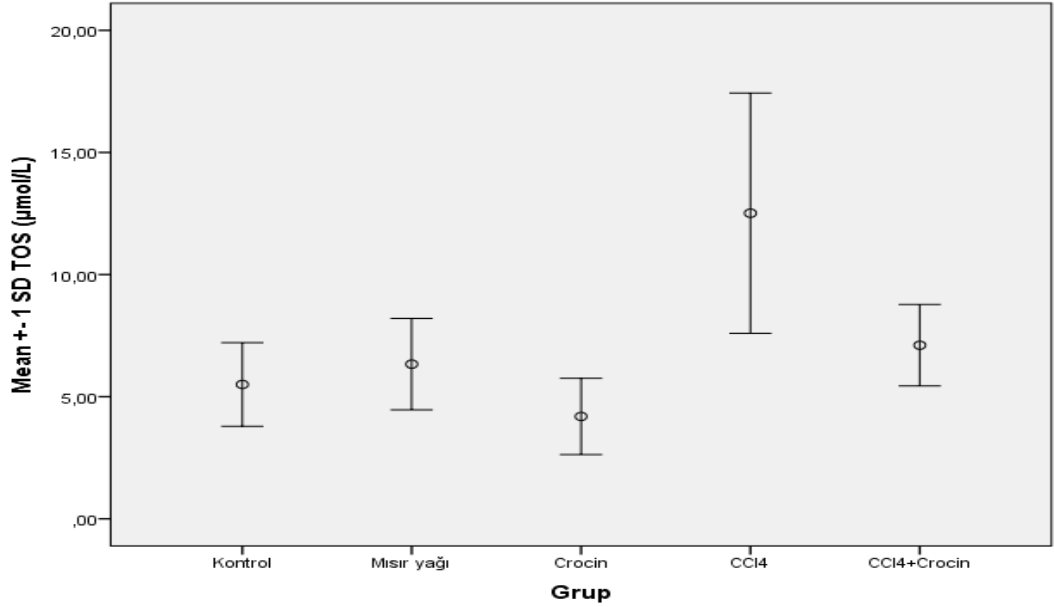
Kalınbağırsak TAS düzeyleri CCl₄ ile birlikte anlamlı bir düşüşe uğrarken ($p<0.05$), krosin ise düşmüş olan TAS değerlerinde artışa sebep olmuştur (Şekil 7.17).



Şekil 7.17. Grupların kalınbağırsak TAS düzeyleri.

7.1.18. Grupların Kalınbağırsak TOS Düzeyleri

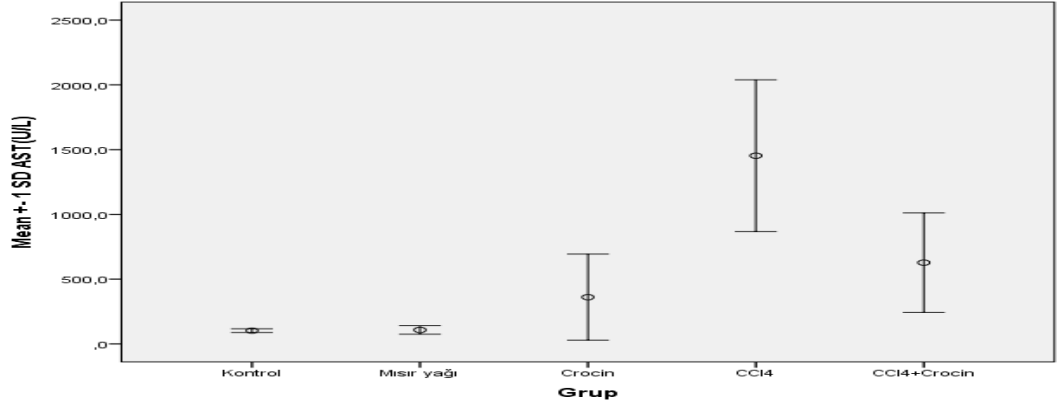
TOS değerleri CCl₄ uygulamasıyla birlikte anlamlı bir artışa uğrarken ($p<0.05$), krosin uygulaması ile TOS değerlerinde anlamlı bir düşüş ($p<0.05$) gözlenmiş ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır (Şekil 7.18).



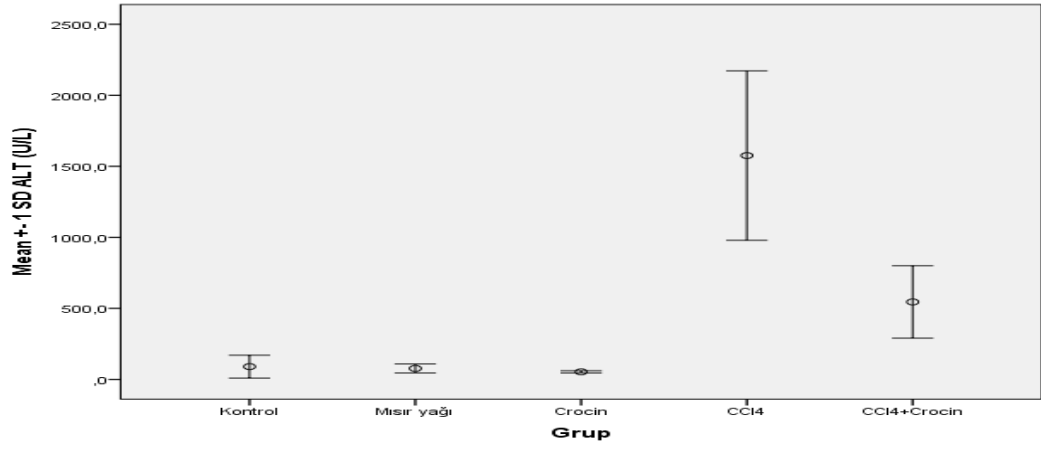
Şekil 7.18. Grupların kalınbağırsak TOS düzeyleri.

7.1.19. Serum Biyokimyasal Analizler

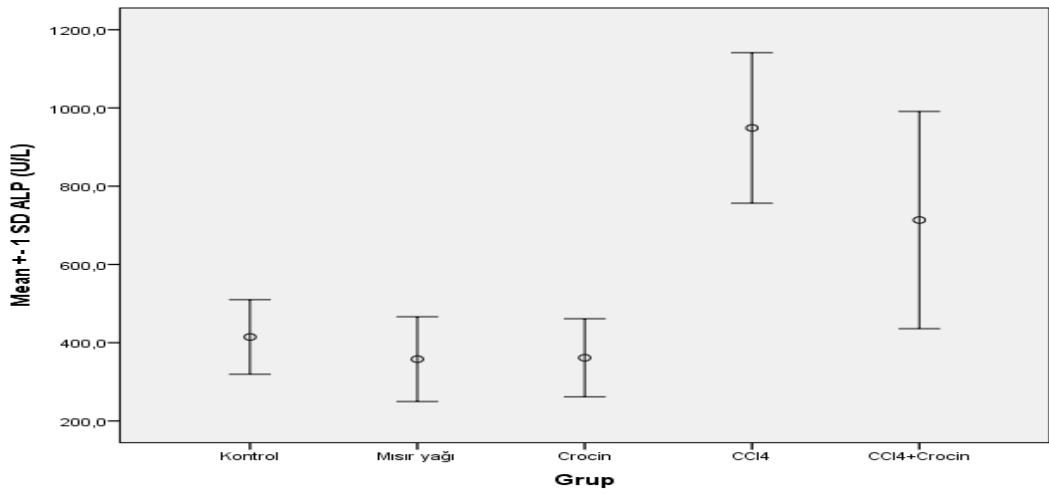
Serum AST değerleri CCl₄ uygulaması ile birlikte anlamlı bir artış gösterirken ($p<0.05$), krosin ise yükselmiş AST değerlerinde anlamlı bir düşüşe ($p<0.05$) sebep olmuştur (Şekil 7.19). ALT değerleri CCl₄ uygulamasıyla beraber anlamlı bir yükseliş gösterirken ($p<0.05$), krosin ise yükselmiş ALT değerlerini anlamlı derece de ($p<0.05$) düşürmüştür (Şekil 7.20). Serum ALP değerleri CCl₄ ile birlikte yükselirken ($p<0.05$), krosin yükselmiş olan ALP değerlerinde düşüşe sebep olmuştur (Şekil 7.21).



Şekil 7.19. Serum AST düzeyleri.



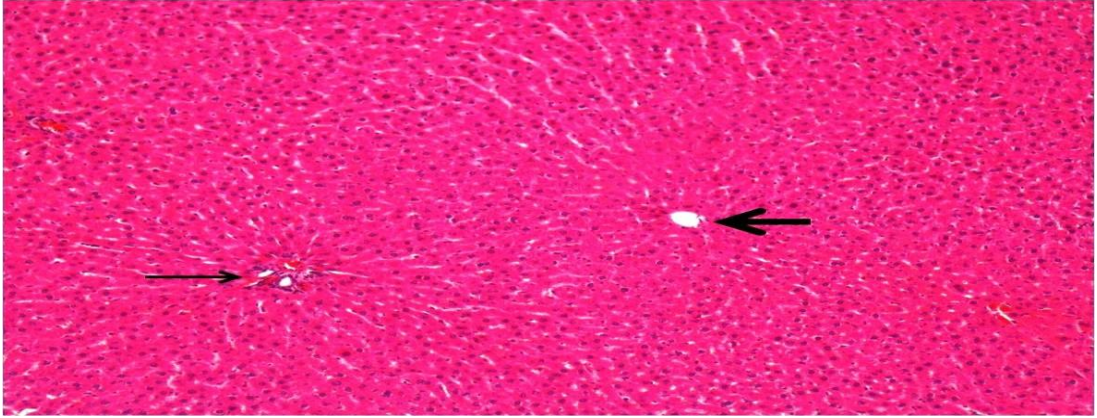
Şekil 7.20. Serum ALT düzeyleri.



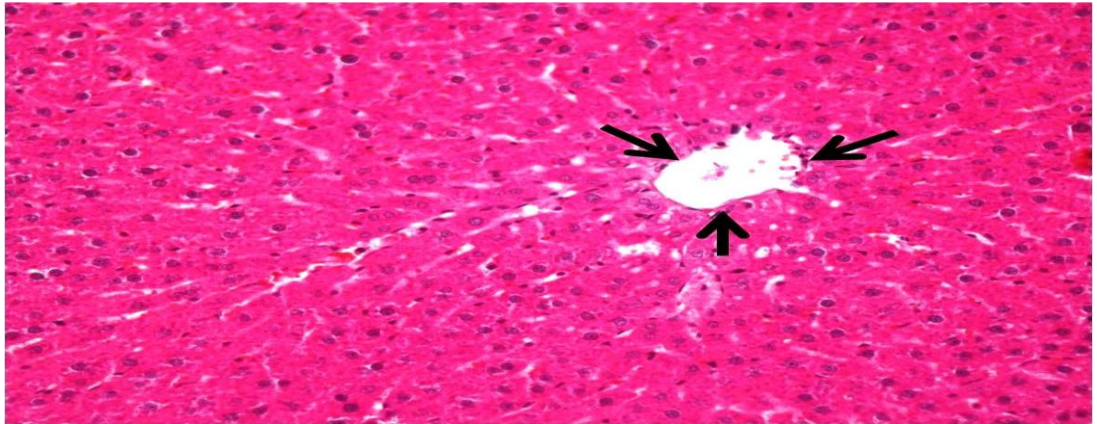
Şekil 7.21. Serum ALP düzeyleri.

7.2. HİSTOLOJİK BULGULAR

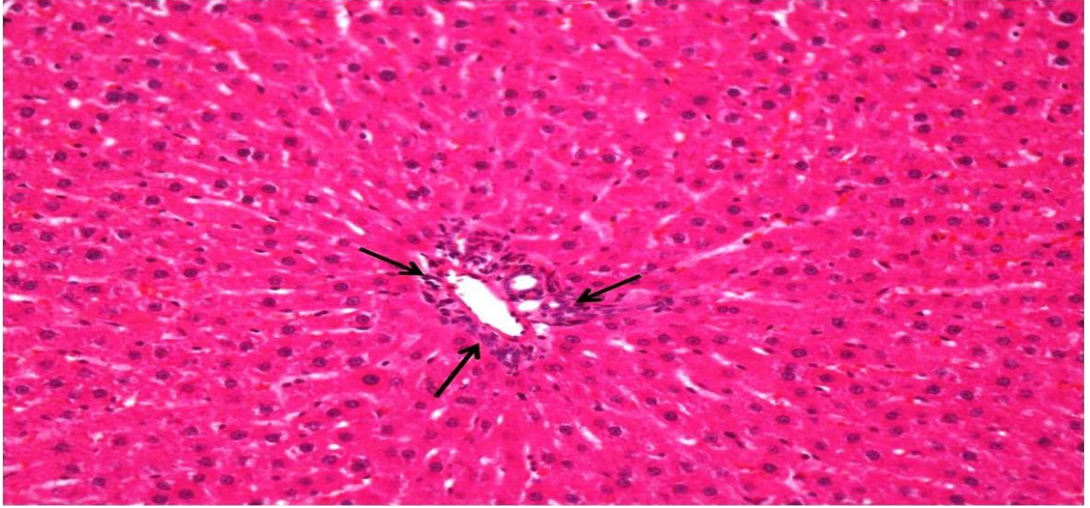
Kontrol (Şekil 7.22-Şekil 7.26), krosin (Şekil 7.27-Şekil 7.31) ve mısır yağı (Şekil 7.32-Şekil 7.35) gruplarına ait hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerde karaciğer lobüler yapısı normal görünümde olduğu gözlemlendi. Karaciğer lobüllerinin merkezinde yer alan santral ven ve hepatosit kordonları ile sinuzoid kapillarlar normal histolojik yapıda izlendi. Hepatositlerde eosinofilik sitoplazma ve merkezi yerleşimli, ökromatik, düzgün dairesel şekilli nükleus yapısı izlenmekte normal histolojik yapıda değerlendirildi. Kupffer hücreleri olağan yoğunlukta ve normal mikroskobik yapıda izlendi. Karaciğer lobülleri periferinde izlenen portal triadlar içerisindeki arterlerin, venlerin ve safra kanallarının lümenleri açık olarak izlendi ve bu yapılar normal histolojik görünümde değerlendirildi.



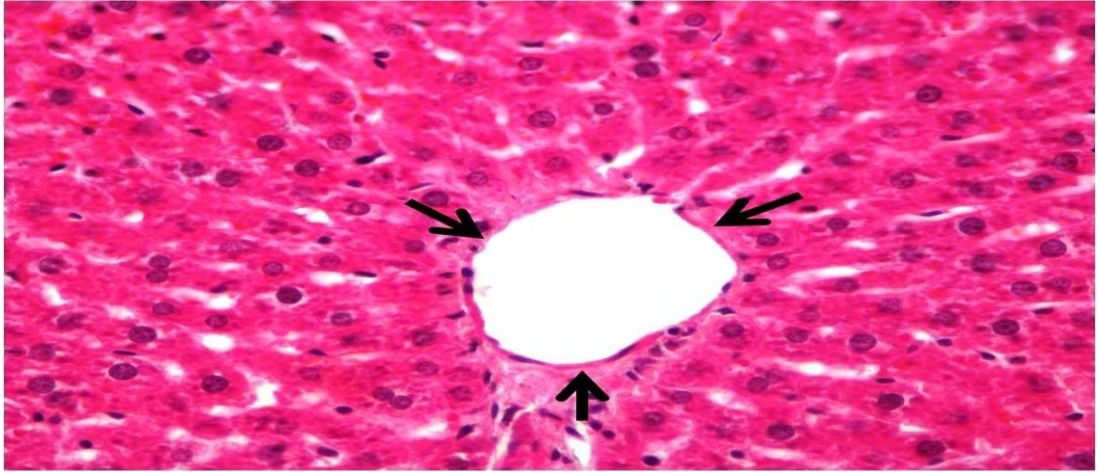
Şekil 7.22. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok). H-E, x10.



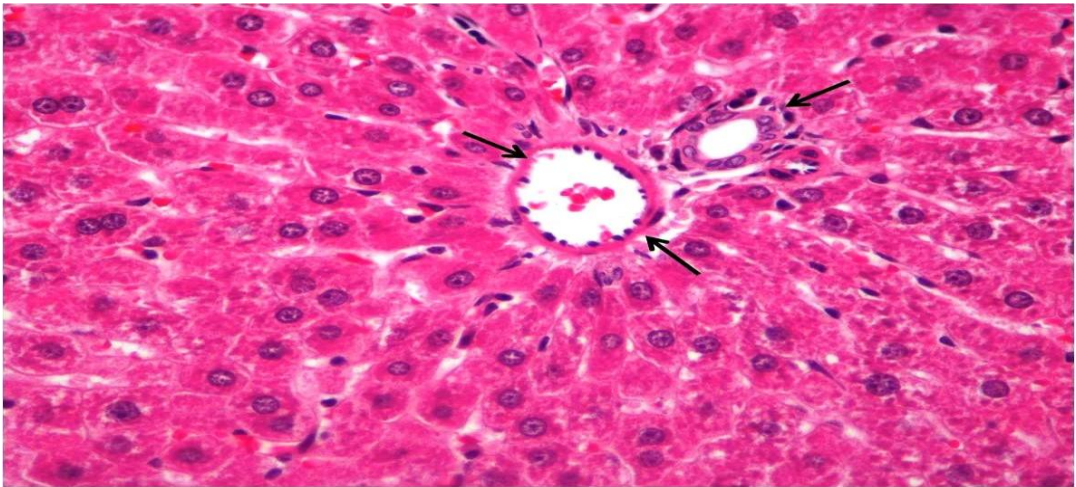
Şekil 7.23. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.



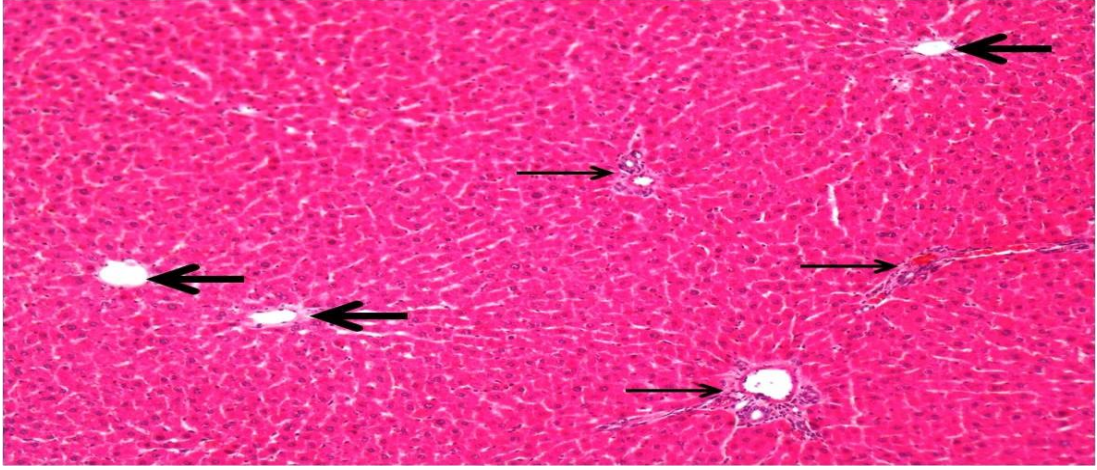
Şekil 7.24. Kontrol grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.



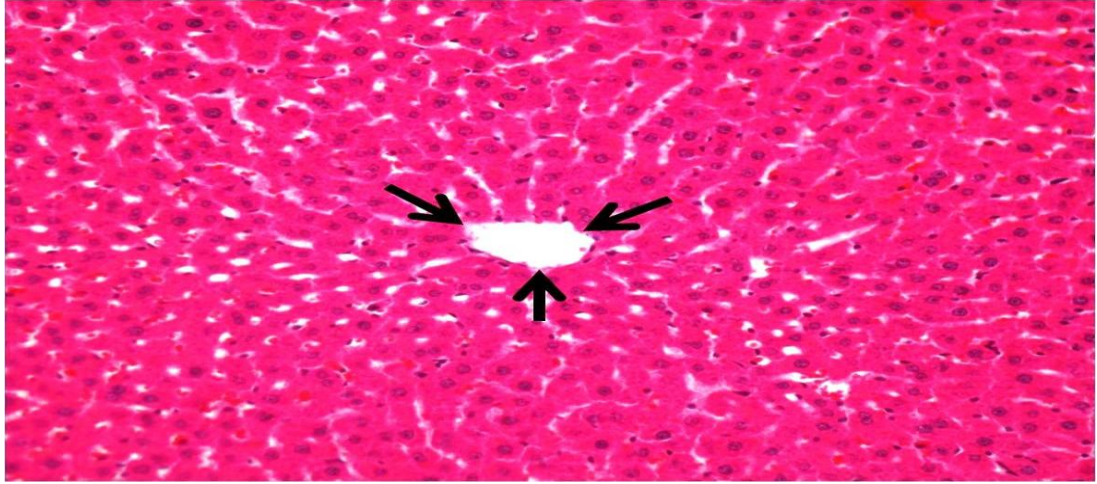
Şekil 7.25. Kontrol grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.



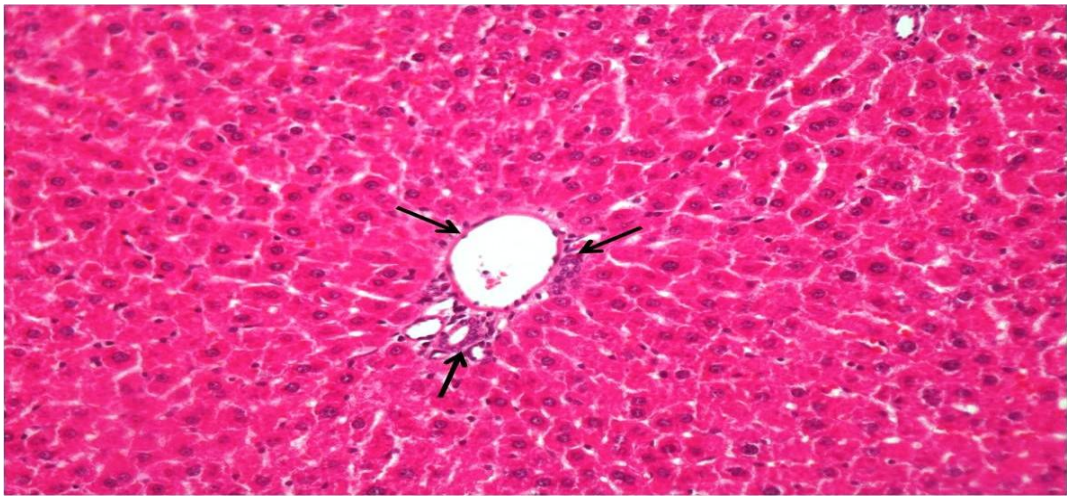
Şekil 7.26. Kontrol grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x40.



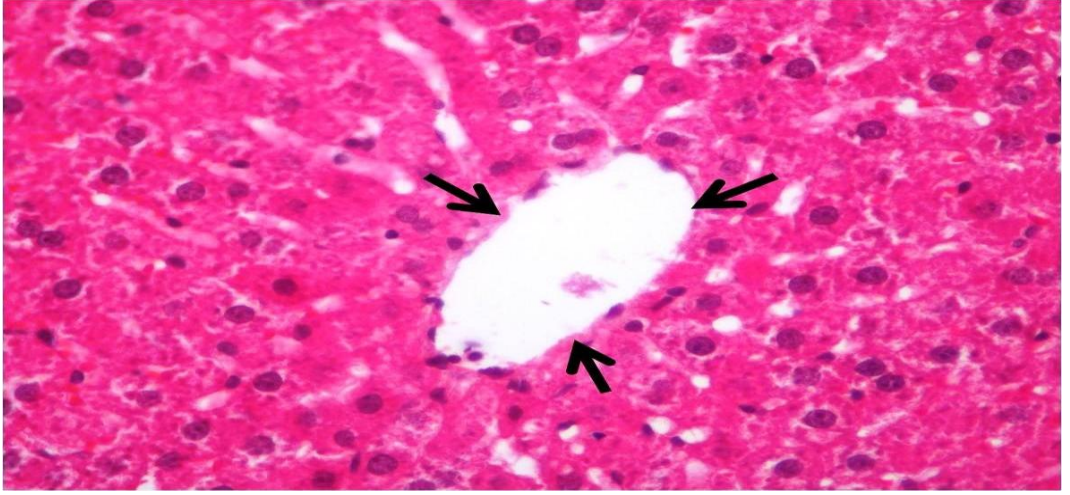
Şekil 7.27. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok). H-E, x10.



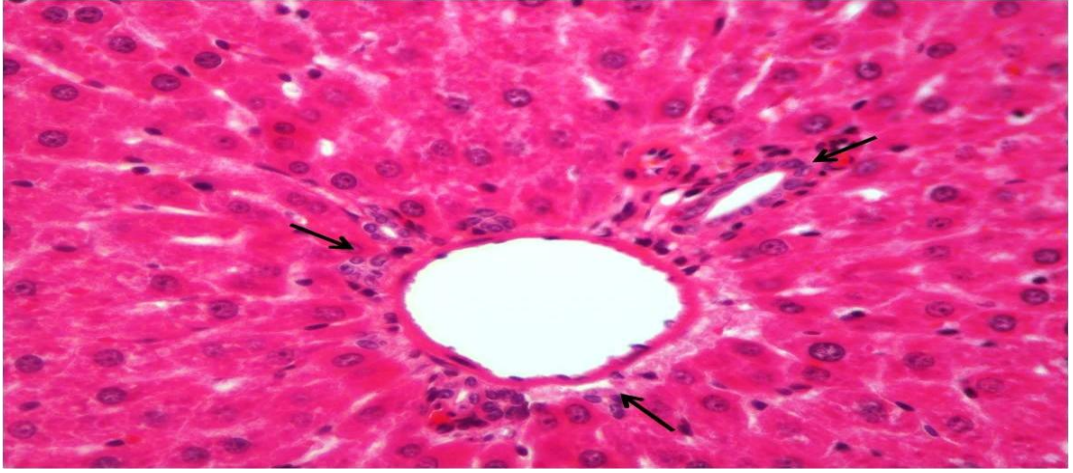
Şekil 7.28. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.



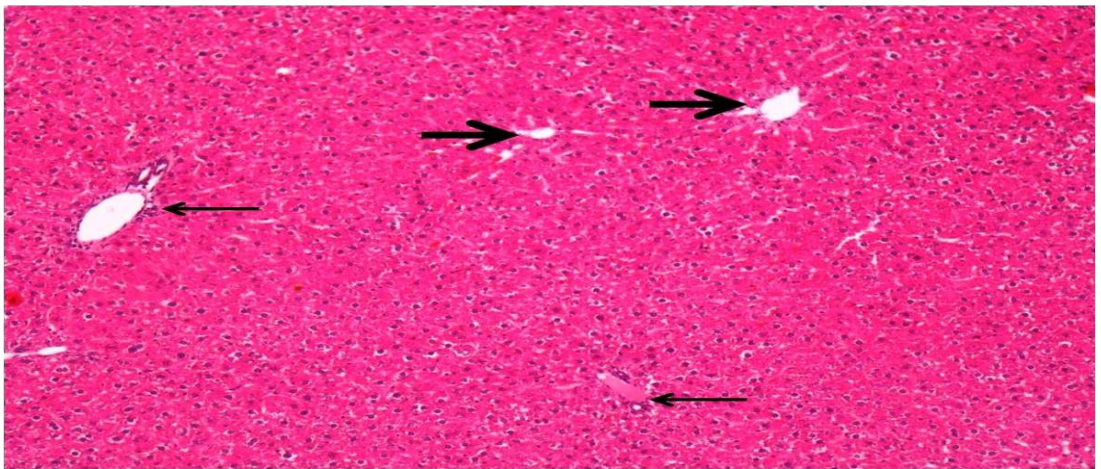
Şekil 7.29. Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.



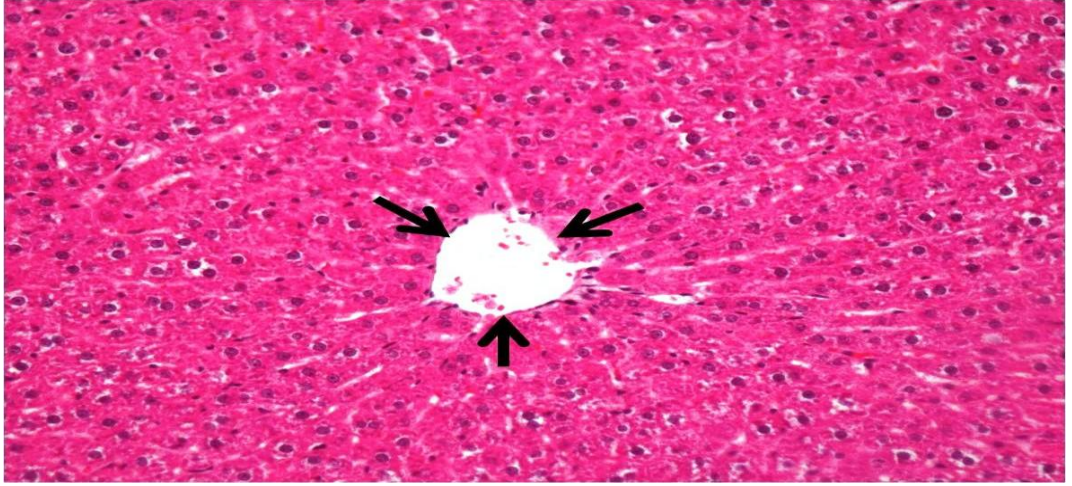
Şekil 7.30. Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.



Şekil 7.31. Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x40.



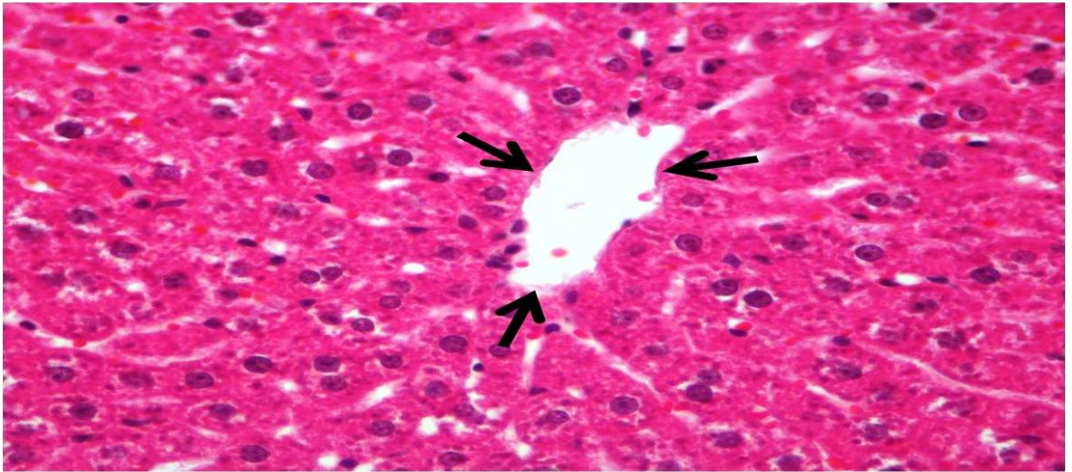
Şekil 7.32. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok). H-E, x10.



Şekil 7.33. Mısır Yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x20.

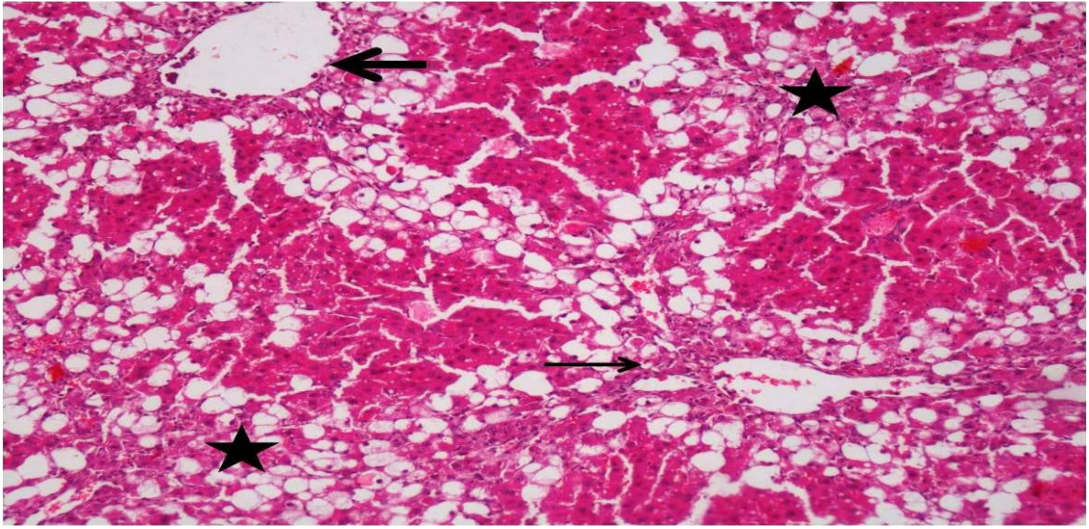


Şekil 7.34. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Portal alan (ok). H-E, x20.

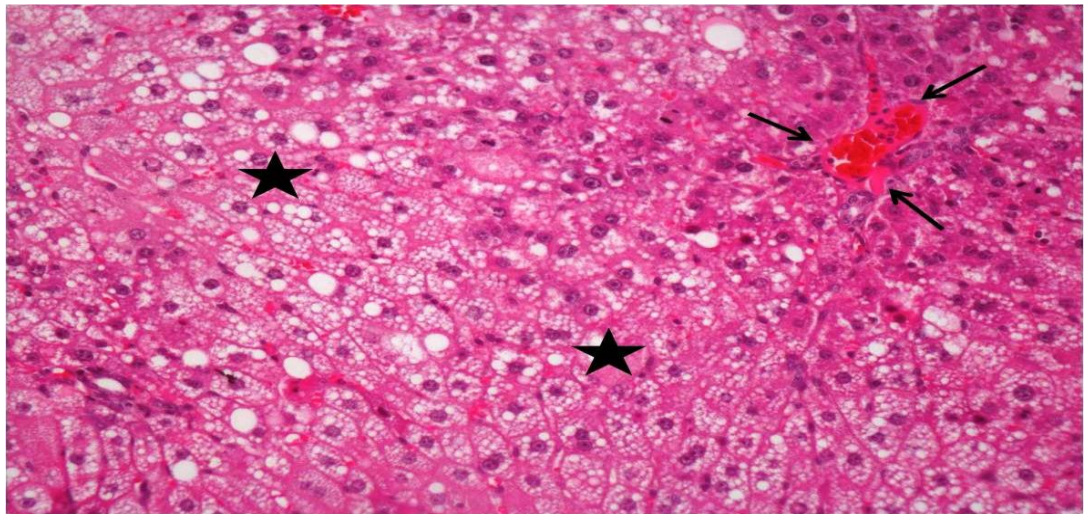


Şekil 7.35. Mısır yağı grubu. Karaciğer. Santral ven (ok). H-E, x40.

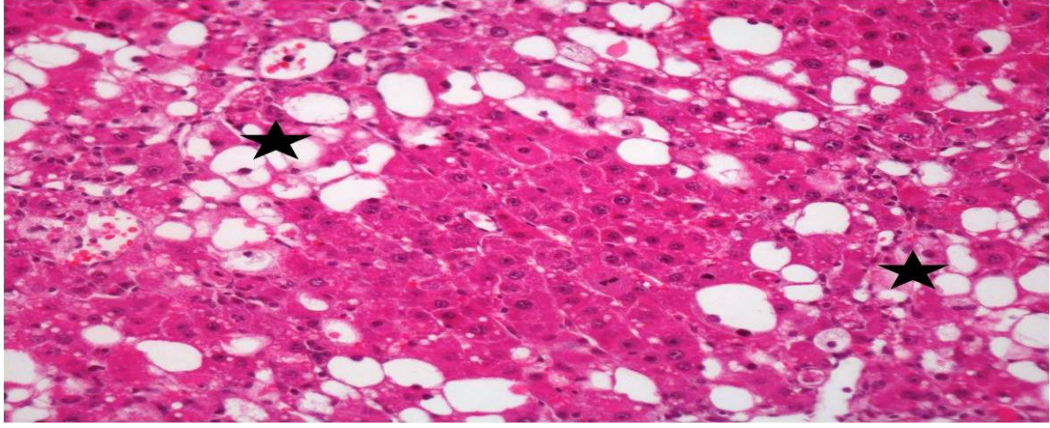
CCL4 grubuna ait hematoksilen-eosin ile boyanan tüm karaciğer kesitlerinde yaygın olarak nekroz alanları izlendi. Karaciğer parankiminde izlenen nekroz alanları arasında köprüleşmeler dikkati çekti (Şekil 7.36, Şekil 7.38). Nekroz alanlarında değişik derecelerde ve inflamasyon mevcuttur. Nekroz alanları arasında izlenen parankimal alanlardaki hepatositlerde yaygın olarak intrasitoplazmik vakuolizasyon izlendi (Şekil 7.37, Şekil 7.39). Karaciğer parankimindeki hepatositler arasında çok sayıda mitoz figürleri ve apoptotik cisimcikler saptandı. Nekroz alanlarında, santral ven çevresinde ve portal alanlarda farklı derecelerde fibrozis izlendi (Şekil 7.40).



Şekil 7.36. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok), köprüleşme nekrozu (yıldız). H-E, x10.



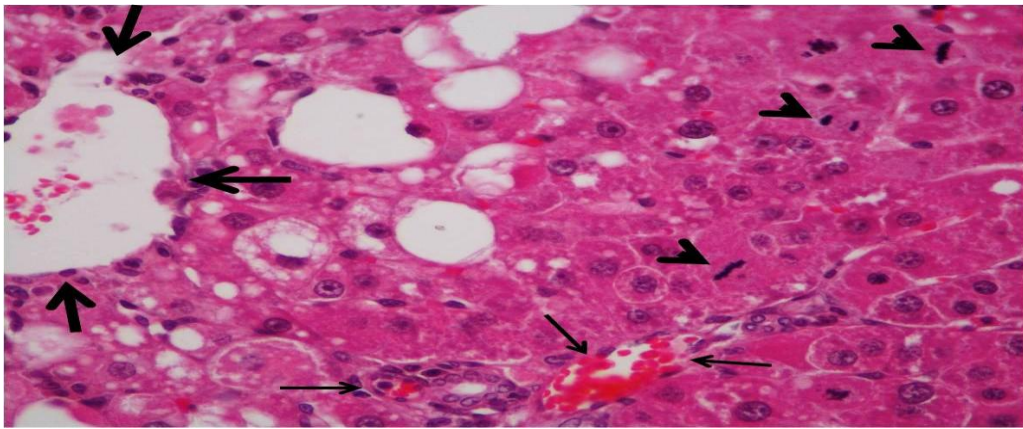
Şekil 7.37. CCl4 grubu. Karaciğer. Portal alanda vasküler konjesyon (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x20.



Şekil 7.38. CCl4 grubu. Karaciğer. Köprüleşme nekrozu ve ve hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x20.

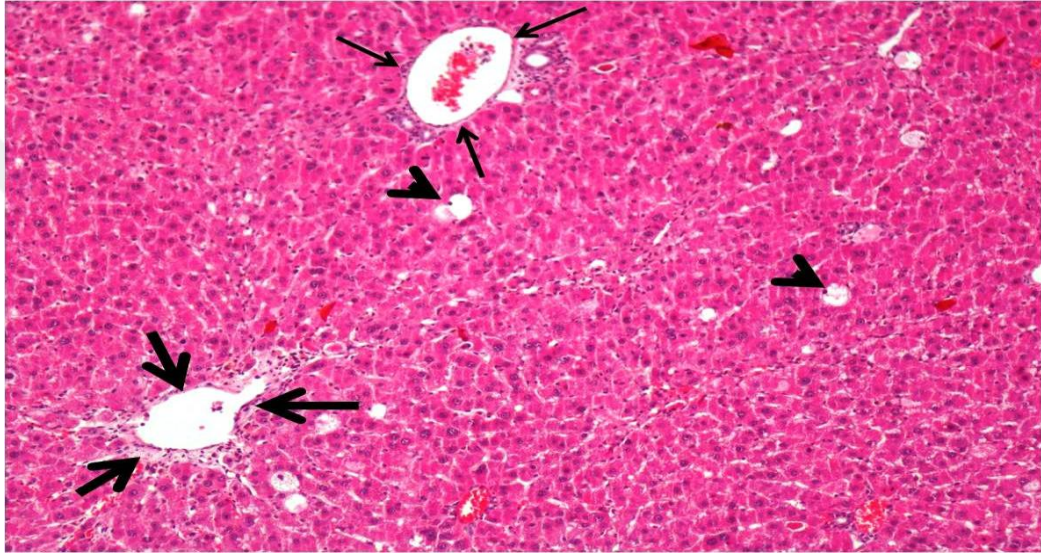


Şekil 7.39. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven duvarında kalınlaşma (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız), apoptotik cisimcik (ok başı). H-E, x40.

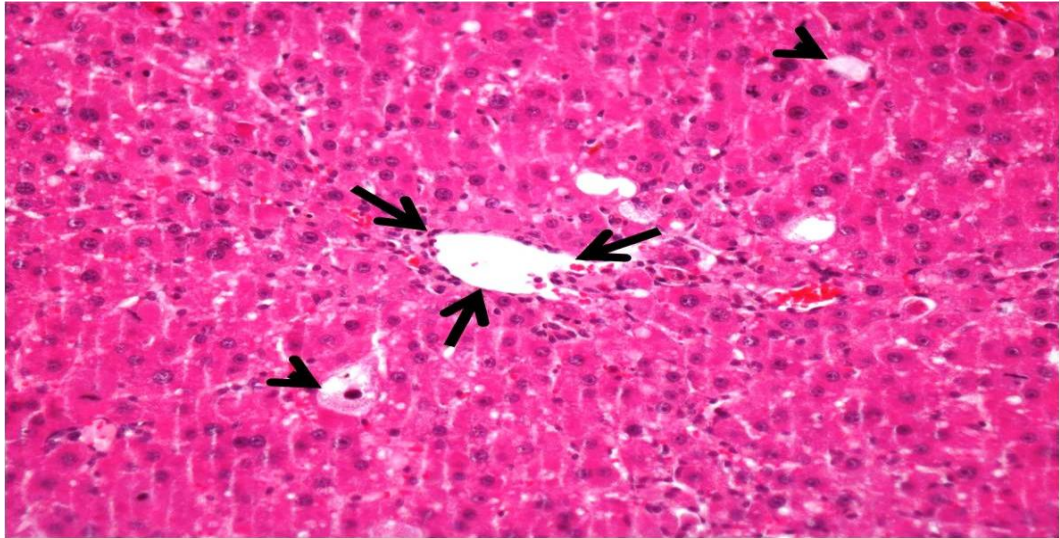


Şekil 7.40. CCl4 grubu. Karaciğer. Santral ven duvarında kalınlaşma (kalın ok), portal alanda vasküler konjesyon (ince ok), mitoz figürü (ok başı). H-E, x40.

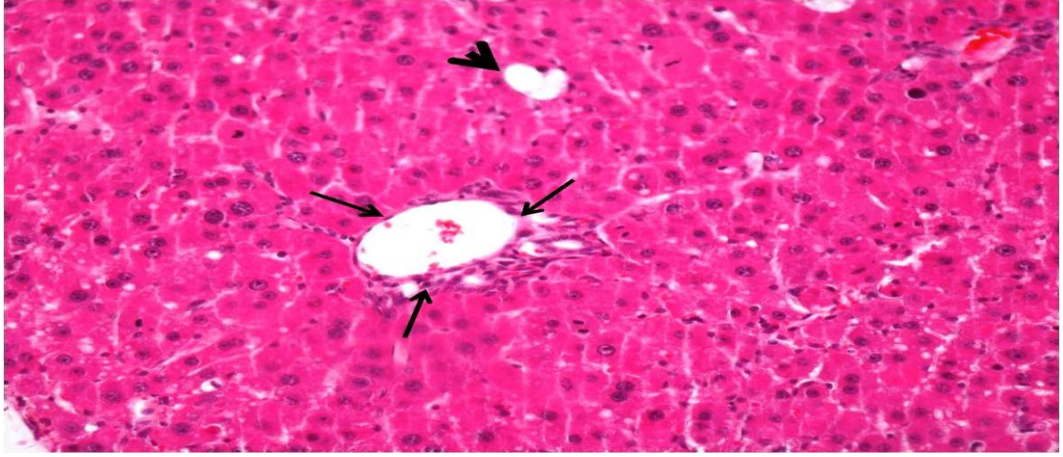
CCL4+Krosin grubuna ait hematoksilen-eosin ile boyanan karaciğer kesitlerinde CCL4 grubunda izlenen karaciğer histolojik hasar parametrelerinin belirgin şekilde gerilemiş olduğu görüldü. Karaciğer kesitlerinde yer yer fokal nekroz alanları ve hepatositlerde litik nekroz saptandı. Santral ven çevresinde ve portal alanlarda minimal derecede inflamasyon ve fibrozis izlendi (Şekil 7.41-Şekil 7.43). Bazı hepatositlerde intrasitoplazmik vakuolizasyon izlendi. Hepatositlerde yer yer mitoz figürlerine rastlandı (Şekil 7.44, Şekil 7.45).



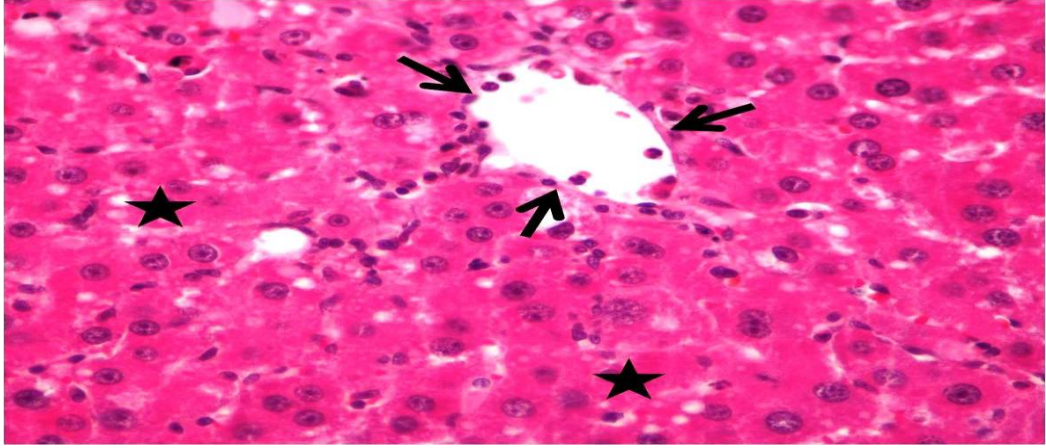
Şekil 7.41. CCL4+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (kalın ok), portal alan (ince ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x10.



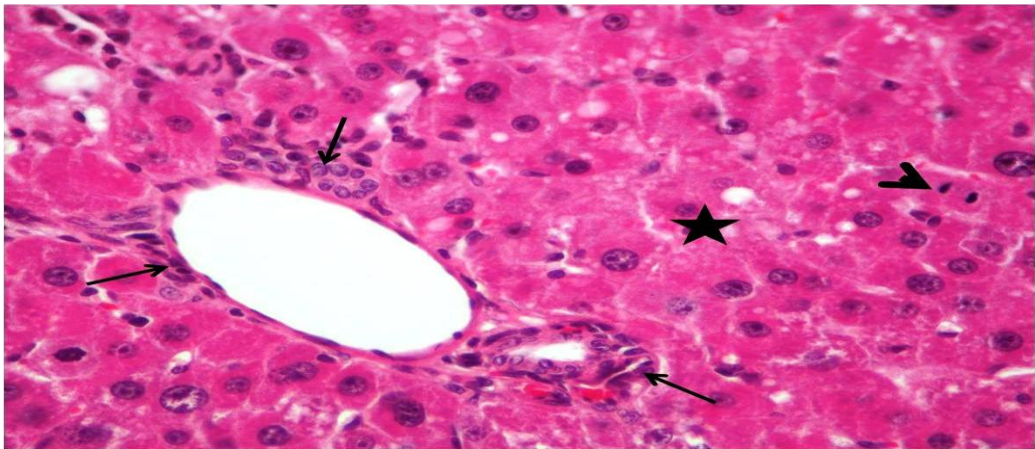
Şekil 7.42. CCL4+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x20.



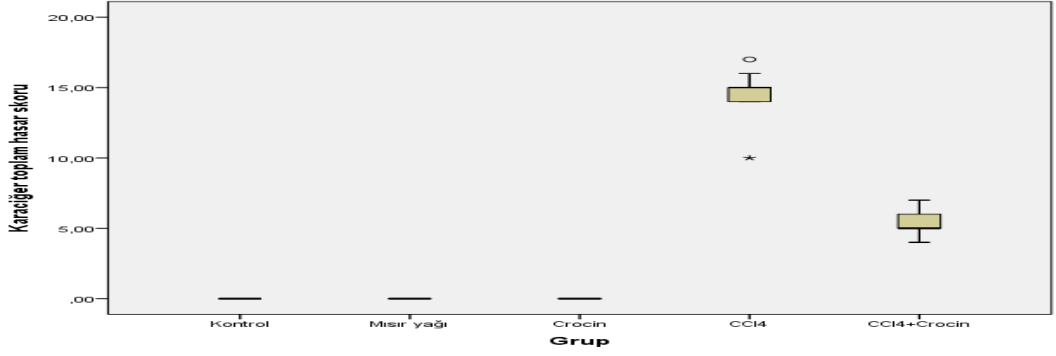
Şekil 7.43. CCl₄+Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok), hepatositlerde litik nekroz (ok başı). H-E, x20.



Şekil 7.44. CCl₄+Krosin grubu. Karaciğer. Santral ven (ok), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x40.

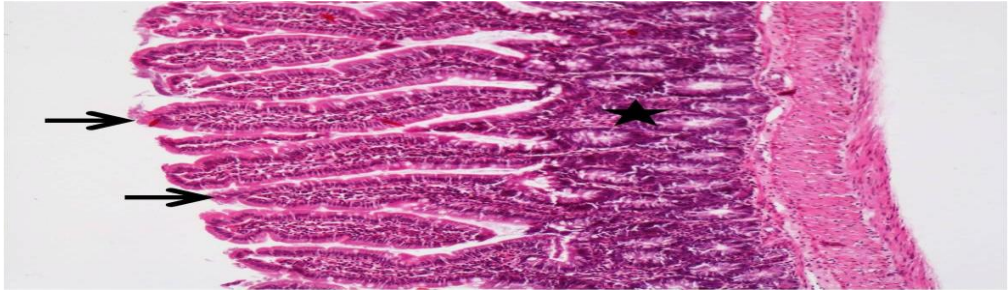


Şekil 7.45. CCl₄+Krosin grubu. Karaciğer. Portal alan (ok), mitoz figürü (ok başı), hepatositlerde vakuolizasyon (yıldız). H-E, x40.

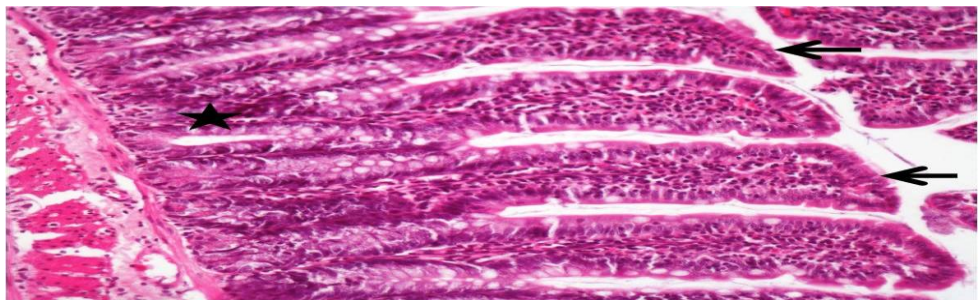


Şekil 7.46. Karaciğer toplam hasar skoru.

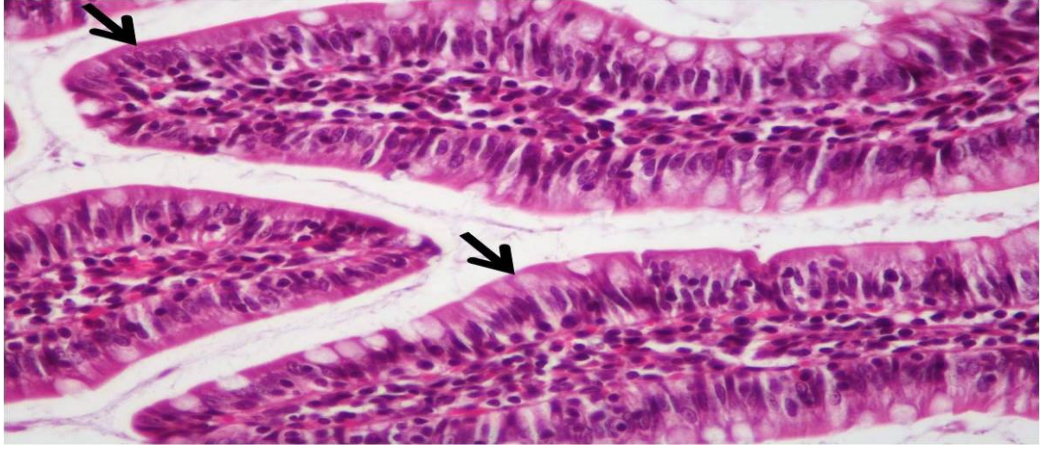
Kontrol, krosin ve mısır yağı gruplarına ait ince bağırsak kesitlerinde mukoza düzgün, ince uzun villuslar ve villusların tabanında Liberkühn kriptaları içeriyordu (Şekil 7.47-Şekil 7.48; Şekil 7.50-Şekil 7.51; Şekil 7.53-Şekil 7.54). Villusların yüzeyi Goblet hücreleri içeren mikrovilluslu tek katlı prizmatik epitel ile örtülü olup normal histolojik görünümde izlendi (Şekil 7.49; Şekil 7.52; Şekil 7.55). Lamina propria bağ dokusu ile lamina muskularis mukoza ve tunika muskularis düz kas tabakaları normal histolojik yapıda değerlendirildi.



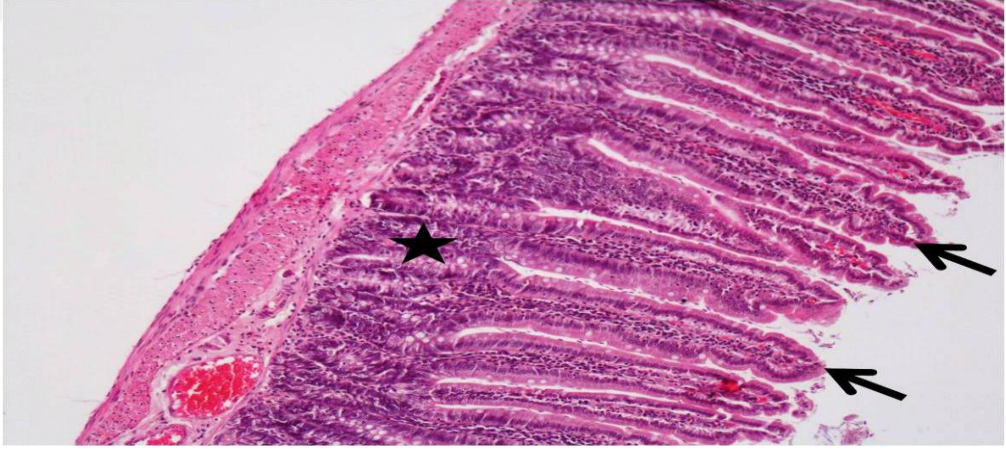
Şekil 7.47. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.



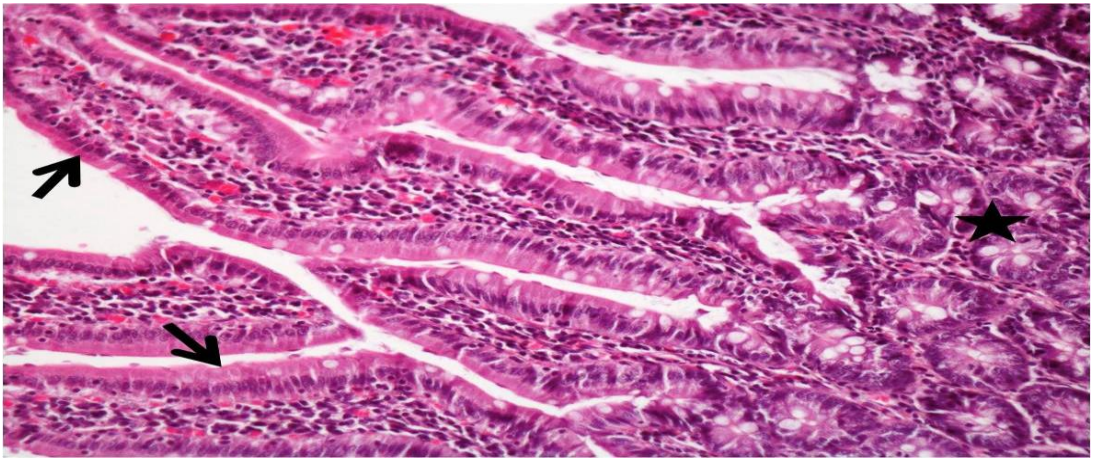
Şekil 7.48. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.



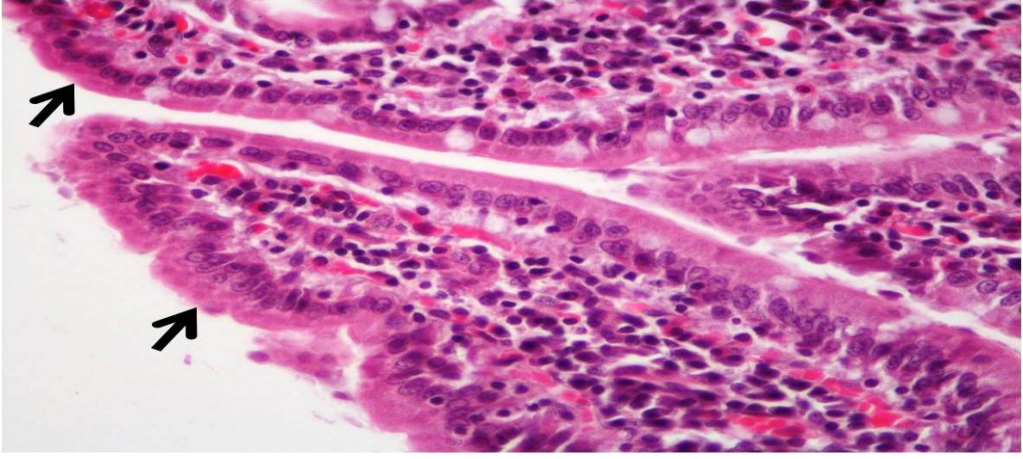
Şekil 7.49. Kontrol grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.



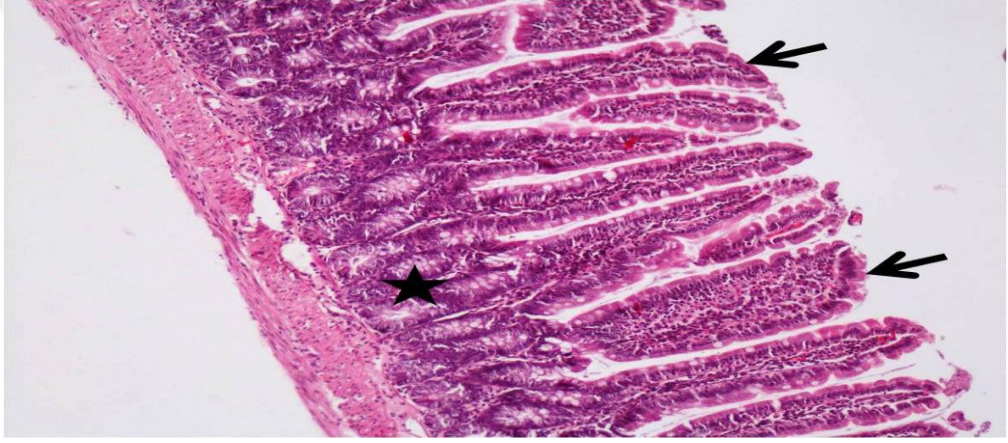
Şekil 7.50. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.



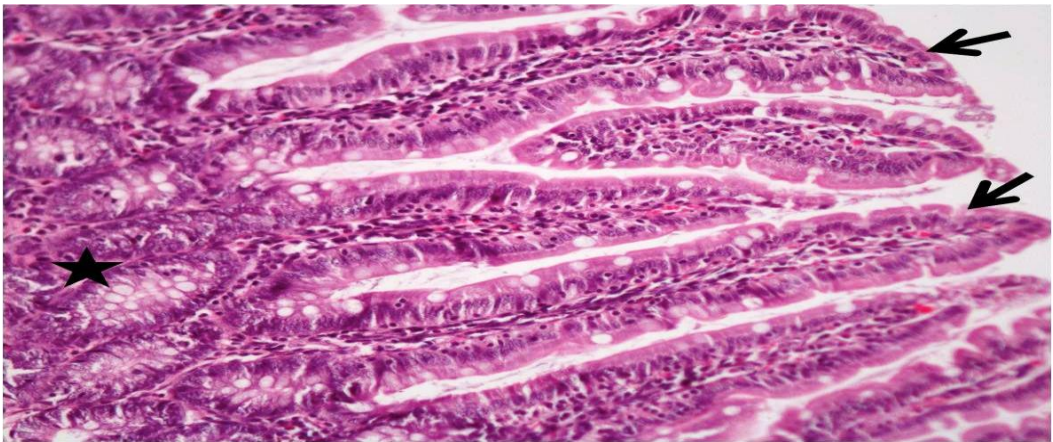
Şekil 7.51. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.



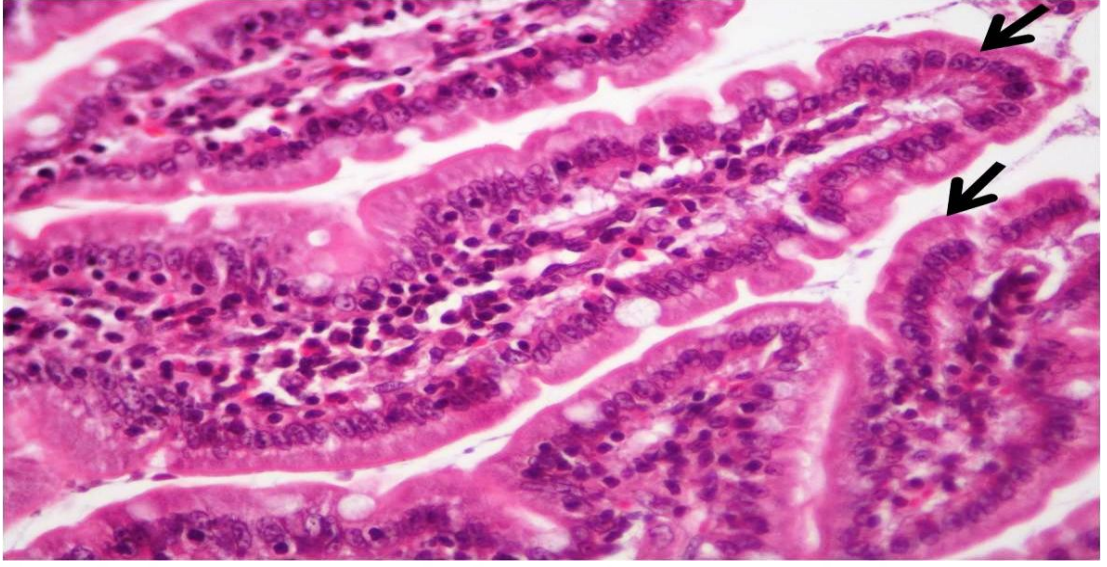
Şekil 7.52. Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.



Şekil 7.53. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x10.

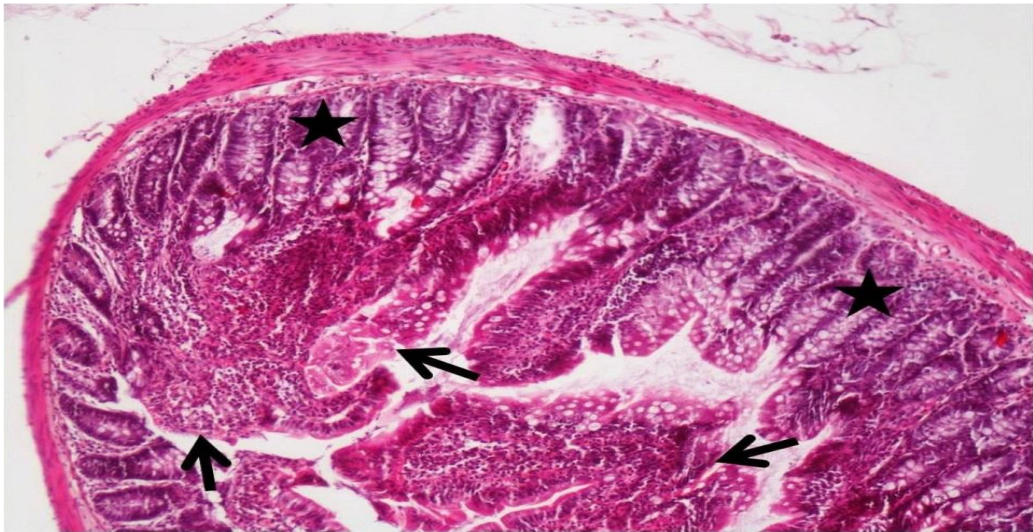


Şekil 7.54. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liberkün kriptası (yıldız). H-E, x20.

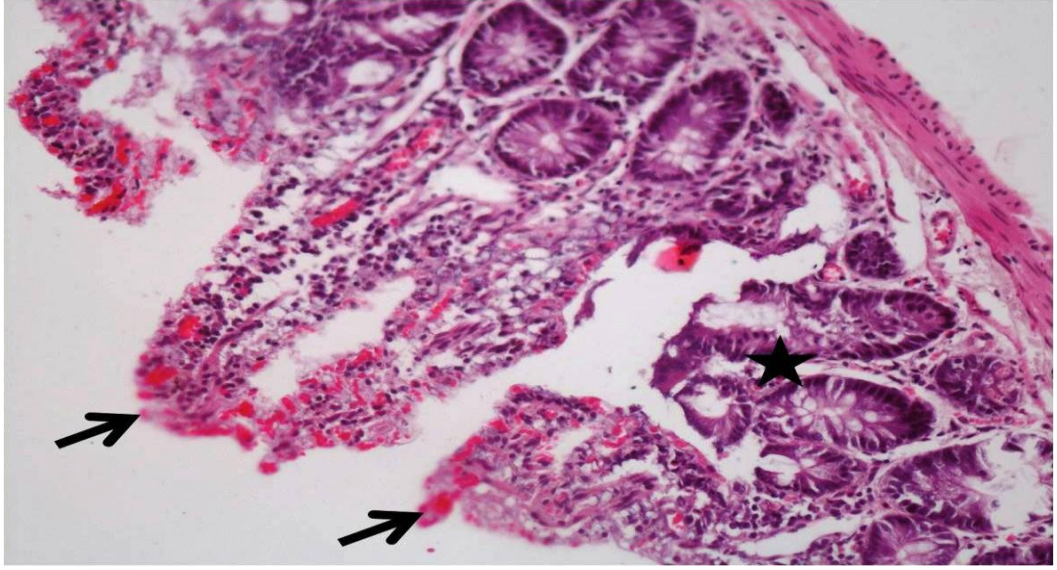


Şekil 7.55. Mısır yağı grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok). H-E, x40.

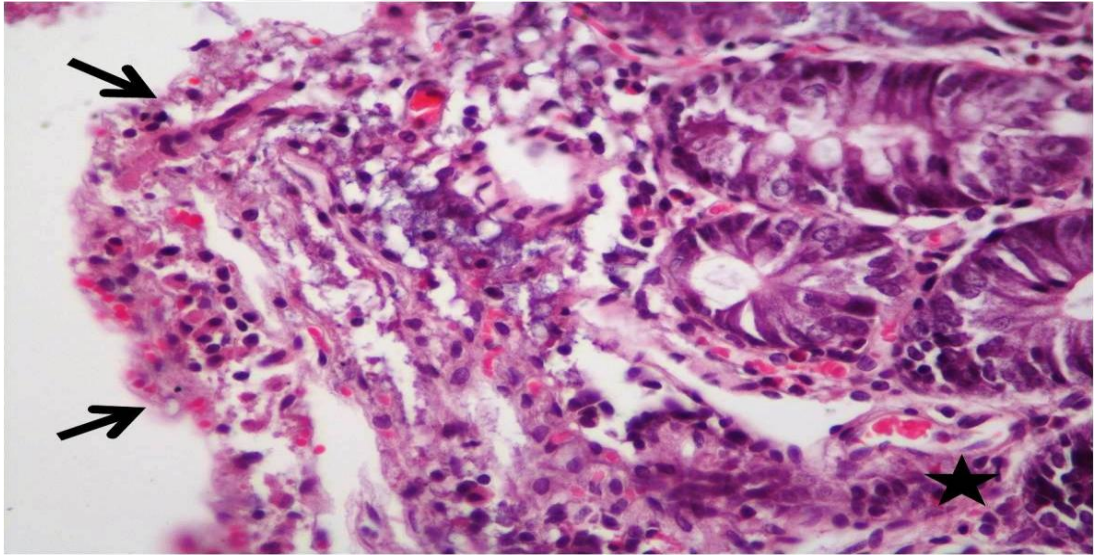
CCL4 grubuna ait hematoksilin-eosin ile boyanan ince bağırsak kesitlerinde bazı alanlarda villuslar ve Liberkühn kriptalarını içerecek şekilde mukoza dejenerasyonu görüldü. Dejenerasyon alanlarında hemoraji, yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis izlendi. Bazı alanlarda total villus dejenerasyonu ve Liberkühn kripta hasarı saptandı. Liberkühn kripta epitel hücrelerinde yaygın olarak piknotik-heterokromatik nükleus yapısı dikkati çekti. Çok sayıda kısa boylu, künt şekilli villuslar tespit edildi (Şekil 7.56-Şekil 7.57-Şekil 7.58).



Şekil 7.56. CCL4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.

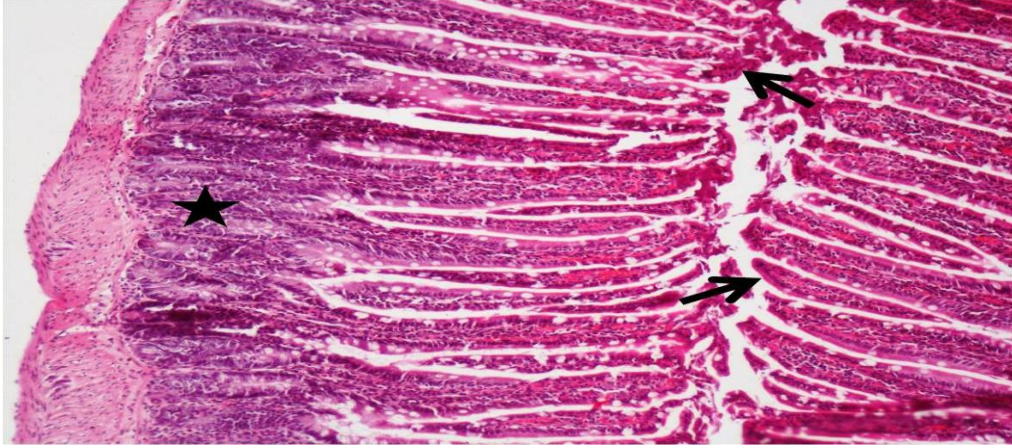


Şekil 7.57. CCl4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkün kriptası hasarı (yıldız). H-E, x20.

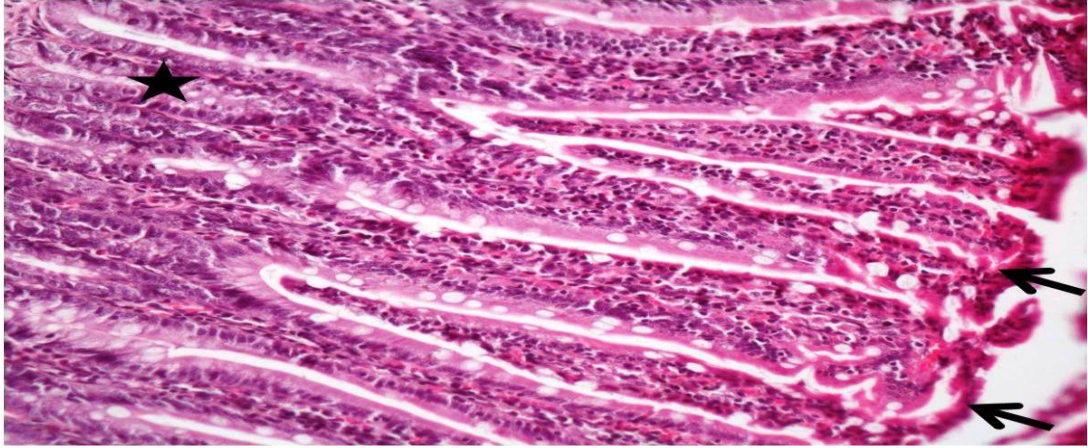


Şekil 7.58. CCl4 grubu. İnce bağırsak. Villus dejenerasyonu (ok), Liberkün kriptası dejenerasyonu (yıldız). H-E, x40.

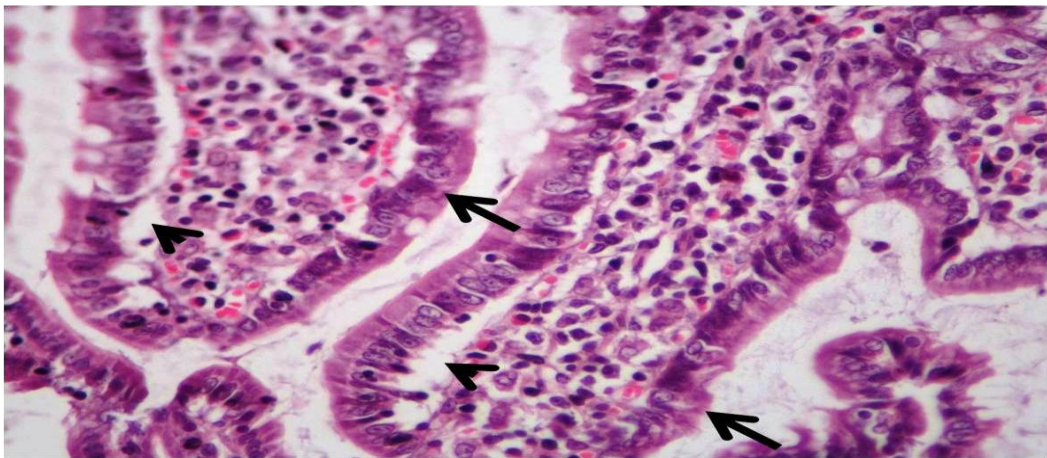
CCL4+Krosin grubundaki hematoksilin-eosin ile boyanan ince bağırsak kesitlerinde villusları apikal bölgelerinde epitel hasarı izlendi. Bazı villuslarda subepiteliyal ödeme bağlı epitel tabakası ayrılmaları saptandı. Liberkün kriptaları epitel hücrelerinde heterokromatik görünüm hakimdir. Ayrıca Liberkün kriptalarında kollaps dikkati çekti. Lamina propria bağ dokusu içinde orta düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 7.59-Şekil 7.61).



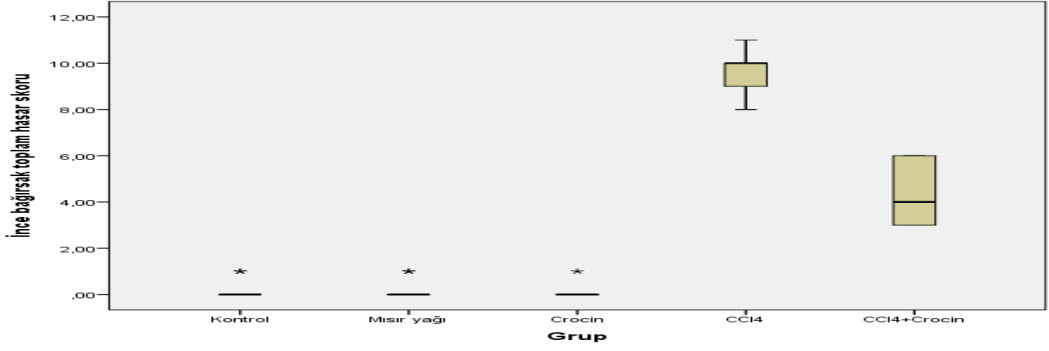
Şekil 7.59. CCl₄+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus (ok), Liber kühn kriptası (yıldız). H-E, x10.



Şekil 7.60. CCl₄+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus apikalinde epitel hasarı (ok), Liber kühn kriptası (yıldız). H-E, x20.

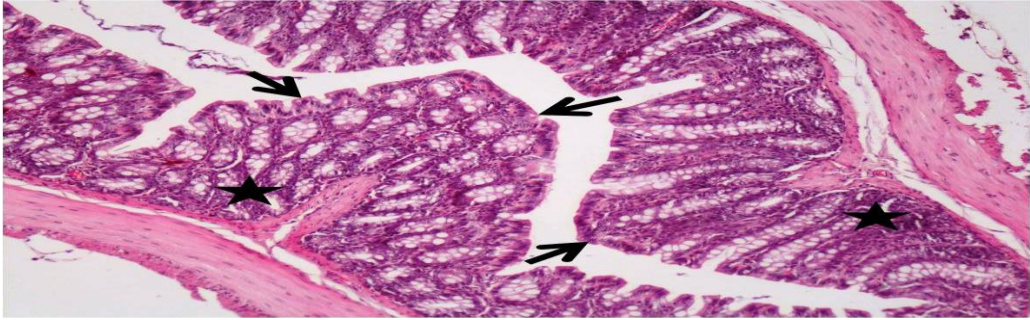


Şekil 7.61. CCl₄+Krosin grubu. İnce bağırsak. Villus yüzünde absorbtif epitel (ok), villuslarda subepiteliyal ödem (ok başı). H-E, x40.

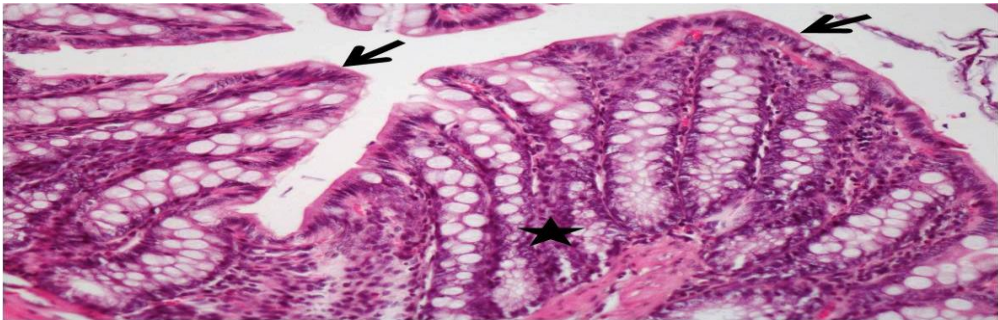


Şekil 7.62. İnce bağırsak toplam hasar skoru.

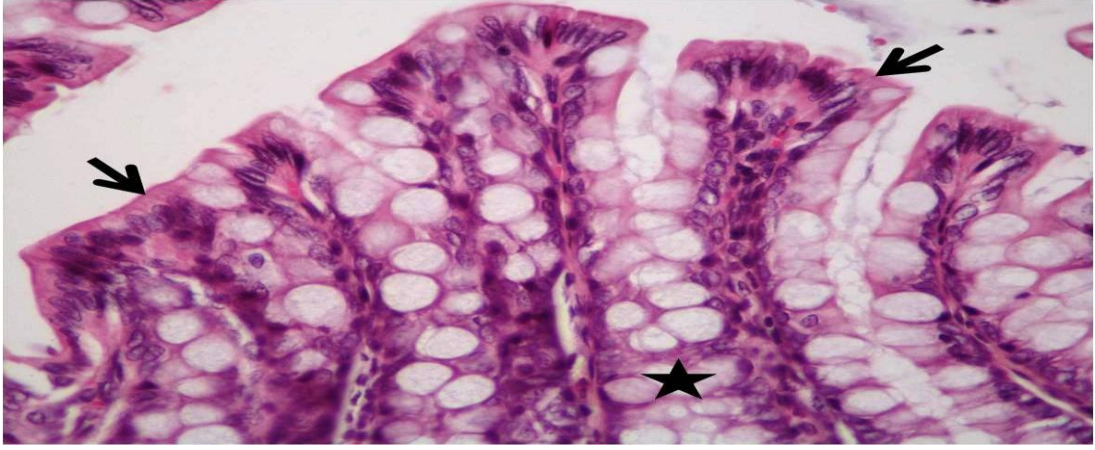
Kontrol (Şekil 7.63-Şekil 7.65), Krosin (Şekil 7.66-Şekil 7.68) ve mısır yağı (Şekil 7.69-Şekil 7.71) gruplarına ait kalın bağırsak kesitlerinde mukoza yüzeyinde ve bezlerde goblet hücrelerinden zengin tek katlı prizmatik epitel normal histolojik görünümde izlendi. Lamina propria olağan yapıda değerlendirildi ve yer mukozada lenfoid doku toplulukları izlendi. Lamina muskularis mukoza ve tunika muskularis düz kas tabakaları normal histolojik yapıda değerlendirildi.



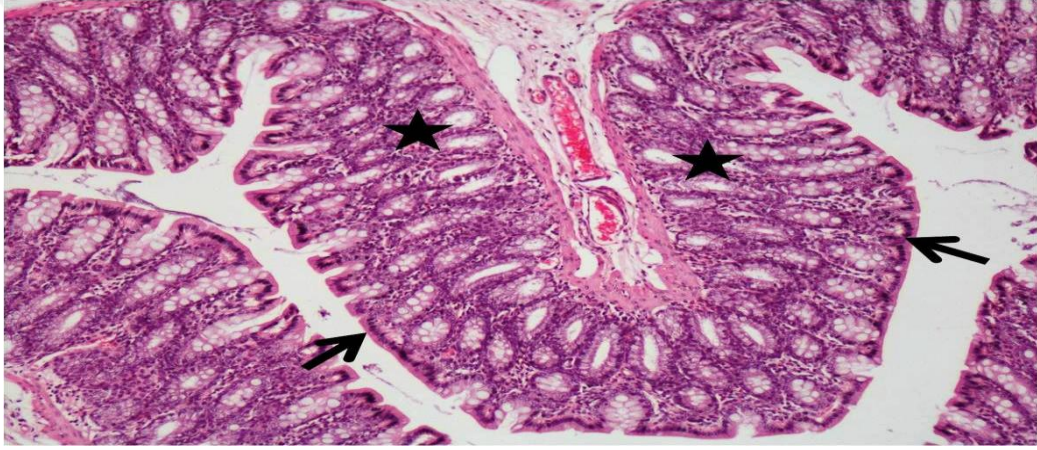
Şekil 7.63. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.



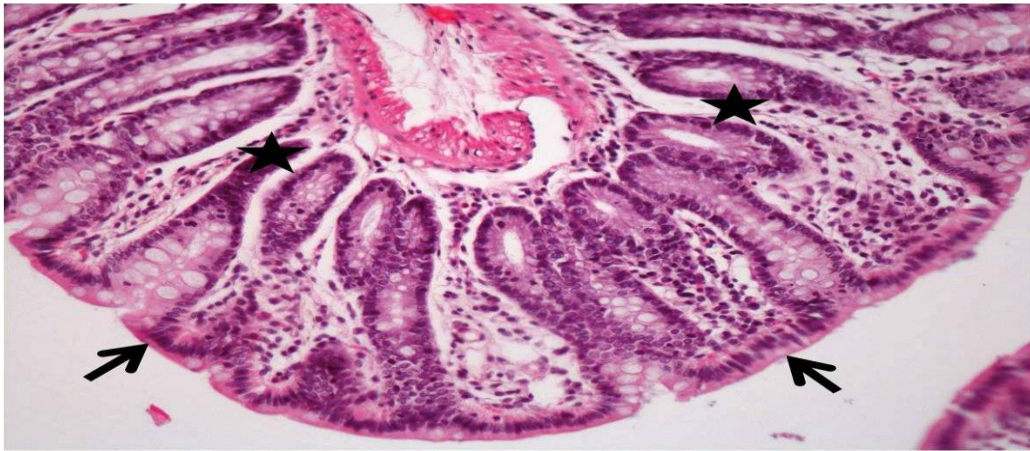
Şekil 7.64. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.



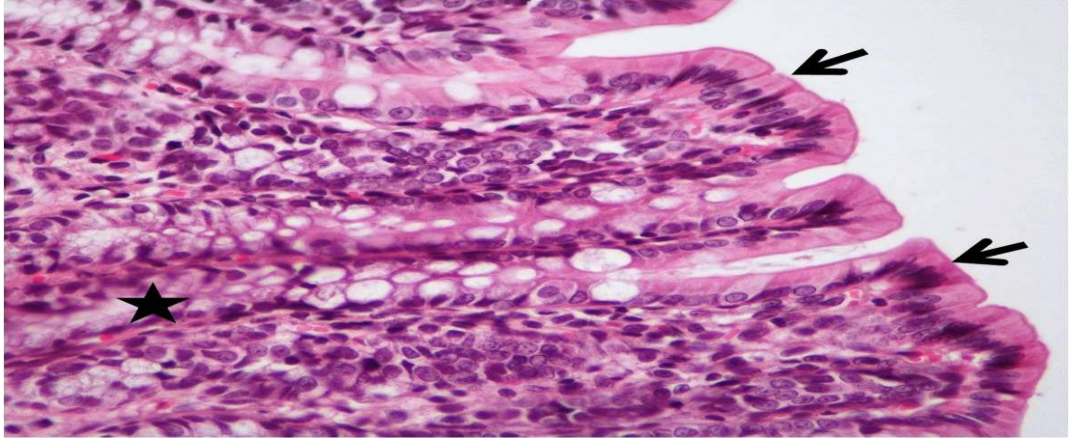
Şekil 7.65. Kontrol grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.



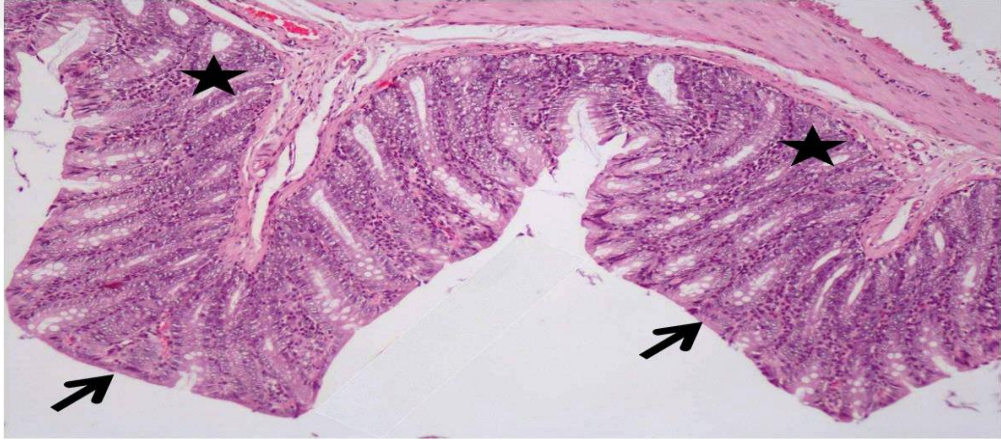
Şekil 7.66. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.



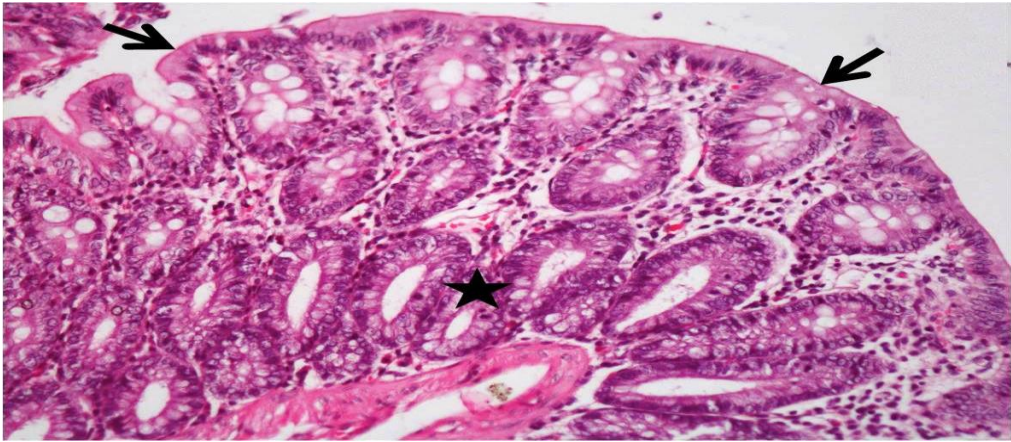
Şekil 7.67. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Liberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.



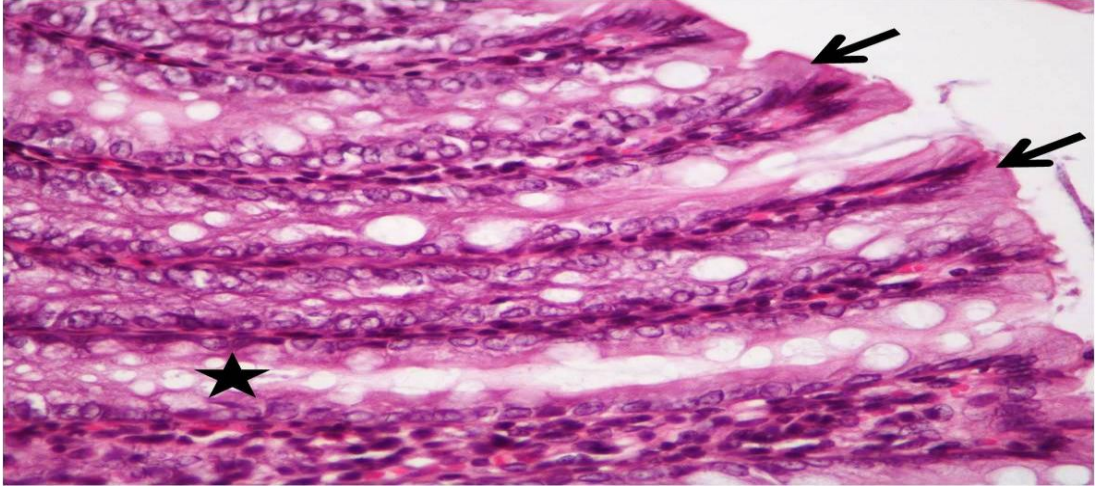
Şekil 7.68. Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.



Şekil 7.69. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.

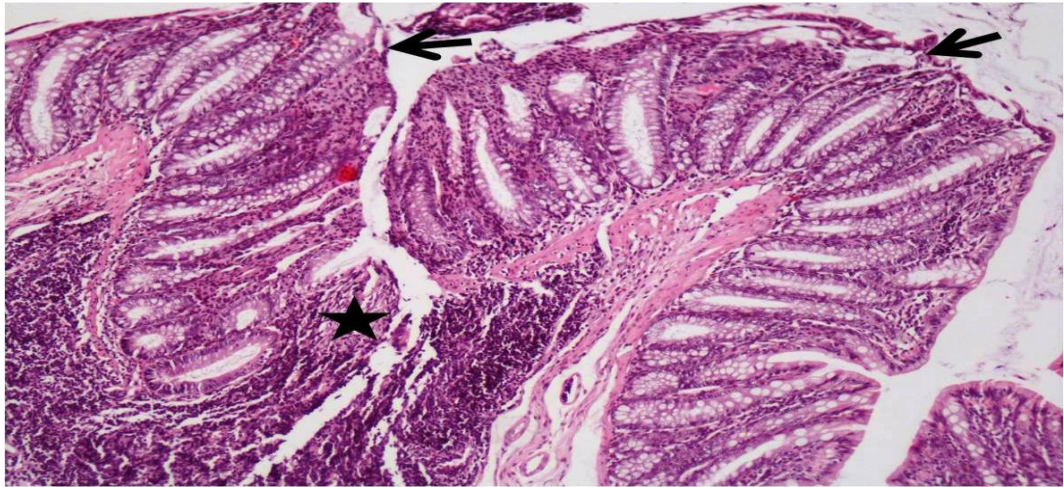


Şekil 7.70. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.

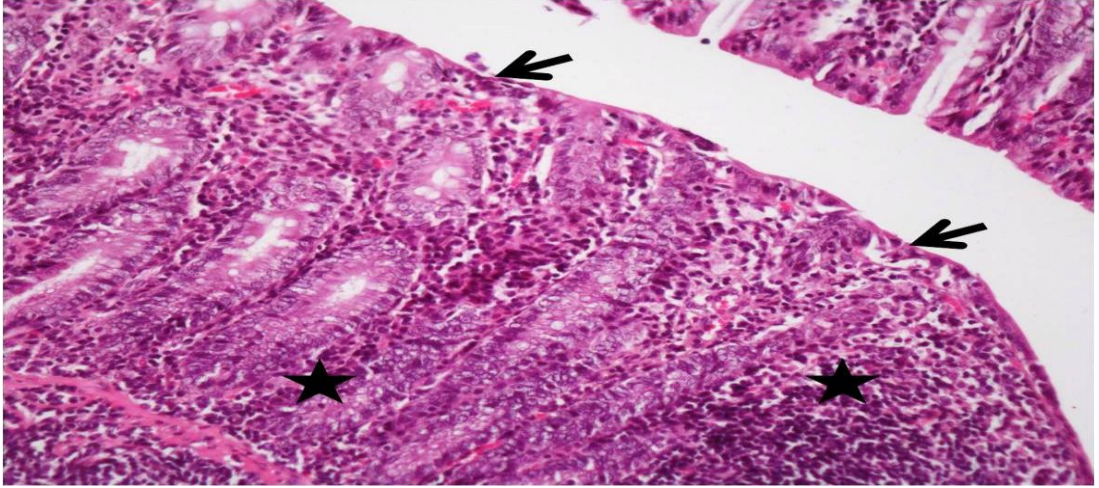


Şekil 7.71. Mısır yağı grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.

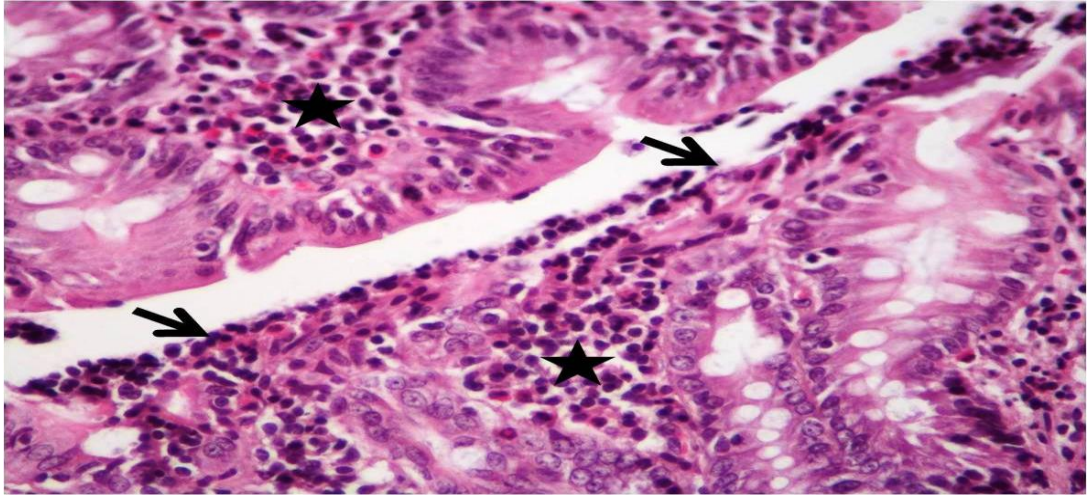
CCL4 grubuna ait hematoksilen-eosin ile boyanan kalın bağırsak kesitlerinde bazı alanlarda total mukoza dejenerasyon alanları görüldü (Şekil 7.72). Dejenerasyon alanlarında yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bazı alanlarda kalın bağırsak yüzey bez epitelinde metaplazi, dejenerasyon, epitel hücrelerinde yassılaşıma ve goblet hücrelerinde azalma dikkati gözlemlendi (Şekil 7.73). Ayrıca lamina propria bağ dokusunda kapillar konjesyon, artmış eozinofil infiltrasyonu, yer yer intraepiteliyal lenfosit infiltrasyonu ve epitel yüzeyinde lenfosit kümelenmesi dikkati çekti. Lieberkühn kriptalarında kollaps, Goblet hücre azalması ve lamina propriada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 7.74).



Şekil 7.72. CCI4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli hasarı (ok), Lieberkühn kriptası dejenerasyonu (yıldız). H-E, x10.

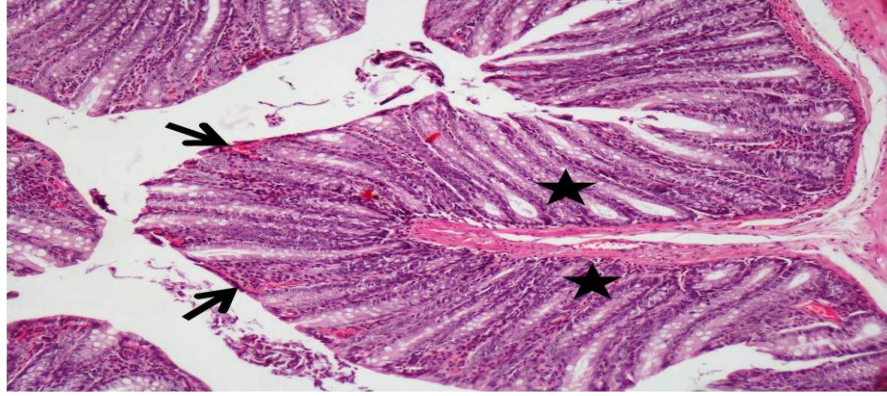


Şekil 7.73. CCL4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli metaplazisi ve goblet hücresi kaybı (ok), Liberkühn kriptalarında kollaps ve Goblet hücresi kaybı, lamina propriada inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız). H-E, x20.

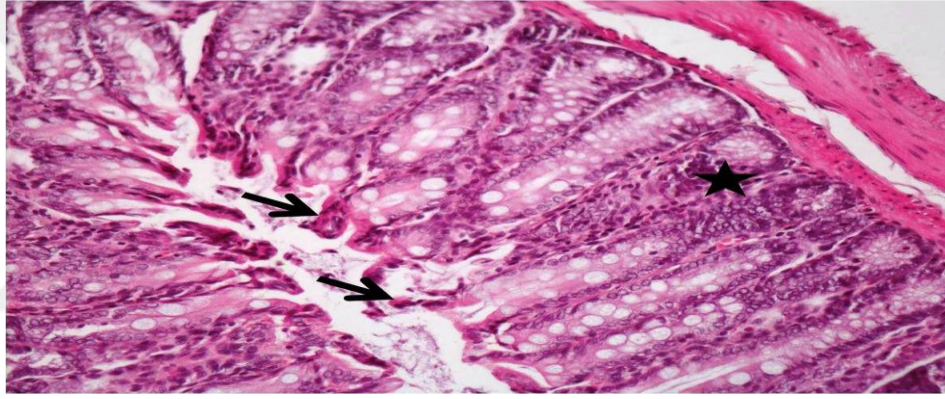


Şekil 7.74. CCL4 grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epiteli metaplazisi ve dejenerasyonu (ok), lamina propriada eozinofil infiltrasyonu (yıldız). H-E, x40.

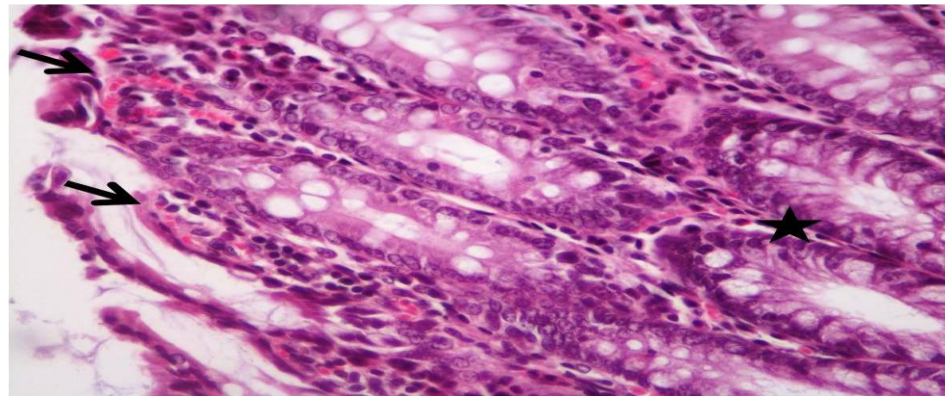
CCL4+Krosin grubundaki hematoksilin-eosin ile boyanan kalın bağırsak kesitlerinde CCL4 grubunda izlenen dejenerasyon ve hasar bulgularının büyük oranda gerilediği ve bir kısmının görülmediği saptandı. Kesitlerde kalın bağırsak yüzey epitel hücrelerinde yer yer dejenerasyon izlendi ancak bu dejenerasyonun mukozanın yüzeyi ile sınırlı olduğu dikkati çekti. Mukoza yüzeyine yakın kapillarlarda konjesyon mevcuttur. Lamina propria bağ dokusu içinde, bağırsak bezleri çevresinde fokal alanlar şeklinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi. Kalın bağırsak bez yapıları normal histolojik yapıda değerlendirildi (Şekil 7.75- Şekil 7.77).



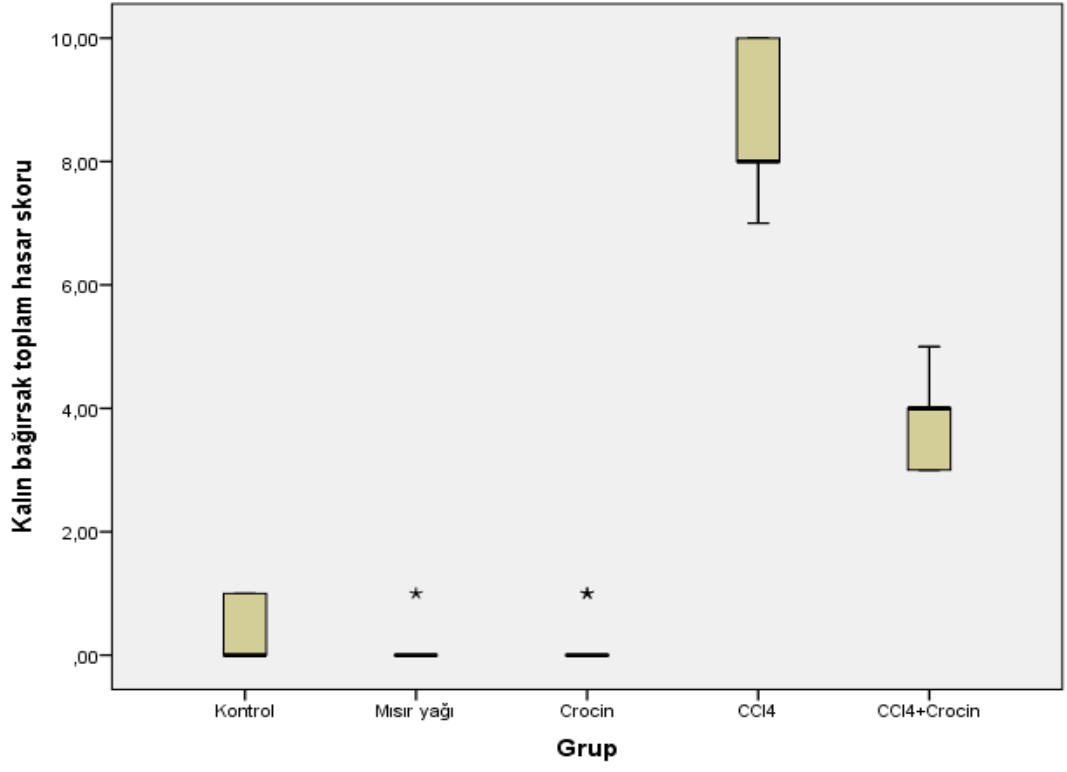
Şekil 7.75. CCl₄+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde lokal metaplazi alanları (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x10.



Şekil 7.76. CCl₄+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde dejenerasyon (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x20.



Şekil 7.77. CCl₄+Krosin grubu. Kalın bağırsak. Yüzey epitelinde dejenerasyon ve yüzeyel kapillarda konjesyon (ok), Lieberkühn kriptası (yıldız). H-E, x40.



Şekil 7.78. Kalın bağırsak toplam hasar skoru.

BÖLÜM 8

SONUÇ

CCl₄; deneysel karaciğer harabiyeti oluşturabilen bir hepatotoksikan olarak nükleik asitler, proteinler, lipidler ve karbonhidratları hasara uğratabilme kapasitesindedir [139]. Karaciğer CCl₄ uygulamasından en fazla etkilenen organ olup bu maddenin meydana getirdiği harabiyet derecesine göre bazı karaciğer enzimlerinin plazmadaki düzeyi yükselir [140-146]. Serum veya plazmadaki amino transferazlar gibi enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler, karaciğer hücre hasarının göstergesi olarak kabul edilir, ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki artış mevcut karaciğer hasarını yansıtmaktadır [14,147].

CCl₄'ün dokularda hasarı, CCl₄'ün sitokrom P450 enzimi aracılığıyla CCl₃· ve CCl₃OO· serbest radikallerine dönüşmesi sonrası başlayan lipid peroksidasyonu ile gerçekleşmektedir [148].

Son yirmibeş yıldır CCl₄ ile ratlarda yapılan toksisite modellerinde CCl₄'ün serbest radikal metabolitleri ile karaciğer dokusunda yağ dejenerasyonu ve nekrosise sebep olmuştur [149]. Doi vd. 2 ml/kg CCl₄'ün 2 ml zeytinyağı içindeki süspansiyonunu haftada iki kez ratlara uygulamışlar ve meydana gelen radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olarak karbonhidrat metabolizması bozulması ile sirozun oluşumunda önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir [35]. Harvey ve Klaassen, CCl₄'ün lipid peroksidasyonuna ve bunun sonucu olarak karaciğer harabiyetine yol açtığını göstermişlerdir [150]. Oksidatif stres ile ortaya çıkan reaktif oksijen radikallerinin meydana getirdiği lipid peroksidasyonu; kanser, karaciğer hastalıkları ve toksik hücre hasarlarında meydana gelen patogeneze sorumludur [151,152].

CCl₄, karaciğer hasar modelini hazırlamak için hepatotoksin olarak yaygın şekilde kullanılan bir kimyasaldır. Karaciğer koruma özelliği olan bitki bazlı ilaçlar

araştırılarak CCl4 gibi zararlı maddelerin oluşturduğu hasarın en aza indirgenmesi amaçlanmaktadır [153].

CCl4 ile oluşturulan karaciğer hasarına serbest radikal üretiminin yol açtığı iyi bilinmekle birlikte krosin, çalışmamızda antioksidan aktivitesinden dolayı potansiyel bir koruyucu madde olarak seçilmiştir [154,155]. CCl4 ile meydana getirilen karaciğer hasarında, serbest radikallerin (CCl3·) oluşumu gerçekleşirken, hücresel ve organel membranlarda lipid peroksidasyonundan söz edilmektedir [156]. CCl4'ün aktif bir metaboliti olan serbest radikaller (CCl3·), esas olarak CCl4 ile indüklenen hepatik hasar ile ilişkilidir ve oksijen ile tepkimeye girerek lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu başlatan CCl3OO· radikalini oluşturabilir ve çoklu doymamış yağ asidi, özellikle fosfolipidlerle ilişkili olanlara saldırarak yok etmektedir [157,158]. Bu durum, hücre bütünlüğünün bozulmasına ve daha sonra serum ALT ve AST düzeylerinin belirgin olarak yükselmesine yol açar. Çalışmamızda karaciğer harabiyeti oluşturmak için CCl4 uyguladığımız sıçanların karaciğer hücrelerinde harabiyete bağlı olarak plazma ALT ve AST enzim seviyeleri yüksek gözlenmiş ve bu sonuç, diğer araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir [145,159].

Deneysel çalışmalarda, CCl4'ün birçok organda doku hasarına yol açtığı gösterilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, CCl4 indüklemesiyle oluşan serbest radikallerin hücre membranlarındaki lipidlerle etkileşimi ve onları okside etmesi (lipid peroksidasyonu), karaciğer [160] ve böbreğin de [161] dahil olduğu birçok dokuda hücre proseslerini bozdukları ve lipid peroksidasyonuna sebep olarak MDA seviyelerini yükselttikleri ve hücre hasarlarına sebep oldukları ortaya konmasına rağmen bağırsak dokusu üzerindeki etkilerine yönelik bilgi neredeyse yok denecek kadar azdır. Bu yüzden çalışmamızda CCl4 indüklemesiyle karaciğer dokusunun yanı sıra bağırsak dokusunda hangi düzeyde bir hasar oluştuğunu ve bu hasar üzerine krosinin koruyucu etkisi incelenmiştir. CCl4, karaciğer dokusunda; koagülatif nekroz, ağır fibroz, mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, yağ dejenerasyonu ve dejeneratif nodüller gibi klasik sirozu gösteren bozukluklara neden olmuştur [162].

CCl₄'ün dokularda hasar oluşturma mekanizması, CCl₄'ün sitokrom P450 oksijenaz enzim sistemi tarafından CCl₃· radikali oluşmasıyla başlar. Oluşan serbest radikalin oksijen ile hızlı bir şekilde reaksiyona girmesiyle reaktivitesi yüksek bir ürün olan CCl₃OO· meydana gelir [163]. Oluşan serbest radikallerin protein, lipidlere bağlanması ile doku lipid peroksidasyonu, inflamasyon, hepato-toksikasyon ve MDA birikimi başlar [27]. Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikallerin meydana getirdiği lipid peroksidasyonu; kanser, karaciğer hastalıkları ve toksik hücre hasarlarındaki patogeneizde etkili olduğu bilinmektedir [151]. CCl₄ uygulamasından sonra transaminazlar dolaşıma geçer ve serumda artış meydana gelmesiyle hepatik harabiyeti enzimatik olarak yansıtır. Bu nedenle çalışmamızda hepatik harabiyetin ortadan kaldırılması için hepatoprotektif özelliği olan krosin kullanıldı. AST, ALT ve ALP seviyelerindeki yükselme karaciğer hasarının belirgin indikatörleridir [164].

Çalışmamızda, CCl₄ uygulamasından sonra serum AST, ALT ve ALP değerlerinin istatistiki olarak anlamlı bir artışa ($p < 0.05$) sebep olduğu görülmüştür. Sebep olarak, karaciğer hücre membranında, oksidatif stres ile meydana gelen bozukluktan dolayı ALT, AST ve ALP gibi enzimlerin dolaşıma geçmesi ve serumdaki seviyelerinin yükselmesi düşünülmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerlik gösteren diğer çalışmalarda da CCl₄'ün karaciğer harabiyeti oluşturmamasından sonra serumda bu enzimlerin seviyelerinin yükseldiği görülmüştür [165,166]. CCl₄ veya diğer hepatotoksikanlar tarafından meydana getirilen karaciğer hasarını azaltmak veya normal değerlere dönmesini sağlamak amacıyla hepatoprotektif ilaçlar kullanılmaktadır [167].

Çalışmamızda krosin uygulamasından sonra serum AST, ALT ve ALP seviyelerinin CCl₄'e bağlı yükselmelerinin iyileşmesi gözlenmiştir. ALT, AST ve ALP seviyelerindeki azalma krosinin antioksidan ve serbest radikal yok edici özelliğinden kaynaklanan karaciğer hücre membran bütünlüğünü düzeltmesinin bir sonucudur. Bu durum krosinin hepatoprotektif etkisini açıkça ortaya koymaktadır.

Çalışmamızdaki veriler, önceki çalışmalarla tutarlılık gösterip bu çalışmalarda araştırmacılar hayvan modellerinde morfin [168] amiodarone [169] patulin [170] ve

acetaminophen [171] ile hepatotoksisite oluşturarak yükselen AST, ALT ve ALP seviyelerinin krosin tarafından önemli bir şekilde düşürüldüğünü göstermişlerdir.

Serbest radikallerin indüklediği hasarı nötralize etmek ve korumak amacıyla etkili bir savunma sistemi içeren vücutta iç kaynaklı antioksidan enzimler bulunmaktadır [172].

CCl₄ tarafından oluşturulan doku toksisiteleri, rosemary [173] ve cnestis ferruginea ekstresi [174] gibi diğer doğal bitki ürünleri tarafından ortadan kaldırılmıştır. Bunların etkilerinde olduğu gibi krosin de CCl₄ tarafından üretimi artan MDA düzeylerini dikkat çekici bir şekilde düşürmüştür. Krosinin bu etkisi kuvvetli antioksidan ve radikal yok edici etkisinden kaynaklanmaktadır [106]. Paolini ve arkadaşları beta karoten takviyesinin CYP450'nin belirli izoformlarının (CYP1A1, CYP3A1, CYP2E1, CYP2B1) aktivitesini uyardığını belirtmişlerdir [175].

Ksenobiyotikleri metabolize eden enzimleri uyarıcı etkiye sahip diğer karotenoidler canthaxanthin, astaxanthin ve beta apo-8'-carotenal'dir. Diğer yandan likopen CYP2E1 üzerine invitro olarak inhibe edici etki gösterirki bu enzim belirli ksenobiyotiklerin karsinojenlere dönüştürülmesinden sorumludur [176]. Bu çalışmada kullandığımız krosinin de likopen gibi bir karotenoid olduğu ve CCl₄'ün metabolizmasından sorumlu olan CYP2E1 üzerinde inhibe edici etkiye sahip olabileceğini düşünmekteyiz. Bu yüzden krosinin karaciğer ve bağırsak dokularını koruyucu etkisinin diğer bir mekanizması, CYP2E1 ve diğer CCl₄'ün biyoaktivasyonunu içeren izoenzim aktivitelerini inhibe etmesi olarak da açıklanabilir [176]. Böylece CYP2E1 enziminin inhibe olması CCl₄'ün karaciğer ve bağırsak dokularında reaktif ürünler olan CCl₃· ve CCl₃OO·' e dönüşmesini engelleyerek oksidatif hasarlanmaları engellemiş olabilir. İlave olarak, krosin takviyesinden sonra doku hasarındaki azalmasının sebeplerinden birisinin de krosinin CYP2E1 ve diğer izoenzimlerinin aktivitesini inhibe etmesi sonucu CCl₄'ün CCl₃· ve CCl₃OO·'e dönüşmesini engellediğinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

SOD ve CAT; oksidatif stresle ilişkili lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksidin vücuda zararlı etkilerine karşı önemli role sahiptir [177]. Nonenzimatik antioksidan olarak, GSH vücudun antioksidan savunma mekanizmasını dengelemede önemli rol üstlenmektedir [178]. Çalışmamızda karaciğer dokusunda bulunan antioksidan

enzimlerin (SOD ve CAT) aktiviteleri hesaplamaları ile krosinin antioksidan aktivitesini belirledik. CCl₄ uygulaması sonucu oluşan karaciğer hasarının yıkılmayıcı proseslerini lipid peroksidasyonu ortaya koymaktadır. Ratların karaciğerinde CCl₄ uygulaması ile ortaya çıkan oksidatif stres ile meydana gelen karaciğer hasarı sonucu GSH ve TAS içeriği azalırken SOD ve CAT aktivitesi ile MDA (lipid peroksidasyonu son ürünlerinden biri) ve TOS seviyelerinde yükselme olduğunu belirledik. Karaciğer dokusundaki SOD ve CAT aktiviteleri ile MDA ve TOS seviyelerindeki yükselme; artmış lipid peroksidasyonunun öncülük ettiği doku hasarını ve artmış serbest radikal oluşumunu engellemede görevli antioksidan savunma mekanizmasının zayıfladığını göstermektedir. Bu sonuçlar Gangarapu ve ark.[170], Öztürk ve ark.[179] ve Ranjbar ve ark. [180] sonuçları ile uyumlu olup CCl₄ uygulaması karaciğer dokusunda, MDA seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerinde dikkat çeken bir yükselme ve GSH içeriklerinde azalmayla sonuçlanmıştır. CCl₄ ile oluşturulan karaciğer toksisitesinin aracılık ettiği serbest radikal ve oksidatif stresin oluşumu, antioksidan enzim aktivitesinin ve glutatyon içeriğinin yok edilmesi veya azalması, karaciğer dokusunda MDA artışı gibi etkiler, yükselen karaciğer enzimlerinin seviyelerini ve karaciğerde meydana gelen hasarı açıklamaktadır [181,182].

Krosinin antioksidan aktivitesini ortaya koymak için ince ve kalın bağırsak dokusundan SOD, CAT enzim aktiviteleri ve GSH ve TAS seviyeleri hesaplandı. CCl₄ uygulaması ile oluşan doku hasarının lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. CCl₄ uygulamasından sonra ince ve kalın bağırsak dokusunda SOD ve CAT aktiviteleri ile MDA ve TOS seviyeleri dikkat çekici şekilde artış gösterirken, GSH ve TAS içerikleri düşmüştür. İnce ve kalın bağırsak dokusundaki MDA ve TOS seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerindeki artış lipid peroksidasyonundaki artış ve serbest radikallerin artışına bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmasının azalmasına bağlı olarak bağırsak dokularında hasara sebep olmuştur. Bu sonuçlarımız Gangarapu ve ark.; Öztürk ve ark. ve Ranjbar ve ark. yaptığı çalışmalar ile benzerlik gösterip yapılan bu çalışmalarda; CCl₄ uygulaması karaciğer MDA seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerinde artışa GSH seviyeleri ise düşüşe sebep olmuştur [170,179,180]. Normalde oksidatif stres antioksidan savunma sistemi tarafından düzenlenir [183]. Daha önceden yapılan [184] ve bizim yaptığımız çalışmalarda krosin, antioksidan düzenleyici mekanizmayı izleyerek koruyucu etkisini ortaya çıkarabilir. GSH

nonenzimatik antioksidan sistemin önemli kısımlarından biri olup vücudun antioksidan savunmasında aktif rol üstlenmektedir. GSH antioksidan özelliği ile serbest radikalleri nötralize edebilir, sülfidril gruplarını stabilize edebilir ve hidrojen peroksidi indirgeyebilir. Hosseinzadeh ve arkadaşları [105] ratların böbreklerinde iskemi-reperfüzyon indüklemesiyle meydana gelen oksidatif hasarın safran ekstresi ve krosin ile önemli bir şekilde inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar safran ekstresi ve krosinin antioksidan özelliklerinden dolayı serbest radikallerin indüklemesiyle oluşan lipid peroksidasyonu ve MDA seviyelerini düşürdüklerini göstermişlerdir. Bu çalışmalar bizim sonuçlarımızla uyumluluk göstererek CCl₄'e maruz kalmış ratlarda yükselen SOD ve CAT'ın dahil olduğu enzimatik antioksidan aktivitenin ve nonenzimatik antioksidan olan azalmış GSH ve TAS seviyeleri krosin tedavisi sonrası normal seviyeye çekilmiştir. Enzimatik antioksidanların ve MDA seviyelerindeki azalma ile GSH seviyesindeki yükselmenin eş zamanlı olması antioksidan düzenleme mekanizmalarının işbirliğini ortaya koyar. Ghadrdoost ve ark. [185] safran ve krosinin hipokampüste oksidatif markerleri düzenlediklerini ortaya koymuşlardır. Bu araştırmalar bizim sonuçlarımızla tutarlılık göstererek çalışmamızda CCl₄ uygulanan ratlardaki SOD ve CAT aktivitelerinde ciddi artışlar meydana gelirken krosin uygulaması enzim aktivitelerinde düşmeye neden olmuştur. Daha önceki çalışmalarda krosinin karaciğer GSH içeriğinde artış görülürken, yükselen MDA seviyelerini ise önemli bir şekilde düşürdüğü ratlarda cisplatin [186] cyclophosphamide [187] ve diazinon [188] toksisiteleriyle oluşturulmuş hayvan modellerinde gösterilmiştir.

CCl₄ toksikasyonundan sonra artmış olan SOD ve CAT aktiviteleri ve azalmış olan GSH ve TAS seviyeleri krosin tedavisinden sonra normal seviyelere geri dönmüştür. Aynı zamanda enzimatik antioksidanlar ile MDA seviyelerindeki düşüş GSH seviyelerindeki artış antioksidan düzenleyici mekanizmalar arasındaki ilişkiyi ortaya koyar.

Çalışmamızla uyumlu olarak yapılan araştırmalarda, CCl₄, ratlarda karaciğer hasarına neden olarak önceki çalışmalarla uyumlu sonuçlar gösterdi ve karaciğer ağırlığında artışı sağladı; karaciğer enzimleri ile karaciğer hücrelerindeki yapısal ve fonksiyonel

bozuklukların bir göstergesi olan karaciğer enzimleri ve karaciğer dokusunun histolojik bozulmasını içeren toplam bilirubini artırdı [27,182].

Çalışmamızda biyokimyasal ve histolojik sonuçlar birbiriyle uyumludur. Çalışmamızda karaciğer dokusunda fokal nekroz, apoptoz, inflamasyon, köprüleşme nekrozu ve fibrozisin dahil olduğu bozukluklar incelendi. CCl4 uygulanan grubun karaciğer parankiminde yaygın köprüleşme nekrozu ve yaygın iflamasyon alanı gözlemlendi. Kontrol, krosin ve mısır yağı uygulanan gruplarda karaciğerin normal görünümde olduğu gözlemlendi. Parankimal alanlarda yaygın vakoalizasyon ve apoptotik cisimcikler saptandığı gibi santral ven ve partal alanlar çevresinde farklı derecelerde fibrozis saptandı.

CCl4 uygulaması sonucu karaciğer lipid peroksit düzeylerinde gözlenen yükselme, CCl4'ün karaciğerde lipid peroksidasyonuna neden olduğunu doğrulayan araştırma sonuçları ile aynı doğrultuda sonuçlar elde edilmiştir [145]. Ek olarak, yine plazma lipid peroksit seviyelerindeki artış, karaciğer hasarı sonucu meydana gelen lipid peroksidasyonunun plazmaya yansıdığını gösteren diğer çalışmalarla da paralellik göstermektedir [146,142].

Çalışmamızda ince bağırsak kesitlerinde; villus küntleşmesi, epitel hasarı, villus hasarı, Liberkün kriptası hasarı ve inflamasyon ile kalın bağırsak kesitlerinde; goblet hücresi azalması-kaybı, epitel hasarı, mukozal fibrozis, Liberkün kriptası hasarı ve inflamasyon yönünden incelenmiştir. Kontrol, krosin ve mısır yağı gruplarına ait ince bağırsak kesitlerinde mukoza düzgün, ince uzun villuslar ve villusların tabanında Liberkün kriptaları içeriyordu. Ayrıca ince ve kalın bağırsak dokularında villusların yüzeyi Goblet hücreleri içeren mikrovilluslu tek katlı prizmatik epitel ile örtülü olup normal histolojik görünümde izlendi. Fakat CCl4 uygulamasıyla birlikte ince bağırsak mukozasında yaygın dejenerasyon ve bu alanlarda hemoraji, yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis izlendi. İlave olarak bazı alanlarda total villus dejenerasyonu ve Liberkün kriptası hasarı saptandı. Liberkün kriptası epitel hücrelerinde yaygın olarak piknotik-heterokromatik nükleus yapısı dikkati çekti. Çok sayıda kısa boylu, künt şekilli villuslar tespit edildi. Kalın bağırsak dokusunda yine aynı şekilde yaygın dejenerasyon alanları ve buralarda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttu.

Bazı alanlarda kalın bağırsak yüzey bez epitelinde metaplazi, epitel hücrelerinde yassılaşıma ve goblet hücrelerinde azalma dikkati gözlemlendi. Krosin tedavisinden sonra ise biyokimyasal parametrelerle uyumlu olacak şekilde belirgin düzeltilmeler saptanmıştır. Krosin uygulanan ratlarda karaciğer histolojik hasar parametrelerinde belirgin bir iyileşme olduğu görülmüştür. Akbari ve arkadaşları iskemi-reperfüzyonla meydana getirdikleri karaciğer hasarının 200 mg/kg dozda 7 gün boyunca krosin uygulayarak belirgin şekilde düzeldiğini göstermişlerdir [189]. Son yapılan çalışmalarda safran ve onun aktif içeriklerinin karaciğerin de dahil olduğu çeşitli dokularda birçok toksik maddelere karşı koruyucu etki göstermektedir [190]. Sun ve arkadaşları [186] cisplatinin sebep olduğu karaciğer hasarı üzerine krosinin etkisini araştırdılar. Cisplatinin neden olduğu hepatik fokal nekrozun krosin ile azaldığını tespit ettiler.

Literatür ile uyumlu bir şekilde, bizde biyokimyasal ve histopatolojik metotları kullanarak krosin tedavisi ile CCl₄ tarafından karaciğer, ince bağırsak ve kalın bağırsakta oluşan hasarın giderildiği gösterdik. Biz CCl₄ tarafından karaciğer, ince bağırsak kalın bağırsakta oluşturulan doku hasarlarını krosinin engellediğini ortaya koyduk ve krosinin hepatoprotektif etkisinin onun sahip olduğu antiinflamatuvar ve antioksidan etkiden olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak biz krosinin oksidatif stresi engelleyerek CCl₄ tarafından indüklenen karaciğer, ince bağırsak, kalın bağırsak hasarı üzerine koruyucu etkiye sahip olduğunu ortaya koyduk. Krosin serbest oksijen radikallerini yok ederek antioksidan etki gösterir. Bu antioksidan etki sonucunda MDA ve TOS düzeyleri ile AST, ALT, ALP, SOD ve CAT düzeyleri azalırken, GSH ve TAS, düzeyleri krosin tedavisinden sonra artmıştır. CCl₄ tarafından bağırsak dokusunda oluşturulan hasarın krosin tarafından tedavi edici etkisi ilk defa ortaya konmuştur. Krosinin antioksidan özelliğinin, CYP450 enzim sistemindeki CCl₄ metabolizmasında görevli izoenzimlerin aktivitesini inhibe ederek ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Efesun, Ş. A. "Beta talasemide oksidatif stres", Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı**, Adana, (2005).
2. Robbins, S. L., Cotran R. S. and Kumar V. , "Basic Pathology 6th Ed", **WB Saunders Company**, Philadelphia, 516-519 (2004).
3. Shimizu, I., "Impact of oestrogens on the progression of liver disease", **Liver Int**, 23(1):63-69 (2003).
4. Wang H., Wei W. and Wang N. P. , "Melatonin ameliorates carbontetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stres". **Life Sci**, 77, 1902-1915 (2005).
5. Sanlı, Y., "Veteriner Farmakoloji", **Ankara Üniv Vet Fak Yay**, No, 412, Ankara (1988).
6. Üstündağ, B., Bahçecioğlu, İ. H., Şahin, K., Gülcü, F., Düzgün, S., Özercan, İ.H. ve Gürsu, M.F., " Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri", **FÜ Sağ Bil Derg**, 19, 263-271 (2005).
7. Yüce, A. ve Aksakal, M., "Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi". **FÜ Sağ Bil Derg**, 21, 253-256 (2007).
8. National Academies Press. "Carbon tetrachloride toxicity". **Environmental Medicine**; 8: 249-266 (1995).
9. Thrall, K. D., Vucelick, M. E. and Gies, R. A., "Comparative metabolism of carbon tetrachloride in rats, mice, and hamsters using gas uptake and PBPK modeling". **J Toxicol Environ Health A**; 60: 531-48 (2000).
10. Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR). "Toxicological profile for carbon tetrachloride". **Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**; (2005).
11. Mayer, B., Hemmens, B. "Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells". **TIBS**, 22:477-481(1997).
12. Basu, S., Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: "Eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients". **Toxicology**; 00: 1-15 (2003).

13. Güneş, H. V., *Moleküler Hücre Biyolojisi, Kaan Kitabevi*, 1. Baskı, 40-41, (2003).
14. Sheweita, S. A., Abd El-Gabar, M. and Bastaway, M., "Carbon Tetrachloride Changes the Activity of Cytochrome p450 System in the Liver of Male Rats: Role of Antioxidants". *Toxicology*, 169: 83-92, (2001).
15. Pope, A. M., Rall, D. P., "Enviromental Medicine: Integrating a Missing Element in to Medical Education", Case Study 8: Carbon Tetrachloride, *U.S. National Academy Press*, pp. 249-266, (1995).
16. Mansour, M. A., "Protective Effects of Thymoquinone and Desferrioxamine Against Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride in Mice". *Life Sciences*, Vol. 66, No.26, 2583-2591, (2000).
17. Kuş, I., Çolakoğlu, N., Pekmez, H., Seçkin, D., Öğütürk, M. ve Sarsılmaz, M., "Protective effects of caffcic acid phenethyl ester (CAPE) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats", *Acta Histochemica* 106; 289-297, (2004).
18. Yamomoto, H., Yamomoto, K., Kume, M., Kimoto, S., Toyokuni, S., Uchida, K. and Fukomoto, M. "Heat Shock Preconditioning Reduces Oxidative Protein Denaturation and Ameliorates Liver İnjury by Carbon Tetrachloride in Rats". *Research Experimental Medicine*, 199: 309-318, (2000).
19. Ramkumar, K. M., Rajesh, R., And, Anuradha C. V., "Food Restriction Attenuates Blood Lipid Peroxidation in Carbon Tetrachloride-Intoxicated Rats". *Nutrition*, 19:358-362, (2003).
20. Muriel, P., Alba, N., Shibayama, M. and Tsutsumi, V. K., "Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*; 130: 219-226 (2001).
21. Arosio, B., Gagliano, N., Fusaro, L. M. P., Parmeggiani, L., Tagliabue, J., Galetti, P., Castri, D. D., Moscheni, C. and Annoni ,G., "Aloe-Emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by Carbon tetrachloride". *Pharmacology and Toxicology*; 87: 229-233 (2000).
22. Murali, B., Korrapati, M.C., Warbritton, A. and Latendresse, J.R., "Mehendale Tolerance of aged fischer 344 rats against chlordecone-amplified carbon tetrachloride toxicity", *Mechanisms of Ageing and Development* 125 : 421-435, (2004).
23. Stickel, F., Schuppan, D., Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Digestive and Liver Disease* 39,293–304, (2007).
24. Ghosh, N., Ghosh, R., Mandal, V. and Mandal, S.C., "Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases". *Pharmaceutical Biology*, 49,970–988 , (2011).

25. Foulis, P. R., Sandford B. H. and Gottfried, M., "Drug induced morphologic changes in the liver". *Ann Clin Lab Sci*, 18:215-228 (1988).
26. Nadkarni, G. D. and Souza, N. B., "Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats". *Biochem Med and Met Biol*, 40:42-45 (1988).
27. Recknagel, R. O., Glende, E. A., Dolak, J. A. and Waller, R. L., "Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity". *Pharma Ther*, 43:139-154 (1989).
28. Arii, S., Monden, K., Hai, S., Sasaoki, T., Adachi, Y., Funaki, N., Higashitsuji, H. and Tobr, T., "Depressed function of kupffer cells in rats with CCl₄ induced liver cirrhosis". *Research in Experiment Med*, 190:173-182 (1990).
29. Dashti, H. M., Al Sayer, H., Behbehani, A., Madda, J. and Christenson, J. T., "Liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride and the effect of superoxide dismutase and xantine oxidase inhibitor treatment". *J R Coll Surg Edinb*, 37:23-28 (1992).
30. Poli, G., Cottalasso, D., Pronzato, M. A., Chiarpotto, E. and Marinari, U. M., "Lipid peroxidation and covalent binding in early functional impairment of liver Golgi apparatus by carbon tetrachloride". *Cell Biochem Func*, , 8(1):1-10 (1990).
31. Akkuş, I., "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", 1.baskı, Konya, *Mimoz Yayınları*:13-19 (1995).
32. Poli, G., "Liver damage due to free radicals", *Britsch Medical Bulletin* 49 (3), 604, (1993).
33. Fujiwara, K., Oka, Y., Ogata, I., Ohta, Y., Takatsuki, K., Oka, H., Sato, Y. and Masaki, N. "Exchange blood transfusion for acute hepatic failure. Its limited availability depending on the type of injury in rats". *Artif Organs*, , 12:227-23 (1988).
34. Shimiziu, I., "Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection". *Curr Drug Targets Infect Disord*, 1(2):227-240 (2001).
35. Doi, K., Kurabe, S., Shimazu, N. and Inagak, M.: "Systemic histopathology of rats with CCl₄-induced hepatic cirrhosis". *Laboratory Animals*, 25: 21-25, (1991).
36. Ariosto, F., Riggio, O., Cantafora, A., Colucci, S., Gaudoi, E., Mechelli, C., Merli, S., Seri, S. and Capocacia, L., "Carbon tetrachloride - induced experimental cirrhosis in the rat: A reappraisal of the model". *Eur. Surg. Res.*, 21: 280-286, (1989).

37. Fischer, A., Poulsen, H. E., Hansen, B. A., Hage, E., and Keiding, S.: "CCl4 cirrhosis in rats: irreversible histological changes and differentiated functional impairment". *Journal of Hepatology*, 12: 110-117, (1991).
38. Masaki, N., Yamada, S., Orgata, I., Ohta, Y., and Fujiwara, K., "Enhancement of Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury by Glucagon and Insulin Treatment". *Res. Exp. Med.*, 188: 27-33, (1988).
39. Ozeki, T., Funakoshi, K. and Iwaki, K., "Rapid Induction of Cirrhosis by administration of Carbon-Tetrachloride Plus Phospholipase D.", *British Journal of Experimental Pathology*, 66: 385-390, (1985).
40. Vural, N., "Toksikoloji". *Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yay.*, No: 56, Ankara, (1984).
41. Guyton, A. C., "Textbook of Medical Physiology". *Eighth Edit., W.B. Saunders Company*, Philadelphia, (1991).
42. Venturini, E., Borghi, E., Maurini, V., Vecce, R. and Carnicelli, A., "Prolongation of the Q-T Interval and Hyperkinetic Ventricular Arrhythmias Probably Induced by Terfenadine Use in Liver Cirrhosis Patients". *Recenti Prog. Med.*, 83(1): 21-22, (1992).
43. Staroverov, V. N. and Davidson, E. R., "Distribution of effectively unpaired electrons". *Chemical Physics Letters*; 330: 161-168 (2000).
44. Diplock, A., "Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients". *ILSI Europe concise monograph series*, 59 p., Belgium, (1998).
45. Nawar, W. W., "Lipids, in food chemistry", O.R. Fennema (Ed), *Marcel Dekker*, New York, pp: 225-319. (1996).
46. Kaur, C. and Kapoor, H.C.. "Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health". *Int. J. Food Sci. Tech.* 36; 703-725 (2001).
47. Tamer, L., Polat, G., Eskandarı, G., Ercan, B. ve Atik, U. "Serbest radikaller". *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1: 52-58 (2000).
48. Gürdöl, F. ve Ademoğlu, E., "Biyokimya", 1.Baskı, *İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri*: 829-836 (2010).
49. Sabbağ, Ç., Sürücüoğlu, M. S., "Likopen: insan sağlığında vazgeçilmez bir bileşen". *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 6(3): 27-41 (2011).
50. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M., "Free radicals in biology and medicine", 4 th ed., *Oxford University Press*, New York, USA, 534-537 (2007).
51. FAO/WHO/UNU (Food And Agriculture Organization/World Health Organization/United Nations University). "Energy and protein requirements.

- Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation". *Technical Report Series* No. 724. Geneva: WHO (1985).
52. Durnin, J. V., "Energy requirements: General principles". *Eur J Clin Nutr* 50: S2–S10 (1996).
 53. Kehrer, J. P., "Free Radicals As Mediators Of Tissue Injury And Disease". *Crit Rev Toxicol*, 23 (1):21-48 (1993).
 54. McCord, J. M., "Human Disease Free Radicals And The Oxidant/Antioxidant Balance", *Clin Biochem*, 26(5), 351-357 (1993).
 55. Staroverov, V. N. and Davidson, E. R., "Distribution of Effectively Unpaired Electrons". *Chem Phys Lett*; 330: 161-168 (2000).
 56. Dalle-Donne, R., Rossi, R. and Colombo, D., "Giustarini and Milzani, A.. Biomarkers of oxidative damage in human disease", *Clin. Chem.* 52; 601–623 (2006).
 57. Jenner, P., "Oxidative stress in Parkinson's disease", *Ann. Neurol.* 53,26–36 (2003).
 58. Tietz, N. W., "Clinical Guide to Laboratory Tests". *W.B. Saunders Company*. Philadelphia, Pennsylvania (1995).
 59. Keha, E., Küfrevioğlu, Ö. İ., "Biyokimya", *Aktif Yayınevi*, Erzurum (2000).
 60. Nordberg, J. and Arner, E.S., "Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system", *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 1287– 1312 (2001).
 61. Ak, M., "Curcumin'in antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum (2006).
 62. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. and Cross, C.E., "Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now", *J. Lab. Clin. Med.*, 119(6), 598-619.,(1992).
 63. McCord, J.M., "The evolution of free radicals and oxidative stres", *Am J Med.*, 108, 652–659 (2000).
 64. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., "Free radicals in biology and medicine, Clarendon Press Oxford". *Antioxidants: a personal view, Nutr. Rev.*, 52, 253-265 (1989).
 65. Sarı, S., "Farelerde ehrlich asit solid tümör modelinde thymus spyleus ve taurinin, böbrek mda, glutatyon, aopp düzeylerine ve sod aktivitesine etkileri", *Yüksek Lisans Tezi* (2008).

66. Fridovich, I., "Superoxide dismutases", *Annual Review of Biochemistry*, 44, 147-159 (1975).
67. Mates, J.M. and Sanchez-Jimenez, F., "Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes", *Front Bioscience*, 4, 339-345 (1999).
68. Akyüz, E., "*Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri", Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon (2007).
69. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., "Free radicals in biology and medicine", *Clarendon press*, Oxford, UK, 238-240 (1989)
70. Baykal, Y. ve Kocabalkan, F., "Serbest radikalleri ve hücre hasarı". *Sendrom*. 9, 31- 36 (2000).
71. Diel Maestro RF, "An Approach to Free Radicals in Medicine and Biology". *Acta Physiol. Scand.*, 492,153, (1980).
72. Goldstein S., Czapski G., Cohen H. and Meyerstein D. : "Free redicals induced peptite damage in the presence of transition metal ions". *Free Radical Biology and Medicine*, 17 (1): 11 (1994).
73. Aruoma, O. I., "Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75 (2): 199-212 (1998).
74. Lavanya, G., Sivajyothi, R., Manjunath, M. and Parthasarathy, P. R. , "Fate of biomolecules during carbon tetrachloride induced oxidative stress and protective nature of *Ammoniac baccifera* Linn".: *A natural antioxidant, International Journal of Green Pharmacy*, 3,300-305 p (2009).
75. Jimeñez-Escrig, A., Dragsted, L. O., Daneshvar, B., Pulido, R. and Saura-Calixto, F., "In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5540-5545 p, (2003).
76. Kurt, H., Başaran, A. ve Aral, E., "Sıçanlarda karbon tetraklorit' in oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi", *Türkiye Klinikleri Journal of Medical science*, 25, 167-173 p, (2005).
77. Mıccadei, S., Venere D. D., Cardinali, A., Romano, F., Durazzo, A., Foddai, M.S., Fraioli, R., Mobarhan S. and Maiani, G., "Antioxidative And Apoptotic Properties Of Polyphenolic Extracts From Edible Part Of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) on Cultured Rat Hepatocytes And On Human Hepatoma Cells", *Nutrition and Cancer*, 60, 2, 276-283 p (2008).

78. Pabo'n, A., Carmona, J., Burgos, L. C. and Blair, S., "Oxidative stress in patients with noncomplicated malaria", *Journal of Clinical Biochemistry*, 36, 5, 71-78 p, (2003).
79. Burton, G. W., Foster, D. O., Perly, B., Slater, T. E., Smith, I. C. and Ingold, K. U. "Biological antioxidants". *Philos Trans R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 17:565-578 (1985.).
80. Conner, E. M. and Grisham, M. B. "Inflammation, Free Radicals, and Antioxidants", *Nutrition* 12,274–277 (1996).
81. Nyska, A. and Kohen, R. "Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, And Methods For Their Quantification", *Toxicol. Pathology*, 30, 620–650 (2002).
82. Erhardt, J. G., Meisner, C., Bode, J. C. and Bode, C." Lycopene, β -carotene, and colorectal adenomas". *Am J Clin Nutr* 78(6):1219–24 (2003).
83. Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F. and Loguercio, C. "Chronic Inflammation And Oxidative Stress In Human Carcinogenesis" *Int J Cancer*; 121: 2381–6 (2007).
84. Cornelli, U., "Antioxidant use in nutraceuticals". *Clin Dermatol*, 27:175-94. (2009).
85. Halliwell, B., "Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease". *Am J Med*; 91: 14S-21s (1991).
86. Mates, J. M., Perez-Gomez C. and De Castro, I.N., "Antioxidant Enzymes And Human Diseases", *Clin. Biochem.* 32, 595–603 (1999).
87. Knight, J. A., "Free Radicals, Antioxidants, And The Immune System", *Ann. Clin. Lab. Sci.* 30, 145–158 (2000).
88. Trueba, G.P., Sanchez G. M. and Giuliani, A., "Oxygen Free Radical and Antioxidant Defense Mechanism In Cancer", *Front. Biosci.* 9, 2029–2044 (2004)
89. Elliot, J.G., "Application of antioxidant vitamins in foods and beverages". *Food Tech.* 53(2); 46-48 (1999).
90. Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., and Deemer, E. K., "Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays": *A comparative study. J. Agric. Food Chem.* 50(11); 3122-3128 (2002).
91. Akkuş, I., Kalak, S., Vural, H., Çağlayan, O., Menekşe, E., Can, G. and Durmuş, B., "Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase

- and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus". *Clin Chim Acta*. 244, 221-227 (1996).
92. Lal, A. A., Murthy, P. B., Pillai, K. S. "Screening of hepatoprotective effect of a herbal mixture against CCl₄ induced hepatotoxicity in Swiss albino mice". *Journal of Environmental Biology*, 28,201–207 (2007).
 93. İnternet: "Anonim", <http://www.karabuk-tarim.gov.tr/tarimsal/tprofil.php>, (2014).
 94. Chermahini, S. H., Abd. Majid, F. A., Sarmidi, M. R. et al. "Impact of saffron as an anti-cancer and anti-tumor herb". *Afr J Pharm Pharmacol*; 4(11): 834–840 (2010).
 95. Ri'os, J. L., Recio, M. C., Giner, R. M. et al. "An update review of saffron and its active constituents". *Phytother Res*; 10: 189–193 (1996).
 96. Husami, A. M., Ashraf, N., "Understanding Saffron biology using bioinformatics tools". In: Husaini AM (Ed) Saffron. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 4 ,31-37 (2010).
 97. Negbi, M., "Saffron cultivation: past, present and future prospects". In: Negbi, M. (ed.): *Saffron Crocus sativus L.* Pp. 19-30 (1999).
 98. Winterhalter, P. and Straubinger, M. "Saffron-renewed interest in an ancient spice". *Food Rev Int*; 16(1): 39–59 (2000).
 99. Liakopoulou-Kyriakides, M. and Kyriakidis, D. A., "Crocus sativus biological active constituents". *Studies Nat Prod Chem*; 26: 293–312 (2002).
 100. Abdullaev, F. I., "Biological effects of saffron". *Biofactors*; 4: 83–86 (1993).
 101. Peter, K. V., "Handbook of Herbs and Spices". *CRC Press Washington D. C.* pp:292–300 (2001)
 102. Papandreou, M. A., Kanakis, C. D., Polissiou, M. G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margaritis, M. and Lamari, F. N., "Inhibitory activity on amyloid-beta aggregation and antioxidant properties of Crocus sativus stigmas extract and its crocin constituents.". *J Agric Food Chem.* 54 (23): 8762–8. PMID 17090119 (2006).
 103. Ochiai, T., et al., "Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitro and in vivo.". *Biochim Biophys Acta*. PMID 17215084 (2006).
 104. Zheng, Y. Q., Liu J. X., Wang J. N. and Xu, L., "Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia.". *Brain Res*. PMID 17274961 (2006).

105. Hosseinzadeh, H., Sadeghnia, H. R., Ziaee, T., et al., "Protective effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative damage in rats". *J Pharm Pharm Sci*; 8: 387–393 (2005).
106. Assimopoulou, A. N., Sinakos, Z., and Papageorgiou, V. P., "Radical scavenging activity of crocus sativus L. extract and its bioactive constituents". *Phytother Res*; 19: 997–1000 (2005).
107. Baytop, T., "Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)", İstanbul (1999).
108. Champe, P. C. ve Harvey, R. A., "Glikozaminoglikanlar", Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, Lippincott's illustrated reviews serisinden, Biyokimya, İkinci baskı, *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul.; 147-156 (1997).
109. Meister, A., "Glutathione, ascorbate and cellular protection". *Cancer Res Suppl*; 954:1969-75 (1994).
110. Meister, A. and Larsson, A., "Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ -glutamyl cycle". In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic basis of inherited disease. 6th ed. New York: *McGraw-Hill*; 855–68 (1989).
111. Martensson, J., Lai, JCK. and Meister, A., "High affinity transport of glutathione is part of a multi-component system essential for mitochondrial function". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 7185–7189. (1990).
112. Josephy, P. D. and Mannervik, B. "Molecular toxicology" (2nd bs.). New York ; *Oxford: Oxford University Press* (2006)..
113. İnternet : Antioksidanlar. (Bitirme Ödevi). Erişim: 31 Aralık 2009. <http://www.zayim.com/?tag=ozellikleri> (2009).
114. Chavan, S., Sava, L., Saxena, V., Pillai, S., Sontakke, A. and Ingole D., "Reduced glutathione: Importance of specimen collection", *Indian Journal of Clinical Biochem*; 20(1):150-152 (2005).
115. Zimmerman, H. J., "The adverse effects of drugs and other chemicals in the liver hepatotoxicity", NewYork, *Appleton Century Crofts*; (1978).
116. Memişoğulları, R., "Diyabette Serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi". *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*. 3, 30-39 (2005).
117. Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C. and Mecocci, P., "Potential markers of oxidative stress in stroke". *Free Radic Biol Med*. 39, 841-852 (2005).
118. Larson, R. A. , "The antioxidants of higher plants". *Phytochemistry*. 27(4); 969-978 (1988).

119. Grdl, F., Ademoğlu, E., "Serbest radikaller ve oksidatif stres". Biyokimya. İstanbul: *Nobel Tıp Kitabevi* (2006).
120. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. and Rodwell, V. W., "Harper Biyokimya" (25.bs.). (N. Dikmen, T. Özgnen, Çev.). İstanbul: *Nobel Tıp Kitabevi* (2004).
121. Friedman, L. S., Martin, P. and Munoz, S. J., "Laboratory evaluation of the patient with liver disease". *In D. Zakim, TD.Boyer, Editors*. Hepatology, A Textbook of Liver Disease. Volume 1, Fourth ed. Philadelphia. Saunders; 661-708 (2003).
122. Rosalki, S. B. and McIntyre N., "Biochemical investigations in the management of liver disease". *In: J Bircher, JP Benhamou, N McIntyre, M Rizzetto, Editors*. Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Volume 1, Second ed. Oxford University Press; 503-521 (1999).
123. Pratt, D. S. and Kaplan, M. M., "Evaluation of the liver" (Laboratory tests). *In: ER: Schiff, MF. Sorrell, WC. Maddrey, Editors*. Diseases of the liver. Volume 1, Eight ed. Philadelphia, Lippincott-Raven; 205-244 (1999).
124. Aleynik, S. I., Leo, M. A., Ma, X., Aleynik, M. K. and Lieber, C. S. "Polyenylphosphatidylcholine prevents carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation while it attenuates liver fibrosis". *J Hepatol.* 27,554-561 (1997).
125. Yılmaz S. and Bahçecioğlu, İ. H., "Karbontetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri". *Turk J Vet Anim Sci.* 24,25-28 (2000).
126. Young, I. S. and Woodside, J. V. "Antioxidants in health and disease". *J Clin Pathol.* 54, 176-186 (2001).
127. İnternet: ARLAP, "Malondialdehit Analizi", web.deu.edu.tr/arl原因/arl原因/calisma/protokoller/mda.pdf (2009).
128. İnternet: Altınısık, M., "Serbest Oksijen Radikalleri Ve Antioksidanlar 2000–2001 Eğitim-Oğretim Sunuları", <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/sunularim.htm> (2009).
129. Őengül, C. A., "Obez olgularda insülin direnci, metabolik sendrom ile total oksidan ve antioksidan düzeyleri ilişkisi". Uzmanlık Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Gaziantep (2010).
130. Alan, F., and George, L. "A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components." *Analytical biochemistry* 46.2 639-653. (1972).
131. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., "Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbutiric acid reaction". *Anal Biochem*, 95: 351-358 (1979).

132. Sun, Y., Oberley L. W. and Li, Y., "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase". *Clin Che*, 34, 497-500 (1988).
133. Aebi, H., "Catalase. In Bergmeyer Hu (ed). Methods of Enzymatic Analysis". New York and London; *Academic Pres*, 673-677 (1974).
134. Erel, O., "A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status". *Clin Biochem*, 38(12), 1103-11 (2005).
135. Hu, M. L., Louie, S., Cross, C. E., Motchnik, P. and Halliwell, B. "Antioxidant protection against hydrochlorous acid in human plasma". *J Lab Clin Med*, 121, 257- 62 (1993).
136. Ishak Skoru (modifiye knodell); Ishak, K., Baptista, A., Bianchi, L., Callea, F., De Groote, J., Gudat, F., Denk, H., Desmet, V., Korb, G., MacSween, R. N., Phillips M. J., Portmann, B. G., Poulsen, H., Scheuer, P. J., Schmid, M. and Thaler, H., "Histological grading and staging of chronic hepatitis". *J Hepatol. Jun*;22(6):696-9 (1995).
137. Gul, M., Kayhan, B., Elbe, H. and Dogan, Z., "A Histological and biochemical effects of dexmedetomidine on liver during an inflammatory bowel disease". *Ultrastruct Pathol.* Feb;39(1):6-12 (2015).
138. İnternet: Int. J. Clin. Exp. Pathol., "Original Article A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models",7 (8): 4557-4576 www.ijcep.com /ISSN:1936-2625/IJCEP0001236 (2014).
139. Southorn, P.A. and Powis, G., "Chemical nature and biologic reactions". *Free radicals in medicine. Mayo Clin. Proc.*, 63: 381-389, (1988)
140. Gutteridge, J. M. C. and Halliwell, B.: "Antioxidants in Nutrition, Health and Disease". *Oxford University Press*, New York, s.1-16, 40-51, 55-59, 93-95, (1994).
141. Comporti, M., "Biology of disease. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury". *Lab. Invest.*, 53: 599-623, (1985).
142. Yamazaki, K., Ohyama, H., Kurata, K. and Wakabayashi, T., "Effects of dietary vitamin E on clinical course and plasma glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase activities in hereditary hepatitis of LEC rats". *Lab. Anim. Sci.*, 43(1): 61-67 (1993).
143. Vural, N.; "Toksikoloji". 2. Basım. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, No:73, Ankara, (1996).
144. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. and Farr, A.L., Randall R.H., "Protein measurement with the folin phenol reagent". *J. Biol Chem* 193:265 (1951).

145. Letteron, P., Labbe, G., Deqott, C. and Berson, A., "Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice". *Biochem. Pharmacol.* 39 (12): 2027-2034, (1990).
146. Uzel, N., "Karbon tetraklorür Uygulanan Sıçanlarda Lipid Peroksidlerinin Plazma Lesitin-Kolesterol Açıl Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi". *İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Doktora tezi, İstanbul, (1988).
147. Stryer, L., "Biochemistry", *W.H. Freeman and Company*, New York, (1995).
148. Aranda, M., Albendea, C. D., Lostale, F., et al. "In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinolin". *J Pineal Res*; 49: 78-85 (2010).
149. Cheeseman, K. H. and Slater, T. F., *Free Radicals in Medicine Br. Med. Bull.* 49 (3) 605-620 (1993).
150. Harvey, M. J. and Klaasen, C. D., "Interaction of Metals and carbontetrachloride on Lipid Peroxidation and Hepatotoxicity". *Toxicol. and App. Pharm.*, 71,316-322 (1983).
151. Muriel, P. and Escobar, Y., "Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride". *Journal of Applied Toxicology.*; 23: 103-8 (2003).
152. Luckey, S. W. and Peterson, D. R., "Activation of Kupffer cells during the course of carbon tetrachloride induced liver injury and fibrosis in rats". *Exp Mol Pathol*; 71: 226-240 (2001).
153. Pareek, A., Godavarthi, A., Issarani, R. and Nagori, B. P., "Antioxidant and hepato- protective activity of Fagonia schweinfurthii (Hadidi) Hadidi extract in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in HepG2 cell line and rats". *Journal of Ethnopharmacology* 150,973–981 (2013).
154. Dahiru, D., Mamman, D. N. and Wakawa, H. Y., "Ziziphus mauritiana fruit extract inhibits CCl4-induced hepatotoxicity in male rats". *Pak J Nutr*; 9: 990e993 (2010).
155. El-Beshbishy, H. A., Hassan, M. H., Aly, H. A., Doghish, A. S. and Alghaithy, A. A. "Crocic "saffron" protects against beryllium chloride toxicity in rats through diminution of oxidative stress and enhancing gene expression of antioxidant enzymes". *Ecotoxicol Environ*; 83: 47e54 (2012).
156. Wu, Y., Yang, L., Wang, F., Wu, X., Zhou, C., Shi, S., Mo, J. and Zhao, Y. "Hepatoprotective and antioxidative effects of total phenolics from Laggera pterodonta on chemical-induced injury in primary cultured neonatal rat hepatocytes". *Food and Chemical Toxicology* 45,1349–1355 (2007).

157. Jain, A., Soni, M., Deb, L., Jain, A., Rout, S. P., Gupta, V. B. and Krishna, K. L., "Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanolic and aqueous extracts of *Momordica dioica* Roxb. leaves". *Journal of Ethnopharmacology* 115,61–66 (2008).
158. Ranawat, L., Bhatt, J. and Patel, J., "Hepatoprotective activity of ethanolic extracts of bark of *Zanthoxylum armatum* DC in CCl₄ induced hepatic damage in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 127,777–780 (2010).
159. Czaja, M. J., Xu, J. and Alt, E., "Prevention of carbon tetrachloride induced rat liver injury by soluble tumor necrosis factor receptor". *Gastroenterology*, 108: 1849-1854, (1995).
160. El-bakry, K., Toson, E. S., Serag, M. and Aboser, M., "Hepatoprotective effect of moringa oleifera leaves extract against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats" (2016).
161. Chávez-Morales, R., Jaramillo-Juárez, F., Rodríguez-Vázquez, M., Martínez-Saldaña, M., del Río, F. P. and Garfias-López, J., "The Ginkgo biloba extract (GbE) protects the kidney from damage produced by a single and low dose of carbon tetrachloride in adult male rats". *Experimental and Toxicologic Pathology* (2017).
162. Kus, I., Ogeturk, M., Oner, H., et al. "Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats: a light microscopic and biochemical study". *Cell Biochem Funct*; 23: 169-174 (2005).
163. Brattin, W. J., Glende, E. A. and Recknagel, R. O., "Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity". *Journal of free radicals in biology & medicine*.; 1: 27-38 (1985).
164. Thabrew, M. I., Joice, P. and Rajatissa, W., " A comparative study of the efficacy of *Pavetta indica* and *Osbeckia octandra* in the treatment of liver dysfunction". *Planta medica*.; 53: 239-41 (1987).
165. El-Meligy, R. M., Zain, M. E. and Ahmed, F. A., "Protective role of *Cynanchum acutum* L. extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat". *International Journal*.; 1: 9 (2014).
166. Gangarapu, V., Gujjala, S., Korivi, R. and Pala, I., "Combined effect of curcumin and vitamin E against CCl₄ induced liver injury in rats". *American Journal of Life Sciences*.; 1: 117-24 (2013).
167. Senthilkumar, K., Raj Kapoor, B. and Kavimani, S., "Protective Effect of *Enicostemma littorale*. against CCl₄-Induced Hepatic Damage in Rats". *Pharmaceutical biology*.; 43: 485-7 (2005).
168. Salahshoor, M. R., "Protective effect of crocin on liver toxicity induced by morphine". *Research in pharmaceutical sciences*.; 11: 12 (2016).

169. Riaz, H., Saleem, N., Ahmad, M., et al. "Hepatoprotective Effect of Crocus sativus on Amiodarone-Induced Liver Toxicity". *British journal of pharmaceutical research.*; 12 (2016).
170. Boussabbeh, M., Salem, I. B., Belguesmi, F., et al. "Crocic protects the liver and kidney from patulin-induced apoptosis in vivo". *Environmental Science and Pollution Research.*; 23: 9799-808 (2016).
171. Omid, A., Riahinia, N., Montazer Torbati, M. B. and Behdani, M. A., "Hepatoprotective effect of Crocus sativus (saffron) petals extract against acetaminophen toxicity in male Wistar rats". *Avicenna Journal of Phytomedicine.*; 4: 330-6 (2014).
172. Bansal, A. K., Bansal, M., Soni, G. and Bhatnagar, D., "Protective role of Vitamin E pre-treatment on N-nitrosodiethylamine induced oxidative stress in rat liver". *Chemico-biological interactions.*; 156: 101-11 (2005).
173. Botsoglou, N., Taitzoglou, I., Zervos, I., Botsoglou, E., Tsantarliotou, M. and Chatzopoulou, P., "Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication". *Food and chemical toxicology.*; 48: 944-50 (2010).
174. Rahmat, A. A., Dar, F. A. and Choudhary, I. M., "Protection of CCl₄-induced liver and kidney damage by phenolic compounds in leaf extracts of Cnestis ferruginea (de Candolle)". *Pharmacognosy research.*; 6: 19 (2014).
175. Paolini, M., Antelli, A., Pozzetti, L., et al., "Induction of cytochrome P450 enzymes and over-generation of oxygen radicals in beta-carotene supplemented rats". *Carcinogenesis.*; 22: 1483-95 (2001).
176. Tsujimoto, M., Horie, M., Honda, H., Takara, K. and Nishiguchi, K., "The structure-activity correlation on the inhibitory effects of flavonoids on cytochrome P450 3A activity". *Biological and Pharmaceutical Bulletin.*; 32: 671-6 (2009).
177. Zhu, R., Wang, Y., Zhang, L. and Guo, Q., "Oxidative stress and liver disease". *Hepatology Research.*; 42: 741-9 (2012).
178. He, J., Huang, B., Ban, X., Tian, J., Zhu, L. and Wang, Y., "In vitro and in vivo antioxidant activity of the ethanolic extract from Meconopsis quintuplinervia". *Journal of ethnopharmacology.*; 141: 104-10 (2012).
179. Ozturk, F., Ucar, M., Ozturk, I. C., Vardi, N and Batcioglu, K., "Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in Sprague-Dawley rats". *Urology.*; 62: 353-6 (2003).

180. Ranjbar, A., Sharifzadeh, M., Karimi, J., Tavailani, H. and Baeeri, M., "Propofol attenuates toxic oxidative stress by CCl₄ in liver mitochondria and blood in rat". *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR.*; 13: 253 (2014).
181. Hassan, M. H., Edfawy, M., Mansour, A., Hamed, A. A., "Antioxidant and antiapoptotic effects of capsaicin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats". *Toxicol Ind Health*; 28(5): 428e43 (2012).
182. Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Acikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., et al. "Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes". *Toxicol*; 211(3): 197e206 (2005).
183. Saxena, A.K., Srivastava, P., Kale, R. K. and Baquer, N. Z., "Impaired antioxidant status in diabetic rat liver: effect of vanadate". *Biochemical pharmacology.*; 45: 539-42 (1993).
184. Zheng, Y. Q., Liu, J. X., Wang, J. N. and Xu, L., "Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia". *Brain research.*; 1138: 86-94 (2007).
185. Ghadrdoost, B., Vafaei, A. A., Rashidy-Pour, A., et al. "Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats". *European journal of pharmacology.*; 667: 222-9 (2011).
186. Sun, Y., Yang, J., Wang, L., Sun, L. and Dong, Q., "Crocinn attenuates cisplatin-induced liver injury in the mice". *Human & experimental toxicology.*: 0960327113511475 (2013).
187. Jnaneshwari, S., Hemshekhar, M., Santhosh, M. S., et al. "Crocinn, a dietary colorant mitigates cyclophosphamide-induced organ toxicity by modulating antioxidant status and inflammatory cytokines". *Journal of Pharmacy and Pharmacology.*; 65: 604-14 (2013).
188. Lari, P., Abnous, K., Imenshahidi, M., Rashedinia, M., Razavi, M. and Hosseinzadeh, H., "Evaluation of diazinon-induced hepatotoxicity and protective effects of crocin". *Toxicology and industrial health.*; 31: 367-76 (2015).
189. Akbari, G., Mard, S. A., Dianat, M. and Mansouri, E., "The Hepatoprotective and MicroRNAs Downregulatory Effects of Crocin Following Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats". *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (2017).
190. Chen, P., Chen, Y., Wang, Y., et al. "Comparative evaluation of hepatoprotective activities of geniposide, crocins and crocetin by CCl₄-induced liver injury in mice". *Biomolecules & therapeutics.*; 24: 156 (2016).



EK AÇIKLAMALAR A.

BİYOKİMYASAL ANALİZLER VE HASAR SKORLARI

Çizelge Ek A.1. Karaciğer dokusu biyokimyasal analizler.

	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
MDA nmol/g yaş doku	Kontrol ^a	10	561,80	64,36	<0,001
	Mısır yağı ^{a,b}	10	482,07	79,92	
	Krosin ^b	10	455,60	76,93	
	CCI4 ^d	10	1461,61	413,58	
	CCI4+Krosin ^e	10	911,20	170,17	
GSH nmol/g yaş doku	Kontrol ^a	10	1649,29	213,33	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	1876,85	213,77	
	Krosin ^b	10	2319,14	270,00	
	CCI4 ^a	10	1588,40	192,37	
	CCI4+Krosin ^a	10	1833,26	417,60	
SOD Ü/g protein	Kontrol ^{a,c}	10	37,54	6,23	<0,001
	Mısır yağı ^{a,b}	10	43,46	7,22	
	Krosin ^c	10	33,65	9,38	
	CCI4 ^d	10	56,46	5,45	
	CCI4+Krosin ^d	10	46,39	4,87	
CAT K/g Protein	Kontrol ^a	10	47,98	13,58	<0,001
	Mısır yağı ^{a,b}	10	55,69	13,21	
	Krosin ^a	10	47,29	12,04	
	CCI4 ^b	10	67,32	3,93	
	CCI4+Krosin ^{a,b}	10	61,08	5,66	
TAS (mmol/L)	Kontrol	6	2,41	,11	0,378
	Mısır yağı	6	2,37	,15	
	Krosin	6	2,49	,21	
	CCI4	6	2,31	,17	
	CCI4+Krosin	6	2,45	,15	
TOS (µmol/L)	Kontrol ^{a,b}	6	11,25	1,14	0,003
	Mısır yağı ^a	6	10,92	,66	
	Krosin ^a	6	10,14	,92	
	CCI4 ^{a,b}	6	16,47	4,24	
	CCI4+Krosin ^b	6	12,87	1,06	

Çizelge Ek A.2. İncebağırsak dokusu biyokimyasal analizler.

	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
MDA nmol/g yaş doku	Kontrol ^a	10	481,40	53,88	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	472,69	45,18	
	Krosin ^a	10	423,11	59,68	
	CCI4 ^b	10	695,12	98,42	
	CCI4+Krosin ^c	10	578,46	48,46	
GSH nmol/g yaş doku	Kontrol ^{a,c}	10	728,18	124,04	<0,001
	Mısır yağı ^{a,b}	10	844,84	134,99	
	Krosin ^b	10	1008,93	200,58	
	CCI4 ^c	10	632,03	90,71	
	CCI4+Krosin ^{a,c}	10	701,25	75,01	
SOD Ü/g protein	Kontrol ^a	10	394,86	63,50	<0,001
	Mısır yağı ^{a,c}	10	400,34	96,02	
	Krosin ^{a,c}	10	329,84	88,99	
	CCI4 ^{b,c}	10	513,73	93,64	
	CCI4+Krosin ^c	10	442,76	60,36	
CAT K/g Protein	Kontrol ^a	10	36,23	5,55	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	33,71	6,84	
	Krosin ^b	10	17,22	4,21	
	CCI4 ^c	10	55,34	14,67	
	CCI4+Krosin ^a	10	35,96	8,68	
TAS (mmol/L)	Kontrol ^{a,b}	6	1,70	,30	<0,001
	Mısır yağı ^{a,b}	6	1,84	,37	
	Krosin ^b	6	2,26	,28	
	CCI4 ^c	6	0,82	,47	
	CCI4+Krosin ^{a,c}	6	1,30	,59	
TOS (µmol/L)	Kontrol ^a	6	6,76	1,76	<0,001
	Mısır yağı ^a	6	7,76	1,19	
	Krosin ^a	6	5,61	2,23	
	CCI4 ^b	6	10,60	1,25	
	CCI4+Krosin ^a	6	7,04	1,53	

Çizelge Ek A.3. Kalınbağırsak dokusu biyokimyasal analizleri.

	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
MDA nmol/g yaş doku	Kontrol ^{a,c}	10	374,20	58,15	<0,001
	Mısır yağı ^{a,c}	10	423,78	79,64	
	Krosin ^a	10	338,69	22,13	
	CCI4 ^b	10	592,62	101,81	
	CCI4+Krosin ^{n^c}	10	425,12	63,20	
GSH nmol/g yaş doku	Kontrol ^{a,b}	10	530,75	18,08	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	547,41	15,76	
	Krosin ^c	10	598,05	30,53	
	CCI4 ^b	10	518,57	22,09	
	CCI4+Krosin ^{n^a}	10	545,49	12,98	
SOD Ü/g protein	Kontrol ^{a,b}	10	285,04	56,84	0,003
	Mısır yağı ^a	10	252,01	71,47	
	Krosin ^a	10	240,43	49,70	
	CCI4 ^b	10	340,91	39,81	
	CCI4+Krosin ^{n^{a,b}}	10	278,06	59,35	
CAT K/g Protein	Kontrol ^a	10	26,42	2,13	<0,001
	Mısır yağı ^b	10	35,85	6,05	
	Krosin ^{a,b}	10	34,38	5,86	
	CCI4 ^c	10	49,05	11,71	
	CCI4+Krosin ^{n^c}	10	45,17	7,44	
TAS (mmol/L)	Kontrol ^a	6	2,54	,43	0,004
	Mısır yağı ^{a,b}	6	2,95	,25	
	Krosin ^b	6	3,42	,27	
	CCI4 ^a	6	2,69	,52	
	CCI4+Krosin ^{n^{a,b}}	6	3,05	,29	
TOS (µmol/L)	Kontrol ^a	6	5,50	1,71	<0,001
	Mısır yağı ^a	6	6,33	1,87	
	Krosin ^a	6	4,19	1,56	
	CCI4 ^b	6	12,51	4,92	
	CCI4+Krosin ^{n^a}	6	7,11	1,67	

Çizelge Ek A.4. Serum biyokimyasal analizler.

	Grup	N	Mean	Std. Deviation	P
AST(U/L)	Kontrol ^a	10	102,30	14,31	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	107,80	32,88	
	Krosin ^{a,c}	10	361,00	332,43	
	CCI4 ^b	10	1453,10	586,04	
	CCI4+Krosin ^c	10	627,50	383,77	
ALT (U/L)	Kontrol ^a	10	90,00	80,47	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	77,20	31,69	
	Krosin ^a	10	53,30	7,96	
	CCI4 ^b	10	1575,70	596,21	
	CCI4+Krosin ^c	10	545,30	254,67	
ALP (U/L)	Kontrol ^{a,c}	10	414,60	95,22	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	357,90	108,39	
	Krosin ^a	10	361,40	99,78	
	CCI4 ^b	10	948,90	192,38	
	CCI4+Krosin ^{b,c}	10	713,40	277,74	

Çizelge Ek A.5. Karaciğer hasar skoru.

Grup	Fokal nekroz	Apoptoz	Fokal inflamasyon	Köprüleşme nekrozu	Portal inflamasyon	Fibrosis	Vakuolizasyon	Total hasar skoru
Kontrol								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
Mısır Yağı								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
Krosin								
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
CCL4								
1	3	2	2	4	1	1	2	17
2	3	1	2	4	1	1	2	14
3	2	1	2	5	1	1	3	15
4	3	1	1	4	2	2	2	15
5	2	2	2	3	1	1	3	14
6	2	1	2	5	1	1	3	15
7	2	2	1	5	1	1	2	14
8	3	2	1	4	1	1	3	15
9	3	1	2	3	2	2	3	16
10	2	2	1	1	1	1	2	10
CCL4+Krosin								
1	1	1	1	0	1	0	1	5
2	2	0	1	0	1	0	1	5
3	1	0	1	1	1	0	2	6
4	1	1	1	0	0	0	2	5
5	2	1	1	0	1	1	1	7
6	1	2	0	1	0	0	1	5
7	1	1	1	0	0	0	1	4
8	2	1	0	0	1	0	2	6
10	1	0	1	0	1	1	1	5

Çizelge Ek A.6. İncebağırsak hasar skoru.

Grup Kontrol	Villus küntleşmesi	Epitel hasarı	Villus hasarı	Liberkühn kripta hasarı	İnflamasyom	Total hasar skoru
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	1
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	1	1
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
Mısır Yağı						
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	1
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	1	1
10	0	0	0	0	0	0
Krosin						
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	1	1
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
CCL4						
1	1	3	2	1	2	9
2	2	2	1	1	2	8
3	2	2	3	1	2	10
4	3	2	2	2	2	11
5	2	3	2	1	2	10
6	2	2	3	2	2	11
7	1	2	2	1	2	8
8	2	2	2	1	3	10
9	3	2	1	1	2	9
10	2	3	2	1	2	10
CCL4+Krosin						
1	1	2	1	1	1	6
2	0	1	0	1	1	3
3	1	2	0	1	2	6
4	1	1	0	0	1	3
5	1	1	1	0	1	4
6	1	1	1	1	1	5
7	0	1	1	0	1	3
8	0	1	0	1	2	4
9	1	2	1	1	1	6
10	1	1	1	0	1	4

Çizelge Ek A.7. Kalınbağırsak hasar skoru.

Grup	Goblet hücresi azalması-kaybı	Epitel hasarı	Mukozal fibrozis	Liberkühn kripta hasarı	İnflamasyon	Total hasar skoru
Kontrol						
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	1	1
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	1	1
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	1	1
10	0	0	0	0	0	0
Mısır Yağı						
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	1	1
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
Krosin						
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	1	1
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	1	1
10	0	0	0	0	0	0
CCL4						
1	2	2	1	1	2	8
2	2	2	1	1	2	8
3	1	3	1	1	2	8
4	2	2	2	2	2	10
5	1	2	1	1	2	7
6	2	2	1	1	2	8
7	2	3	1	2	2	10
8	2	2	1	1	2	10
9	1	2	1	1	3	8
10	2	2	1	1	2	8
CCL4+Krosin						
1	1	1	0	1	1	4
2	1	1	0	0	1	3
3	1	1	1	1	1	5
4	1	1	0	1	1	4
5	1	1	0	0	1	3
6	1	2	0	1	1	5
7	1	1	1	0	1	4
8	1	1	0	0	1	3
9	1	1	0	0	1	3
10	1	1	0	1	1	4

Çizelge Ek A.8. Toplam hasar skoru.

	Grup	N	Median	Minimu m	Maximu m	p
Karaciğer	Kontrol ^a	10	0	0	0	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	0	0	0	
	Krosin ^a	10	0	0	0	
	CCI4 ^b	10	15	10	17	
	CCI4+Krosi n ^c	9	5	4	7	
İnce Bağırsak	Kontrol ^a	10	0	0	1	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	0	0	1	
	Krosin ^a	10	0	0	1	
	CCI4 ^b	10	10	8	11	
	CCI4+Krosi n ^c	10	4	3	6	
Kalın Bağırsak	Kontrol ^a	10	0	0	1	<0,001
	Mısır yağı ^a	10	0	0	1	
	Krosin ^a	10	0	0	1	
	CCI4 ^b	10	8	7	10	
	CCI4+Krosi n ^c	10	4	3	5	

Kontrol = mısır yağı = Krosin < CCI4 + Krosin < CCI4

(Kruskal Wallis testi ve sonrasında Conover ikili karşılaştırma yöntemi)



EK AÇIKLAMALAR B.

ETİK KURULU KARARI



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 07-11-2015
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2015/A-96
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Sığır
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 50 Adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı :

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç.Dr.Eyüp ALTINÖZ 'ün yürüttüğü olduğu "Deneysel Karbon Tetraklorür Toksikitesi Üzerine Krosin'in Koruyucu Etikilerinin Araştırılması" isimli 2015/A-96 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	 Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	 Prof. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ	 Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	

ÖZGEÇMİŞ

Binnaz Elif COŞGUN 1990 yılında İskenderun'da doğdu; ilk ve orta öğrenimini Edirne'de tamamladı. 2007 Yılında Kocaeli Atılım Lisesi'nden mezun oldu. 2008 yılında Kırıkkale Üniversitesi'nde öğrenime başlayıp Farabi öğrenci değişimi programı ile Karabük' te bir sene eğitim görerek 2013 yılında iyi derece ile mezun oldu. 2010 Yılında Hayat Kimya'da stajyer öğrenci olarak görev aldı. 2014 yılında Karabük Üniversitesi'nde yüksek lisansa başladı. Aynı sene kısmi zamanlı öğrenci statüsünde laboratuvar asistanlığı yaptı.

ADRES BİLGİLERİ

Adres : Keçiören/ ANKARA

Tel : (538) 840 2733

E-posta : elfcsgn@gmail.com