

AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBON TETRAKLORÜR İLE KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA *MATRİCARİA CHAMOMİLLA L.*
NİN KARACİĞER ÜZERİNE KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Araş. Gör. Laçine TÜR

**VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR**

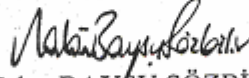
Tez No: 2008-001

2008-AFYONKARAHİSAR

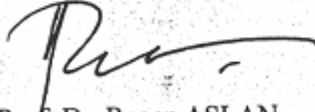
KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26.05.2008




Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR
Afyon Kocatepe Üniversitesi



Prof. Dr. Recep ASLAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi



Prof. Dr. Ulvi Reha FİDANCI
Ankara Üniversitesi

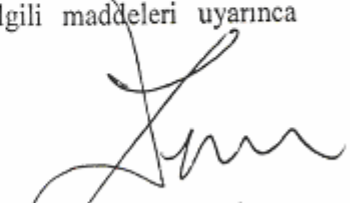


Doç. Dr. Sefa ÇELİK
Afyon Kocatepe Üniversitesi



Yrd. Doç. Dr. Gülcan AVCI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programı öğrencisi Laçine TÜR'ün "Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria chamomilla L.* nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 23/05/2008 günü saat 12'de Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Yavuz DEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sürdürülmesinde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, ufkumu açan danışman hocam AKÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nalan BAYŞU SÖZBİLİR'e gösterdiği özveriden dolayı sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Yetişmemizde büyük emeği olan, bana biyokimyayı sevdiren, kendisini tanımaktan onur duyduğum Prof. Dr. Nihat BAYŞU'ya saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Tez aşamamda; bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, zaman harcayan, emek veren, beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, AKÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Mustafa CEMEK ile AKÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU'na sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

Deneyisel aşamadaki yardımlarından dolayı yüksek lisans öğrencileri Ahmet BÜYÜKBEN'e ve Fatih AYMELEK'e çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca gösterdikleri desteği doktora çalışmam sırasında da esirgemeyen, bana gösterdikleri sabır ve duydukları güven için sevgili aileme sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY.....	II
ÖNSÖZ.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
ŞEKİLLER.....	IX
TABLolar.....	X
GRAFİKLER.....	XI
RESİMLER.....	XII
ÖZET.....	XIII
SUMMARY.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Karaciğerin Yapısı.....	3
2.1.1 Karaciğerin Makroskopik Anatomisi	3
2.1.2 Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi.....	4
2.1.3 Karaciğer Sitolojisi.....	5
2.1.3.1 Hepatositler	6
2.1.3.2 Endotel Hücreler	7
2.1.3.3 Kupffer Hücreleri	7
2.1.3.4 Stellat Hücreler	7
2.1.3.5 Safra Kanalı Epitel Hücreleri.....	8
2.2 Karaciğerin Görevleri.....	8
2.2.1 Protein Sentezi	8
2.2.2 Safra Salgılanması.....	8
2.2.3 Detoksifikasyon Fonksiyonu	9
2.3 Karaciğer Hastalıkları.....	9
2.3.1 Hepatitler	10
2.3.1.1 Akut Viral Hepatitler.....	10
2.3.1.2 Kronik Viral Hepatitler.....	11
2.3.2 Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı	12
2.3.3 Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı.....	15

2.3.4	Siroz	16
2.4	Karaciğer Hücrelerinin Oksidatif Stresle İlişkisi	17
2.5	Karbon Tetraklorür ile Karaciğerde Oluşturulan Membran Hasarı.....	22
2.6	Oksidan-Antioksidan Sistem	23
2.6.1	Oksidan Molekül Kaynakları.....	23
2.6.2	Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	24
2.6.3	Reaktif Oksijen Türleri.....	25
2.6.3.1	Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)	26
2.6.3.2	Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	28
2.6.3.3	Hidroksil Radikali (OH)	29
2.6.3.4	Singlet Oksijen (1O_2).....	30
2.6.3.5	Nitrik Oksit (NO)	30
2.6.4	Serbest Radikallerin Etkileri	31
2.6.4.1	Proteinler Üzerine Etkileri.....	31
2.6.4.2	Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	32
2.6.4.3	Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	33
2.6.4.4	Lipidler Üzerine Etkileri.....	33
2.6.5	Malondialdehit (MDA).....	36
2.6.6	Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	38
2.6.6.1	Enzimatik Antioksidanlar	40
2.6.6.1.1	Süperoksit Dismutaz (E.C.1.15.1.1).....	40
2.6.6.1.2	Katalaz (E.C.1.11.1.6)	42
2.6.6.1.3	Glutasyon Peroksidaz (E.C.1.11.1.9).....	43
2.6.6.1.4	Glutasyon S-Transferaz (E.C.2.5.1.18).....	45
2.6.6.1.5	Glutasyon Redüktaz (E.C.1.8.1.7).....	46
2.6.6.2	Non-Enzimatik Antioksidanlar	48
2.6.6.2.1	Glutasyon	48
2.6.6.2.2	Vitamin E (α -Tokoferol).....	51
2.6.6.2.3	Vitamin C (Askorbik Asit)	53
2.7	<i>Matricaria chamomilla L.</i>	55
3.	MATERYAL VE METOT	60
3.1	Materyal.....	60
3.1.1	Deney Hayvanı	60
3.1.2	<i>Matricaria chamomilla L.</i> Ekstresinin Hazırlanması	60
3.2	Metot	61

3.2.1	Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	62
3.2.2	Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması	63
3.2.3	Biyokimyasal Analizler	63
3.2.3.1	Malondialdehit (MDA) Tayini.....	63
3.2.3.2	Glutasyon (GSH) Tayini	64
3.2.3.3	Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	64
3.2.3.4	Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini.....	65
3.2.3.5	Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini	65
3.2.3.6	Aspartat Aminotransferaz (AST) Enzim Aktivite Tayini.....	66
3.2.3.7	Alanin Aminotransferaz (ALT) Enzim Aktivite Tayini	66
3.3	İstatistik Analizler	66
4.	BULGULAR.....	67
4.1	Rat Ağırlıkları	67
4.2	Alanin Aminotransferaz ve Aspartat Aminotransferaz Enzim Aktivite Düzeyleri...68	
4.3	Malondialdehit ve Redükte Glutasyon Düzeyleri	71
4.4	Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Katalaz Enzim Aktivite Düzeyleri73	
5.	TARTIŞMA.....	76
6.	SONUÇ	84
	KAYNAKLAR DİZİNİ.....	86

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADH	Alkol Dehidrogenaz
ALDH	Aset Aldehid Dehidrogenaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
CAT	Katalaz
- CCl ₃ ·	Trikloro Metil Radikali
- Cl ₃ COO·	Trikloro Metil Peroksit Radikali
CCl ₄	Karbon Tetraklorür
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DTNB	5,5 ¹ -2- Ditiyo Bisnitro Benzoik Asit
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HNE	Hidroksi Nonenal
IL	İnterlökin
iNOS	İnducible Nitrik Oksit Sentaz
İP	İntraperitoneal
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LPO	Lipid Peroksidasyonu
MCE	<i>Matricaria chamomilla L.</i> Ekstresi
MDA	Malondialdehit
MeOS	Mikrozomal Etanol Okside Edici Sistem
NaCl	Sodyum Klorür
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	Redükte Nikotinamid Adenin inükleotit
NASH	Non-Alkolik Stetohepatit

VIII

NAYKH	Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NO	Nitrik Oksit
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksid Radikali
OH^{\cdot}	Hidroksil Radikali
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksid Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TNF	Tümör Nekroz Faktör
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

ŞEKİLLER**Sayfa No**

Şekil 2.1 Karaciğerin Makroskobik Yapısı.....	4
Şekil 2.2 Karaciğerde Lobül Yapısı.	5
Şekil 2.3 Karaciğer Hücreleri.....	6
Şekil 2.4 Akut Hepatit ve Kronik Hepatitin Histopatolojisi	11
Şekil 2.5 Alkole Bağlı Karaciğer Hasarının Mekanizması.....	15
Şekil 2.6 Singlet Oksijenin Sitokrom-c Sisteminde Tutulması.....	18
Şekil 2.7 TNF- α 'nın Mitokondri Üzerine Etkisi	20
Şekil 2.8 Lipid Peroksidasyonunun Zincir Reaksiyonları... ..	35
Şekil 2.9 Selenyum-GPx Enziminin Katalitik Döngüsü	44
Şekil 2.10 Enzim Savunma Mekanizmaları.....	47
Şekil 2.11 Glutasyon Biyosentezi	49
Şekil 2.12 GSH'ın Antioksidan Fonksiyonlarının Şematik Olarak Gösterilmesi.....	51

TABLolar**Sayfa No**

Tablo 2.1 Radikalik ve Nonradikalik Reaktif Oksijen Türleri.....	26
Tablo 2.2 Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidanlar	38
Tablo 4.1 Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Rat Ağırlıkları.....	68
Tablo 4.2 ALT ve AST Enzim Aktivite Düzeyleri.....	69
Tablo 4.3 GSH ve MDA Düzeyleri	71
Tablo 4.4 Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Katalaz Enzim Aktivite Düzeyleri .	74

GRAFİKLER**Sayfa No**

Grafik 4.1 Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Rat Ağırlıkları	68
Grafik 4.2 ALT Enzim Aktivite Düzeyleri	70
Grafik 4.3 AST Enzim Aktivite Düzeyleri	70
Grafik 4.4 GSH Düzeyleri	72
Grafik 4.5 MDA Düzeyleri	72
Grafik 4.6 SOD Enzim Aktivite Düzeyleri.....	74
Grafik 4.7 GPx Enzim Aktivite Düzeyleri.....	75
Grafik 4.8 CAT Enzim Aktivite Düzeyleri.....	75

RESİMLER

Sayfa No

Resim 1. <i>Matricaria chamomilla</i> L. Bitkisi	55
Resim 2. Soxhelet Düzeneđi	61

Özet

Karbon Tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria chamomilla L.* nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Karaciğerde viral, toksik, metabolik, farmakolojik bir ajan veya immünolojik bir atak ile oluşan hasarın sonucu meydana gelen hepatitler ile aşırı alkol tüketimi, obezite ve diyabete bağlı olarak gelişen siroz, dünyada çok sık rastlanan hastalıklardan olup çok sayıda kişiyi etkilemektedir. CCl₄, neden olduğu akut hasarın yanında uzun süre kullanımında siroza kadar uzanan kronik hasarlar da oluşturmakta ve CCl₄ ile deneysel oluşturulan karaciğer hasarı insanlardaki karaciğer hasarına uygunluk göstermektedir. CCl₄'ün lipid peroksidasyonunu artırarak oksidatif stres oluşturduğu bilinmekte ve bu da antioksidanlar ve oksidanlar arasında dengenin, oksidanlar lehine bozulmasına neden olmaktadır.

Bu çalışma, ratlarda oksidatif stres oluşturan ve kronik kullanımda karaciğere toksik etkisi bilinen CCl₄' e karşı, *Matricaria chamomilla L.* bitkisinin karaciğeri koruyucu etkisinin olup olmadığı ve varsa ne derece olduğunun araştırılması amacıyla gerçekleştirildi.

Çalışmada 35 adet 3 aylık Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olmak üzere beş gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki ratlar standart 14 gün yemle beslendi. CCl₄ grubundaki ratlara 14 gün 0,8 ml/kg CCl₄ intraperitoneal olarak uygulandı. Diğer gruplardaki ratlara ise intraperitoneal olarak uygulanan 14 gün 0,8 ml/kg CCl₄'e ilave olarak sırasıyla 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg *Matricaria chamomilla L.* ekstresi gavajla verildi. Çalışmanın başında ve sonunda rat ağırlıkları ölçüldü. Uygulamadan sonra tüm hayvanlardan eter anestezisi altında uygun teknikler kullanılarak alınan kanlarda, AST ve ALT aktivite düzeyleri serumda; oksidatif stresin göstergesi olan malondialdehid (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeyleri tüm kanda; antioksidan özellik gösteren süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) aktivite düzeyleri ise eritrositlerde spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

Yapılan çalışmada kan örnekleri incelendiğinde CCl₄'ün uygulandığı gruptaki ALT ve AST değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı (p<0.001), MCE'nin ise MDA düzeylerini azalttığı bunun yanında GSH değerlerini artırdığı görülmüştür. 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruptaki GSH artışı (p<0.01) daha fazladır. MCE, SOD ve GPx aktivite düzeylerini de anlamlı bir şekilde artırmıştır. Katalaz aktivite düzeyleri incelendiğinde, CCl₄ grubu ve 50 mg/kg ekstrenin uygulandığı grupta p<0.001 anlamlılıkta, 100 mg/kg ve 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruplarda ise p<0.01 anlamlılıkta azalma gözlenmiştir.

Sonuç olarak, *Matricaria chamomilla L.*'nin doza bağlı olarak ratlarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarı ve buna bağlı oksidatif stresi azalttığı ve antioksidan sistemi olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Oksidatif strese karşı antioksidan etki gösteren *Matricaria chamomilla L.*'nin karaciğer hastalıklarının klinik tedavisinde destekleyici olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : *Matricaria chamomilla L.*, Karaciğer, CCl₄, Oksidatif stres, Antioksidan Enzimler

Summary

Investigation of Liver Protective Effects of *Matricaria chamomilla L.* on Liver Damage Induced by Carbon Tetrachloride

Hepatitis which is occurred with the result of damage viral, metabolic, a pharmacological agent or an immunological attack in liver and cirrhosis which is depended on chronic alcohol consumption, obesity and diabetes are frequent diseases and affect lots of people. CCl₄ causes not only acute damage but also chronic damage

developing to the cirrhosis. Experimental CCl₄ damage is very similar to human liver damage. It is known that CCl₄ causes oxidative stress by increasing lipid peroxidation and this causes to spoilt to equilibrate between antioxidants and oxidants to oxidants.

It was investigated in this experimental study how protective *Matricaria chamomilla L.*, was against CCl₄ which causes oxidative stress in rats and causes toxic effects in the liver with chronic use.

Thirty-five, 3-month-old male Wistar Albino rats were used in the study. The rats, 7 in each group, were divided in five groups. The rats in the control group were fed with standart food for 14 days. The rats in the CCl₄ group were received 0,8 mg/kg CCl₄ intraperitonealy for 14 days. Rats in the ohter groups were received 0,8 mg/kg CCl₄ (i.p.) and given respectively 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg *Matricaria chamomilla L.* extract orally by gavage for 14 days. At the beginning and end of the study, weights of rats were measured. At the end of the experiment, blood samples were obtained from the animals under ether anesthesia by using appropriate techniqueus. AST and ALT activities were measured in the blood serum. Malondialdehyde (MDA) which is sign of lipid peroxidation and reduced glutathione (GSH) levels were measured in whole blood; antioxidant enzymes Superoksid Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GPx) and Catalase (CAT) activities which are showed antioxidant specialties were measured in erythrocyte.

It was determined that AST ve ALT activities of blood serum were significantly higher ($p<0.001$) compared with control group. *Matricaria chamomilla L.* decreased MDA values and increased GSH levels. Highest levels of GSH were detected ($p<0.01$) in group which received 200 mg/kg MCE extract. *Matricaria chamomilla L.* increased SOD and GPx activities as significantly. Catalase activities were significantly decreased in CCl₄ ($p<0.001$), 50 mg/kg MCE extract received group ($p<0.001$), 100 and 200 mg/kg MCE groups ($p<0.01$).

It was concluded that *Matricaria chamomilla L.*, decreased the liver damage and oxidative stress induced by CCl₄ in a dose dependent manner. It is considered that *Matricaria chamomilla L.* might be used as auxiliary for the clinical treatment of liver diseases.

Key Words : *Matricaria chamomilla L.*, Liver, CCl₄, Oxidative Stress, Antioxidant Enzymes.

1. GİRİŞ

Karaciğer karın boşluğunda, diyaframın altında yer alan vücudun en büyük organlarından biridir. Pek çok önemli fonksiyonu bulunmakla birlikte temel görevleri; sekresyon, ekskresyon, depo, fagositoz, detoksikasyon, konjugasyon, esterleştirme, metabolizma ve hemopoez'dir. Karaciğer, sindirim ve dolaşım sistemi arasında bulunduğu ve önemli fonksiyonları olduğundan pek çok etkenden zarar görebilmektedir. Kemoterapötiklerin yaygın kullanımı, pestisit ve çevresel toksinlere maruz kalma, yanlış beslenme alışkanlıkları ve bunların ortaya çıkardığı tıbbi problemler, artan sigara ve alkol tüketimi ile viral hepatitler gibi nedenlere bağlı olarak daha sık ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen hasarlanma etkin bir rejenerasyon ve onarımla cevaplanmazsa normal karaciğer yapısı bozulur (1-3). Bundan dolayı siroza kadar gidebilecek karaciğer hasarlarının daha başlangıç döneminde engellenmesi önem kazanmaktadır. Karaciğer hastalıklarının genel toplumda rastlanma sıklığı % 15-25 oranındadır. Kronikleşen karaciğer hasarları ve siroz özellikle batı ülkelerinde başta gelen ölüm sebeplerindedir (4).

Oksidatif stres; hücrel antioksidan düzeyinin, reaktif oksijen düzeylerine karşı yetersiz kalması sonucu, toksik bir etkinin başlaması olarak tarif edilir. Bu durum ya antioksidan savunmaların yetersizliği, ya reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, ya da her ikisinden dolayı olmaktadır. ROS üretiminin aşırı artması veya antioksidan savunmanın azalmasından dolayı her iki sistemin dengesizliği oksidatif strese yol açmaktadır. Deneysel çalışmalarda pek çok etkenle karaciğer hasarı oluşturulabilmesine rağmen insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için, en çok tercih edilen ve kullanılan karbon tetraklorür (CCl₄)'dür (2-10). CCl₄ lipid peroksidasyonu oluşturarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif hasarda, karaciğer stellat hücreleri ve fibroblastlar uyarılarak bunların ekstrasellüler matriks ve kollajen sentezini gerçekleştirmeleri sağlanır (11-14). Ayrıca hasarlarla uyarılmış olan Kupffer hücreleri; proinflamator sitokinler, tömür nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interlökin-1h (IL-1h) üretimini uyarırlar. Bundan dolayı, oksidatif stresin inhibe edilmesi faydalı sonuçlar sağlayacaktır (1). Çevresel ve hücrel faktörlerin etkisiyle oluşturulan reaktif oksijen türlerinin detoksifiye edilmesinde, ekzojen olarak alınan ya da fizyolojik olarak yapılan antioksidanlar görev almaktadır (12).

Karaciğer harabiyetini tedavi etmek veya hasara karşı korumak amacıyla doğa zengin bir kaynak sunmaktadır. Tedavi edici veya hastalıkları önleyici etkileri olan bitkiler, birçok bilim adamı tarafından araştırılmıştır. 20. yüzyılın başlarında sentetik kimyanın farmakolojide oluşturduğu ilerleme, bitkilere tedavi amaçlı yönelmeyi azaltsa da, aynı yüzyılın sonlarına doğru, daha ucuz ve kolay ulaşılabilir olmaları, toksik ve yan etkilerinin daha az olması ve doğal olmaları sebebiyle bitkiler yeniden popüler olmuşlardır (15).

Ülkemizin coğrafyası itibariyle çok geniş (10,000 tür) bir bitkisel florası vardır. Dolayısıyla bitkilerin tıpta tedavi amaçlı kullanımı için çok uygun bir ekosistem bulunmaktadır. Halk arasında tedavi maksatlı kullanılan bitkilerden biri de *Matricaria chamomilla L.*'dir. *Matricaria chamomilla L.*, idrar çoğaltıcı, iştah açıcı, yatıştırıcı, gaz ve safra söktürücü özellik yanında boğaz iltihaplarına karşı gargara yapılarak kullanıldığı gibi hemaroid yaralarını da iyileştirici özelliği vardır (16).

Bu çalışmada; ratlarda, CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine *Matricaria chamomilla L.* ekstresinin antioksidatif etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Karaciğerin Yapısı

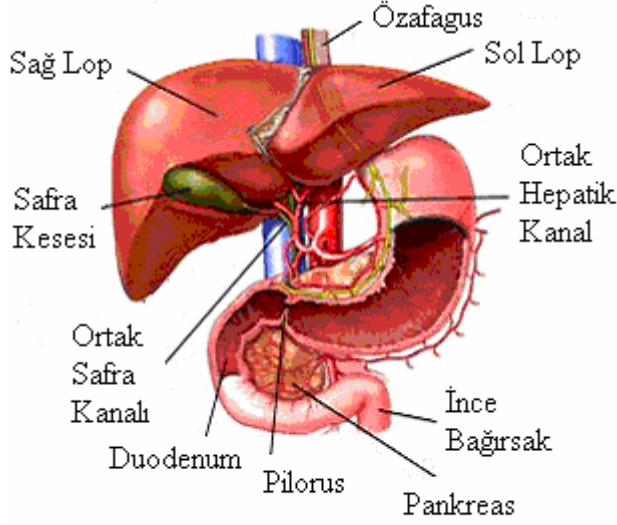
2.1.1 Karaciğerin Makroskopik Anatomisi

Karaciğer, insan vücudunda bulunan en büyük organdır. Ağırlığı yetişkinlerde 1200-1600 gr. kadardır (17). Karın boşluğunun sağında ve ön tarafta bulunur. Piramid şeklinde ve büyük bir kısmı sağ kaburgalar kenarının altına gizlenmiş durumdadır. Piramidin tepesi ksifoid'de, tabanı ise sağ hipokondriyum lateralinde yer alır. Karaciğerin 5 yüzü vardır. Bunlar üst, ön, sağ lateral, arka ve alt yüzlerdir. Üst, ön, sağ lateral yüzler sağ diyaframın alt yüzüne uyacak şekilde konvektirler. Bu yüzlerde çeşitli anatomik yapı ve bölümler yer alır (Şekil 2.1).

Karaciğer başlıca sağ ve sol olmak üzere iki loptan meydana gelir. Sağ lob, sol lobtan 6 defa daha büyüktür. Sağ lobun alt yüzünde quadrate lob, arka yüzünde ise caudate lob denen daha küçük bölümler vardır.

Karaciğer alt yüzü sağ böbrek, duodenum, kolon ve mide ile komşuluk eder. Karaciğer diyaframa, karın duvarına, mide ve duodenuma periton pilileri içinde bulunan bağ dokusu bantları ile yapışır. Karaciğer bantları denen bu yapıların fonksiyonu karaciğeri yerinde tutmak ve karaciğere gelen ve ondan giden kan ve lenf damarları ile sinir pleksüslerini taşımaktır.

Karaciğer kan dolaşımı, diğer organlara oranla önemli bir farklılık gösterir. Diğer organlar sadece arteriyel sistemden kan aldığı halde karaciğer hem arteriyel (A. hepatica), hem de venal (V. portae) sistemden kan alan tek organdır. A. hepatica, oksijenden zengin kanı, büyük dolaşımdan karaciğere iletir. V. portae, özellikle bağırsak duvarından gelen ve gıda maddelerinin emilimi ile zenginleştirilmiş kanı karaciğere iletir. A. Hepatica, V. Portae ile birlikte karaciğer içinde küçük kollara ayrılarak ilerleyip tek sıra hücrelerden oluşan plaklar arasında yer alan sinusoidlerde sonlanır. Sinuzoidler karaciğer lobülü düzeyinde merkezi venalara (V. centralis) açılırlar. Bu venalarda karaciğer toplardamarına (V. hepatica) açılır (18-22).



Şekil 2.1 Karaciğerin Makroskopik Yapısı (23)

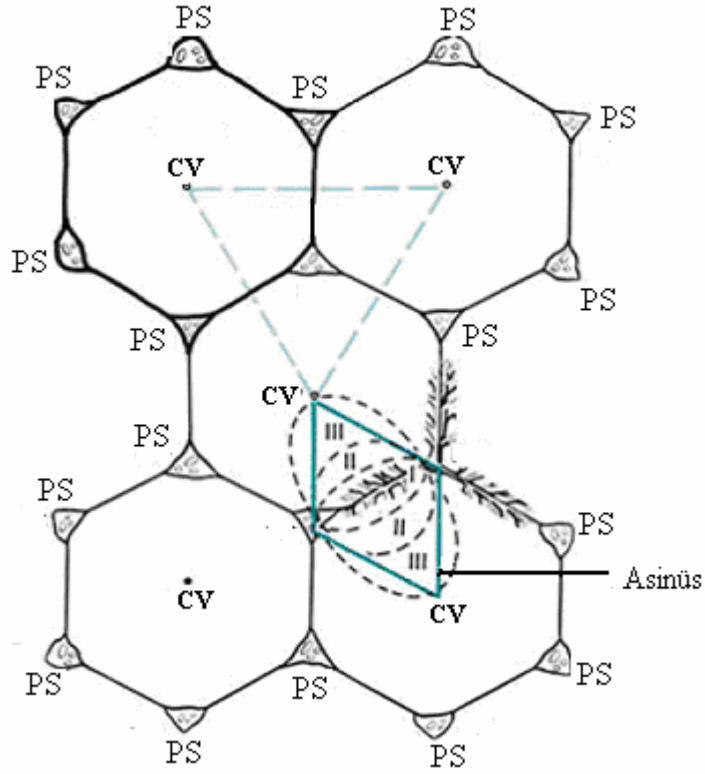
2.1.2 Karaciğerin Mikroskopik Anatomisi

Karaciğer, 'lobül' veya 'asinüs' denilen histolojik ünitelerden oluşur. Köşelerinde portal alanların, merkezinde terminal hepatik venülün (santral ven) bulunduğu poligonal ünitelere karaciğer lobülü denmektedir. Bir portal alanda portal ven ve hepatik arter dalları ile interlobüler safra kanalı bulunur. Asinüs ise bir portal alan ile komşu santral ven arasında kalan üçgen şeklinde bir birimdir. Karaciğer parankimini oluşturan hepatositler, biri diğerinin üzerinde olacak şekilde kordonlar yaparak bir portal mesafeden bir santral vene doğru uzanır. Bu kordonların (Remarck kordonları) arasındaki mesafe sinüzoid olarak adlandırılır, burada portal alanlardan santral vene kan akımı mevcuttur. Sinüzoidler endotelial hücreler ile çevrilidir. Endotel hücreleri ile hepatositler arasında **disse aralığı** bulunur (24-26).

Hepatik asinüs modeli; kanın arteriyel ve portal venöz damarlar ile karaciğer parankimine ulaşır, kordonlar biçiminde dizilen hepatositlerce işlendikten sonra terminal hepatik venüllere dökülmesi temel alınarak oluşturulmuştur. Şekil 2.2 de gösterilen bu model hepatositleri, bol oksijenli kandan yararlanma derecelerine göre üç alanda gruplar: En iyi kanlanan periportal kısım **alan 1**, en az kanlanan perivenüler kısım **alan 3** olarak adlandırılır. İskemik olaylardan en çok 3'üncü alandaki hepatositlerin etkilenmeleri bu modelle kolayca açıklanabilmektedir. Safra

akımı, kan akımının tersi yolu izleyerek (alan 3'den alan 1'e doğru) karaciğer parankimini portal alanlardan terk eder (25-28).

Karaciğer parankimi belli işlevleri üstlenmiş kesin sınırlarla ayrılan bölümler içermez, her hepatosit karaciğere ait her işlevi yerine getirebilir. Ancak, alan 1'deki hepatositler daha çok glukoneogenez, yağ asidi oksidasyonu, aminoasit parçalanması, kolesterol üretimi ve safra asidi sekresyonu ile ilgili görevler üstlenirken, alan 3'teki hepatositler glukoliz, lipogenez, detoksifikasyon gibi işlevlere ağırlık verir.

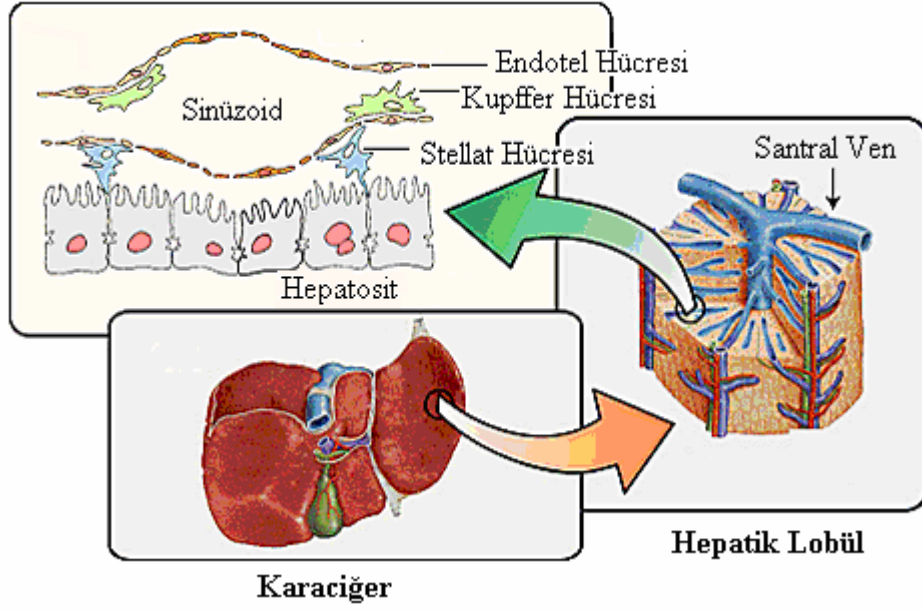


Şekil 2.2 Karaciğerde Lobül Yapısı (29)

(PS: Portal Alan; CV: Santral Ven)

2.1.3 Karaciğer Sitolojisi

Karaciğerde beş tür hücre bulunmaktadır. Bunlar hepatosit, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitel hücreleridir ve şekil 2.3 de gösterilmiştir. Tüm hücre tiplerinin % 80'ini hepatositler oluşturur (30-32).



Şekil 2.3 Karaciğer Hücreleri (33)

2.1.3.1 Hepatositler

Bu hücreler polihedral, altı ya da daha fazla yüzeyli ve 20-30 μm çapında, çok sayıda mitokondri ve bir miktarda düzgün yüzeyli endoplazmik retikulum içeriği nedeniyle eozinofilik boyanan hücrelerdir. İki hepatositin birleştiği yerde, hücrelerin arasında tübüler bir aralık bulunur ve safra kanalikülü olarak adlandırılır. Hepatositler arasında bulunan sıkı bağlantı bölgeleri “Gap Junction”lar hücrelerin fizyolojik aktivitelerinin koordinasyonunda önemlidir (30).

Hepatositler granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulumlar açısından oldukça zengindirler. Granüllü endoplazmik retikulum, stoplazma içinde dağılmış kümeler oluşturur. Bu yapılarıdaki poliribozomlarda, albumin ve fibrinojen gibi proteinlerin sentezi yapılır (30). Ayrıca granüllü endoplazmik retikulumda çeşitli maddelerin vücuttan atılmasından önce inaktive ve detoksifiye edilmesi için gerekli oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon reaksiyonları gerçekleştirilir.

Hepatositler, organizmada yağ metabolizmasının merkezi konumundadırlar. Sentezledikleri safra tuzları bağırsak lümeninde misel oluşumunu sağlar. Emilen yağ asitleri ya şilomikronlar içerisinde ya da albumine bağlı olarak kan dolaşımında taşınırlar. Önemli bir kısmı karaciğer tarafından alınarak burada metabolize edilirler.

Yağ asitlerinin bir kısmı mitokondride β -oksidasyon sürecine girer. Açlık durumunda ise yağ dokusundan serbest hale geçen yağ asitleri karaciğere taşınıp burada keton cisimlerine dönüştürüldükten sonra enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere kas dokusuna gönderilir (31).

2.1.3.2 Endotel Hücreleri

Karaciğer damar yönünden oldukça zengin bir organdır, bu nedenle endotel hücreleri açısından da zengindir. Sinüzoidler arteriyel kanın yanı sıra venöz kan da içerirler, bu yüzden bağırsaklardan gelen ve organizmaya zararlı olabilecek çeşitli kimyasal maddeler (ksenobiyotikler) ve mikroorganizmalar için de kompleks bir filtre görevi görürler (31).

2.1.3.3 Kupffer hücreleri

Orjin olarak monositlerden köken alan ve perisinüzoidal alanda yerleşen, lokal makrofajlardır (31). Fagosite edilen mikroorganizmaları ve yabancı cisimleri yıkan lizozom içerirler. İmmunoglobulinler ve komplemanlar için reseptörleri vardır (32). Antijen sunan hücre olarak görev yaparlar ve hücrel immunitiyi aktive ederler (31). İnterlökinler (IL), tümör nekroz faktör (TNF), kollajenaz, prostoglandinler ve inflamatuvar cevaba katılan diğer faktörleri salgırlar (32).

2.1.3.4 Stelat Hücreler

Deniz yıldızı görünümündeki bu hücreler, yağ depolamakta ve ito hücreleri olarak da bilinmektedirler. Sinüzoidlerin duvarında bulunurlar ve yüksek miktarda retinol içerirler. Organizmadaki retinol deposunun çok önemli bir kısmı bu hücrelerde bulunmaktadır. Stelat hücreler aktive olduklarında disse aralığına kollajen salgılamaya başlarlar. Bu da fibrotik süreci başlatan ana nedenlerdendir, ancak geri dönüşümsüz değildir. Hepatositten salınan metaloproteinaz enzimi, hasar gören alandaki fibrotik dokuyu parçalar ve yok eder. Stelat hücrelerin apoptoza uğratılmasıyla, fibroz doku oluşumunun yavaşlatılabileceği düşünülmektedir (31).

2.1.3.5 Safra Kanalı Epitel Hücreleri

Hepatosit arasındaki safra kanalcığından başlayan safra kanalları, safrayı kanın ters yönünde yani klasik lobülün merkezinden periferine doğru taşırlar. Periferde safra, safra kanalcıklarına ya da Herring kanallarına girer. Daha sonra Herring kanalları portal triaddaki safra kanallarına açılır. Ana safra kanalı, duodenumun ikinci kısmında sonlanır (30).

2.2 Karaciğerin Görevleri

Karaciğer, hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyon gösteren vücudun çok yönlü bir organıdır. Protein sentezi, safra salgılanması, detoksifikasyon, A, D, E, K, B 12 vitaminlerinin depolanması, A vitamininin üretimi, glikozun glikojen şeklinde depolanıp, insülin denetiminde kana verilmesi, kan pıhtılaşmasında görev alan proteinlerin üretilmesi, lenf yapımında görev almak gibi çok önemli fonksiyonları vardır (34-36).

2.2.1 Protein Sentezi

Karaciğer hücresi, kendisi için ürettiği proteinlere ek olarak albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler gibi plazma proteinlerini de sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüler endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer bez hücrelerinin aksine, hepatositler proteinleri stoplazmada depolamayıp, kan dolaşımına vererek endokrin bir bez özelliği gösterirler. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin % 5'lik bir kısmı Kupffer hücreleri tarafından üretilmektedir (34-36).

2.2.2 Safra Salgılanması

Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri de safranın üretilmesidir. Hepatositler kan komponentlerini alıp dönüştürerek ve safra kanalları içine salgılayarak ekzokrin

faaliyetlerini yerine getirmiş olurlar. Safra sıvısı içerisinde; su, elektrolitler, safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol, bilirubin bulunur. Bu maddelerin % 90'ı distal intestinal epitelden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığıyla kandan safra kanallarına taşınır. Safra asitleri sindirim sisteminde lipidlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir fonksiyon görerek bunların lipaz ile sindirilmesini sağlar. Büyük bölümü hemoglobinin parçalanması sonucu meydana gelen bilirubin, mononükleer fagosit sistemde oluşur ve hepatositlere taşınır. Hepatosit düz endoplazmik retikulumda; suda çözünmeyen bilirubin, glukuronik asitle konjuge edilir ve suda çözünebilir bilirubin glukronid oluşur ve daha ileri aşamada, bilirubin glukronid safra kanalları içerisinde salgılanır (34-36).

2.2.3 Detoksifikasyon Fonksiyonu

Karaciğer vücuda dışarıdan giren ilaç, ksenobiyotik ve çeşitli zararlı maddelerin detoksifikasyonundan sorumlu olduğu gibi, vücutta çeşitli metabolitlerin zararsız hale getirilmesinden de sorumludur.

Protein yıkımından ortaya çıkan amonyak, hücreler için toksik bir maddedir. Karaciğer, amonyağı mitokondriyel ve sitozolik enzimlerce katalizlenen bir takım reaksiyonlarla üreye dönüştürerek idrarla atılmasını sağlar.

Vücutta farklı dokularda sentezlenen hormonları metabolize ederek, atılmaya hazır hale getirir. Hemoglobin yıkımından sonra açığa çıkan bilirubin de karaciğerde glukronik asitle konjuge edilerek suda erir hale getirildikten sonra safra yolu ile vücut dışına atılır (35, 36).

2.3 Karaciğer Hastalıkları

Viral enfeksiyonlar, ilaçlar ve toksinler, safra yolu lezyonları, metabolizma bozuklukları, hipoksi ve tümör gibi pek çok etken karaciğer hastalıklarına neden olabilmektedir.

2.3.1 Hepatitler

Hepatit terimi, karaciğerde viral, toksik, metabolik, farmakolojik bir ajan veya immünolojik bir atak ile oluşan hasarın sonucu meydana gelen hastalık grubunu tanımlamak için kullanılır.

Akut hepatit (AH); altı aydan kısa bir süre devam eder, kronik hepatit (KH); altı aydan uzun süren durumu tanımlar (37-39).

2.3.1.1 Akut Viral Hepatitler

Akut Viral Hepatit (AVH), virüslerin karaciğerde yaptıkları inflamasyon sonucu oluşan akut sistemik bir enfeksiyondur. AVH halsizlik, bulantı, kusma, düşük dereceli ateş gibi sistemik semptomlar ile başlar. Sarılık, birkaç gün içinde başlayıp onuncu günde en üst düzeye ulaşabilir. Bu dönemde idrar koyulaşırken dışkıının rengi de soluklaşır. Sarılığın başlangıcı ile semptomlar azalır, bulgular birkaç haftada geriler ve birkaç ay içinde hasta her bakımdan normale döner. Serum transaminazları normalin 20-30 katı değerlere yükselir. AVH olgularına sebep olan ajanlar; Hepatit A virüsü (HAV), Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV), Hepatit D virüsü (HDV), Hepatit E virüsü (HEV), Hepatit G virüsü (HGV) ve TTV (Transfusion Transmitted Virus)'dir (40). Epstein-Barrvirüs (EBV), Sitomegalo-virüs (CMV), adenovirüs ve enterovirüs gibi virüsler, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hepatite neden olabilirler. DNA virüsü olan HBV dışında, hepatit virüslerinin hepsi RNA virüsleridir.

Virüs etkisiyle karaciğerde nekroz ve hasar oluşur. Hasar şiddetini virüs tipi ve konak cevabı oluşturur (41, 42).

Fulminan karaciğer yetmezliği (FKY); Önceden herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur. FKY olgularının % 60-80'ninde etyolojik ajan belirlenebilmekte, ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise toksin ve ilaçlar oluşturmaktadır. Paramiksovirüs, CMV ve EBV gibi hepatotrop olmayan virüslerde

KY'ye yol açabilmektedir. Hastalarda ağır bir karaciğer yetmezliği tablosu vardır ve prognoz kronik karaciğer hastalığına göre daha kötüdür, fakat geri dönüşümlü olabildiği için sağ kalanlarda iyileşme tamdır (43, 44).

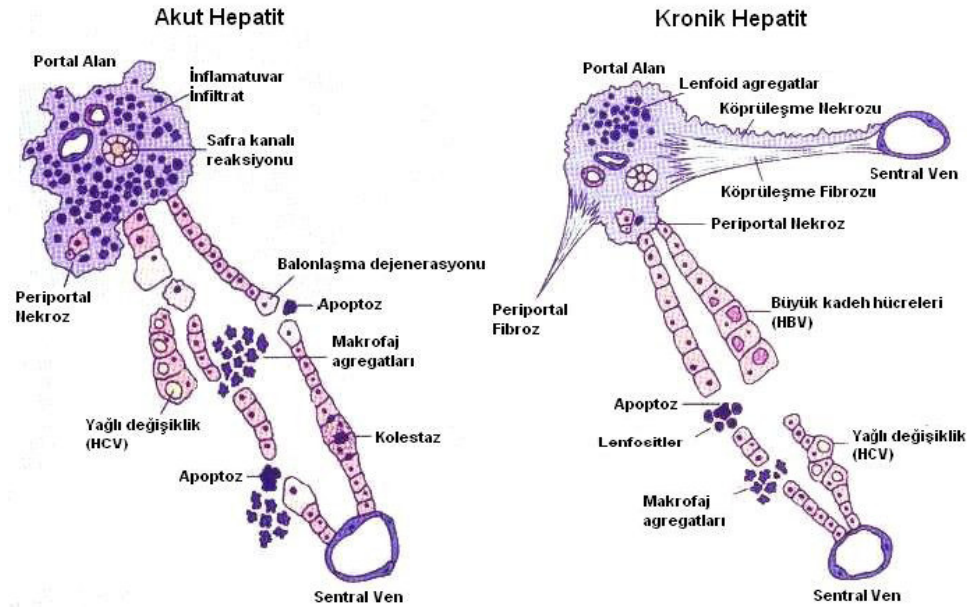
2.3.1.2 Kronik Viral Hepatitler

Karaciğer hastalığının semptomatik, biyokimyasal veya serolojik bulgularının 6 aydan uzun sürmesi kronik hepatit (KH) olarak kabul edilir. HBV, HCV, HDV, HGV virüsü enfeksiyonu, otoimmün nedenlerle ve ilaçlarla KH oluşabilir. Gelişen fibroz genellikle geri dönüşsüzdür; rejenerasyon ile birlikte olduğunda siroza dönüşür (40, 45, 46).

KVH'lerin hepsinin ortak özellikleri şunlardır:

- Portal alanda lenfositlerin ağırlıklı olduğu bir inflamatuvar hücre infiltrasyonu,
- Portal alan-parankim sınırındaki hepatositlerde nekroz (güve yeniği nekrozu) ve bu alanda inflamatuvar infiltrasyon,
- Komşu portal alanları birleştiren nekroinflamatuvar olay ve fibroz,
- Parankimde nekroz odakları (fokal nekroz) (40, 45, 46).

Şekil 2.4 de akut ve kronik hepatitin histopatolojisi gösterilmiştir.



Şekil 2.4 Akut Hepatit ve Kronik Hepatitin Histopatolojisi (47)

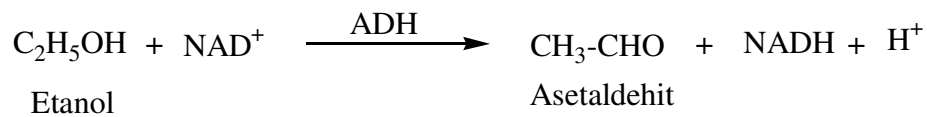
2.3.2 Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığı

Alkolik karaciğer hastalığı, uzun süreli fazla miktarda alkol tüketimine bağlı, şiddeti değişik derecede olan karaciğer hasarı ile karakterize bir tablodur. Aşırı miktarda alkol tüketimi, kişilerde karaciğer yağlanması, alkolik hepatit ve alkolik siroza kadar giden bir klinik spektrum meydana getirir. Ciddi karaciğer hastalığı alkol kullananların yaklaşık % 20'sinde gelişir. Yatkınlığı olan şahıslardaki hazırlayıcı faktörler kesin belli olmamakla birlikte, içilen alkolün miktarı ve süresi en önemli sebeptir (48, 49).

Alkole indüklenen oksidatif stres karaciğerde çok daha fazla etkindir, çünkü alkol metabolizmasının başlıca yeri karaciğerdir. Karaciğer hücresinde alkol metabolizması için üç ana yol bulunur ve bunların her biri farklı bölümlerde yer alır. Alkol metabolizmasında rol oynayan enzimler;

1. Sitozolda yer alan alkol dehidrogenaz (ADH)
2. Endoplazmik retikulumda lokalize olan mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS)
3. Peroksizomlarda lokalize olan katalaz (49).

Stoplazmik bir enzim olan ADH, alkolün, karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalize eder ve alkolün parçalanmasında en etkin rolü oynar (48).



Bu ADH aracılı oksidasyonda, NAD^+ redükte formu olan NADH 'a çevrilir. Bunun sonucunda sitozolün redoks potansiyeli belirgin şekilde değişir. NADH/NAD^+ oranındaki belirgin artış çok önemli metabolik sonuçlar doğurur. Laktat/Piruvat oranı artar. Bu durum laktik asidoza yol açar. Kandaki yüksek laktik asit düzeyi hiperürisidemiye neden olur. Alkol tarafından indüklenmiş ketoz ve artmış pürin yıkımı da hiperürisemiye arttırabilir (50). Artan pürin indirgenmesinin diğer bir olası sonucu, ksantin oksidaz (XO) tarafından ROS'ların üretimidir (49, 51). Artmış NADH/NAD^+ oranı lipogenezin artmasına ve hipoglisemiye neden olur.

Sitrik asit siklusunun aktivitesi azalır. Yağ asidi oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserit sentezi artar. Bu durumda karaciğer yağlanması ortaya çıkar (50).

Asetaldehit de primer olarak mitokondrial bir enzim olan asetaldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından oksidasyona uğratarak asetat ile karbondioksit ve suya çevrilebildiği gibi, sitrik asit döngüsüne girerek yağ asitleri gibi önemli biyokimyasal maddelere dönüşür. Bu sistemde kofaktör olarak NAD^+ kullanılır ve ortamda NADH miktarında artış görülür (52).



Asetaldehit, metabolik olarak son derece reaktif ve toksiktir. Proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Dolayısıyla alkolik karaciğer hastalığı olanların serumlarında genellikle bu antikora rastlanır (49, 52). Hücrelerdeki mikrotübüler sistem asetaldehit etkisiyle bozulur ve protein atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su da tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Asetaldehit, glutatyonun 3 aminoasidinden biri olan L-sistein ile hemiasetal oluşturarak, glutatyon kaybına yol açar. Ayrıca, aldehit oksidaz tarafından okside edilerek, demir varlığında serbest radikal oluşumuna neden olur. Yine serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri olan, MDA ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler oluşturarak sitokrom p450E2 sistemine bağlanır ve hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturur (53, 54).

Alkol metabolizmasında rol alan diğer bir enzim sistemi MEOS, etanolü mikrozomal sitokrom p450 2E1 enzimi tarafından oksidasyona uğratır (48, 50).

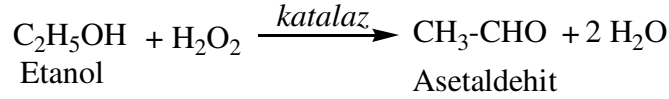


Reaksiyon sonucu bir reaktif oksijen radikali olan H_2O_2 oluşur (50). Bu molekül glutatyon ile nötralize edilmediğinde lipid peroksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranının kalsiyuma geçirgenliği artar, hücre

içinde kalsiyum birikimi olur ve bu olaylar sonucu yağlanmış karaciğerde inflamasyon ve fibroz başlar, sonuç siroza kadar gidebilir (48, 55).

MEOS, alkolün oksidasyonunda rolü çok az olup, ancak yüksek kan ve doku etanol düzeyinde devreye girer. Bu sistemde ortaya çıkan ROS'lar hepatosellüler hasara sebep olabilme yeteneğindedir (48). Hücresel asetaldehit artışı sonucu bu yan ürünün albumin, kollajen ve lipoproteinlerce alkilasyonu hızlanır. Bu yeni kombinasyonlar, neoantijen olarak etki göstererek immun cevaba yol açar ve sonuçta inflamatuvar mekanizmaları başlatır (56).

Ayrıca, katalaz da alkolü okside eden ancak fizyolojik şartlarda alkol metabolizmasında önemli rolü olmayan peroksizomal bir enzimdir (48).



Organizmada etanol metabolizması esnasında meydana gelen artmış lipid peroksidasyonu, ya karaciğerde oluşan peroksidatif sürece bağlı olarak indirek, ya da etanolün dolaşan lipidler ve hücre membranları üzerine direkt etkisinden ileri gelebilir (57, 58).

Aşırı NADH oluşumu, hipermetabolizmaya ve bu olayda doku hipoksisine neden olur. Ortaya çıkan perisentral hipoksi hücre içi laktat miktarında artmaya yol açar ki, bu da fibrozisi tetikleyen bir olaydır (48, 49). Non-parenkimal hücreler, örneğin kupffer hücreleri, endotel ve yağ depolayan stellat hücreleri toksik süreçte ve fibrosiz gelişiminde devreye girerler. Şekil 2.5 de görüldüğü gibi alkol, kupffer hücrelerinden TNF- α , TGF- β ve IL-6 salınımına neden olur. TNF- α , direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden olur, lökosit adherens ve aktivasyonunu tetikler, hepatosit ve kupffer hücrelerinden IL-8 üretimini stimüle ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. TGF- β ve IL-6 da fibrosis gelişiminde rol alır. Asetaldehit, doğrudan stellat hücrelerini aktive ederek kollajen artımına yol açar. İntestinal endotoksinler ve neo-antijen oluşumu kupffer hücrelerini aktive ederek, kupffer hücrelerinden salgılanan TGF- β ile stellat hücrelerinin uyarılmasına neden olur. Diyetteki çoklu doymamış yağlar, lipid peroksidasyonu yaparak ve lipid aldehitleri oluşturarak sitokrom yoluyla serbest oksijen radikallerini artırır, bir

nedeni etyolojisinde alkol bulunmamasına rağmen hastalığın klinik ve histolojik tablosunun alkole bağlı karaciğer hastalığına çok benzerlik göstermesidir. Bu olayın etyolojisinde de serbest radikal hasarı önemli bir rol oynamaktadır. Karaciğere gelen fazla miktardaki yağ asidi, β -oksidasyon süreci ve VLDL oluşumu ile üstesinden gelinebilecek kapasitenin çok üzerindedir ve sonuçta trigliserid halinde depolanma ön plana çıkmaktadır. Ancak alkol hasarında olduğu gibi olay yalnızca yağlanma düzeyinde kaldığında prognoz oldukça iyidir. Prosese serbest radikal hasarı eklendiğinde lipid peroksidasyonu ve NASH tablosu ortaya çıkmakta ve stellat hücrelerin de devreye girmesiyle ilerleyici fibroz tabloya eklenmektedir. Tip II diabetes mellitus, insülin rezistansı ile karakterizedir ve bu nedenle sirkülasyondaki insülin düzeyi yüksektir. İnsülin karaciğerde β -oksidasyon ve VLDL oluşumunu baskımlarken yağ asitlerinden trigliserid oluşumunu arttırmaktadır, yani karaciğer yağlanmasını tetiklemektedir. Bu hastaların çoğunluğunun vücut kitle indeksleri de zaten yüksektir. Ayrıca karbonhidrat metabolizması bozukluğu sonucu sirkülasyonda düzeyleri artan keton cisimleri CYP2E1 sistemini aktive ederek ROS oluşumuna yol açmaktadırlar (62-66).

2.3.4 Siroz

Karaciğer sirozu, karaciğer yapısının yaygın olarak hepatoselüler nekroz, rejenerasyon ile bozularak değişmesi sonucu meydana gelen ilerleyici geri dönüşümsüz bir hastalıktır (67, 68). Hepatositlerin ölümüne yol açan uzun süreçler, fibrozis ve rejenerasyonla birlikte olduklarında siroz ortaya çıkar.

Siroza neden olan başlıca durumlar; kronik viral hepatitler, alkolik karaciğer hastalığı, safra yolu hastalıkları, primer hemokromatozis, Wilson hastalığıdır. Bazı sirozların nedeni idiyopatiktir yani sebebi bilinmemektedir. Ülkemizde karaciğer sirozunun başlıca nedeni viral hepatitlerdir. 1994-1997 yıllarını kapsayan 4 yıllık dönemde, 393 vakalık karaciğer sirozu serisinde, viral hepatitlerin % 60, alkolün % 11, alkol+viral hepatitin % 4, diğer nedenlerin (Otoimmün hepatit, biliyer sirozlar, metabolik nedenler v.b.) % 9 oranında rol oynadığı saptanmış ve % 16'sında herhangi bir neden bulunamamıştır (Kriptojenik siroz). Viral hepatitlerden

HBV'unun katkısı % 42.6, HCV'unun katkısı % 34.5 ve HDV'nun katkısı ise % 15.7 bulunmuştur (68-70).

Sirozun oluşum hızı ve seyri, etyolojiye göre değişiklik gösterir. Alkol kullananlarda siroz, yavaş olarak ve uzun vadede ortaya çıkar. Önceleri karaciğer yağlı ve büyüktür. Yüzeyi düzgün, sarı kahverengi ve yağlı olup kesitinde mikronodüler siroz paterni (1-3 mm çaplı nodüller) görülür. Fibroz artışıyla yağ miktarı azalır ve karaciğer daha kahverengi bir hal alır. İlerleyen dönemlerde karaciğer hücre rejenerasyonuna bağlı olarak dağınık ve daha geniş nodüller gelişir. Skar doku genişler ve makronodüler siroz ortaya çıkar. Karaciğer küçülür ve normal karaciğere göre ağırlığı azalır, hatta 1 kg'ın altına bile inebilir. Skar dokunun oluşumu ve rejenerasyon normal lobül yapısını bozarak ilerler, karaciğer parankimi azalır, fibroz daha da belirginleşir. Hepatositlerde hala bir miktar yağ bulunur ve alkolik hepatite bağlı değişiklikler de eş zamanlı olarak görülebilir (71).

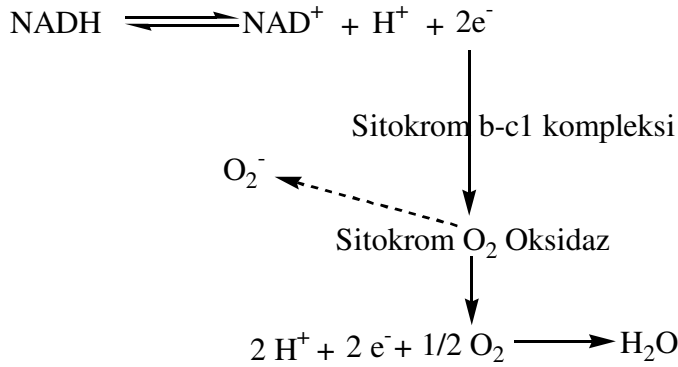
2.4. Karaciğer Hücrelerinin Oksidatif Stresle İlişkisi

Karaciğerde bulunan hücreler; hepatositler, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreler ve safra kanalı epitel hücrelerinin hepsi oksidatif stresle ilişkili hücrelerdir.

1-Hepatosit: Bu hücreler, organizmada yağ metabolizmasının merkezi konumundadırlar. Hepatositlerin oluşturdukları safra tuzlarının teşkil ettiği miçeller sayesinde absorbe olan yağ asitleri, karaciğere gelerek metabolize olmakta veya kahverengi yağ dokusunda trigliserit olarak depolanmaktadır. Sıklıkla yağ içeren bir öğün, karbonhidrat da içermektedir ve bu koşullarda ileride oluşabilecek kıtlığa karşı önlem almak isteyen organizma, karbonhidratları, kas hücrelerinde enerji kaynağı olarak kullanırken, yağ asitlerini de yağ dokusunda trigliserid olarak depolayarak açlık esnasında enerji kaynağı olarak kullanmayı planlamaktadır. Bu arada yağ asitlerinin bir kısmı mitokondride β -oksidasyon sürecine girmekte ve oluşan enerji organizmanın ısısının muhafazasını sağlamaktadır. Açlık durumunda ise yağ dokusundan serbestleşen yağ asitleri karaciğere taşınıp apolipoproteinlerle birleştirilerek, VLDL'ye dönüştürülmekte ve bu yapılar da enerji kaynağı olarak kas

dokusuna gönderilmektedirler. Karbonhidratlarla birlikte alınan yağların bu tarzda tasarruf edilmesinde en önemli rolü oynayan hormon insülin dir. Çünkü insülin bir yandan karbonhidratların kas dokusunda metabolize edilmesini ve karaciğerde glukozun glukojen olarak depolanmasını sağlarken öte yandan hepatositte yağların β -oksidasyon sürecini ve VLDL oluşumunu baskılamakta, ve yağ asitlerinin trigliserid olarak depolanmasını arttırmaktadır (72).

Karaciğer, yağ asitlerinin β -oksidasyonunu gerçekleştiren mitokondrice zengin bir organdır. Mitokondride dış ve iç olmak üzere iki membran bulunmaktadır ve yağ asitlerinin oksidasyonu iç membrana yakın bir bölgede yer almaktadır. Organizmada enerji açığa çıkmasını sağlayan prosesler, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucudur. Bu elektronlar son olarak sitokrom sisteminde oksijene aktarılmakta ve su oluşturulmaktadır. Her iki H_2O molekülü oluşumu için oksijene 4 elektron aktarılmaktadır. Elektron sayısını tamamlayarak nötral hale gelmemiş ve tek elektron ihtiva eden oksijen molekülü, O_2^- (singlet oksijen) serbestleşmesi tehlikeli bir yapıdır ve Sitokrom-c sistemi içinde elektronları tamamlanincaya kadar sıkı bir şekilde tutulmaktadır (72).



Şekil 2.6 Singlet Oksijenin Sitokrom-c Sisteminde Tutulması (72)

Serbestleştiği takdirde bu radikal bulabildiği her sistemden elektron kopartmaya çalışmakta ve özellikle mitokondri ve hücre membranına lipid peroksidasyonu yoluyla hasar vermektedir. Ancak, fizyolojik koşullarda da az miktarda serbestleşen oksijen radikallerini fizyolojik antioksidan savunma, ciddi bir hasar oluşmadan nötralize edebilmektedir (73).

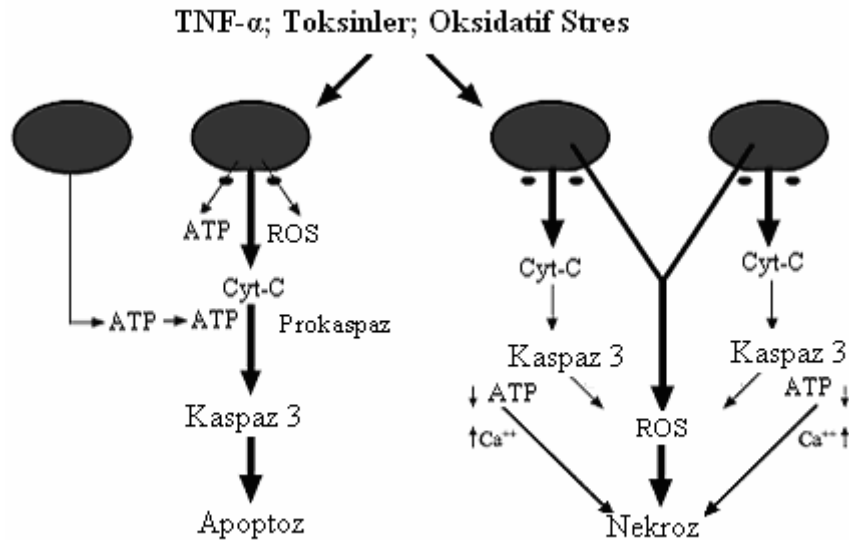
Hepatositteki, serbest oksijen radikalleri (ROS)'nin tek kaynağı mitokondriler değildir. Sitozolda bulunan p450E1 (CYP2E1) mikrozomal oksidasyon sistemi de özellikle fazla miktarda alkol alımında ve ilaç metabolizması esnasındaki indüksiyonla önemli bir ROS kaynağı haline gelebilmektedir. Hepatositin çeşitli nedenlerle strese maruz kalması (alkol, ilaç, hipoksi, viral infeksiyon, immunolojik hasar) halinde serbestleşen oksijen radikalleri, antioksidan savunmanın koruma kapasitesini aştıklarında hücre hasarı ve ölümüne yol açabilmektedirler. Bunun nedeni oksidatif potansiyelin çok güçlü olması olabileceği gibi, antioksidan savunmanın zayıflığı da olabilir (72, 73).

2- Endotel hücreleri: Karaciğer oldukça vasküler bir organ olduğundan endotel hücrelerinden zengindir. Karaciğer, vasküler yapısı açısından özgün bir organdır, çünkü arteriyel sistem yanında, aynı zamanda, venöz bir sistemden (portal ven) de kanlanmaktadır. Portal ven intestinal sistemle, sistemik dolaşım arasında çok komplike bir giriş yeri olan karaciğere karbonhidrat, yağ ve protein yapısındaki yapı taşlarını getirmektedir. Karaciğer aynı zamanda bağırsaklardan gelen ve organizmaya zararlı olabilecek çeşitli kimyasal maddeler (ksenobiyotikler) ve mikroorganizmalar için de kompleks bir filtre görevi yapmaktadır. Hepatositlerin asinüs modeline göre kabul edilen üç alan arasındaki boşluklar, bağırsaklardan gelen makromoleküllerin hepatosite geçişine imkan vermek içindir (73).

Endotel hücreleri de oksidatif hasardan ciddi şekilde etkilenmektedirler. Aslında fizyolojik dozlardaki bazı serbest radikaller karaciğer sirkülasyonunun optimal olarak gerçekleşmesinde yararlıdırlar ve bunların başında NO (nitrik oksit) gelmektedir. Endotel hücrelerinde eNOS (endotelyal nitrik oksid sentetaz) ve kupffer hücrelerinde iNOS (inducible nitrik oksit sentetaz) tarafından üretilen NO karaciğer mikrosirkülasyonun sürdürülmesine hem gerektiğinde vazodilatasyon sağlayarak, hem de kanın şekilli elemanlarının endotel duvarına adhezyonunu engelleyerek yararlı olmaktadır. Ancak serbest oksijen radikallerinin artmasıyla kupffer hücrelerinden fazla miktarda serbestleşen sitokinler, kanın şekilli elemanlarının endotel hücrelerine adhezyonuna yol açarak mikrosirkülasyonu tıkayabilmektedirler. Bu, hepatositlerde iki yönlü zarara yol açmaktadır: Bir yandan hepatositler hipoksiye maruz kalmaktadırlar, öte yandan da endotel hücrelerinin tahrip olmasıyla

önlerindeki bariyerden mahrum kalmaları dolayısıyla immün hücrelerin atağına açık hale gelmektedirler. Alkole bağlı karaciğer hasarında lipid peroksidasyonunun ürünü olan malondialdehit (MDA) ve 4-Hidroksinonenal gibi ürünler, alkol metabolizması ürünü olan asetaldehit ile kompleks yapılar oluşturmaktadırlar. Benzer yapıların ilaç toksisitesi esnasında da oluştuğu bilinmektedir. Deneysel olarak hepatositte hasar oluşturabilecek olaylar zincirini endotel düzeyinde bloke edebilecek tedavi yöntemleri oluşturulmaya çalışılmaktadır (73).

3- Kupffer hücreleri: Kupffer hücreleri sinüsodial alanda yer alan makrofajlardır. Kupffer hücreleri sağkalım faktörü de denilen NF κ b sisteminin merkezidir. Fizyolojik koşullarda bu sistemin aktive ettiği kaskad ile oluşan sitokinler hepatosite, çeşitli zararlı etkenlere karşı savunma sağlamaktadırlar. Ancak bu sitokinler aşırı miktarlarda ve sürekli salgılanmaları halinde, hepatositlerde bizzat hasar nedeni de olabilmektedirler. Bu sitokinlerin başında TNF- α gelmektedir ve hepatositte (mitokondri veya CYP2E1'de) oluşan ROS kupffer hücrelerini uyararak TNF- α oluşumuna yol açmaktadır. TNF- α 'nın mitokondri üzerindeki etkisi şekil 2.7'de özetlenmiştir (74).



Şekil 2.7 TNF- α 'nın Mitokondri Üzerine Etkisi (74)

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

Tek uyaran TNF- α değildir, toksinler ve ROS'un da benzer etkiler gösterdiği bilinmektedir. TNF- α etkisiyle mitokondrial ATP tükenmekte, kaspas sistemi aktive olmakta ve hepatosit apoptoza uğramaktadır. Ancak ROS düzeyi yükseldiğinde kaspaz sistemi aşılma ve nekroz tarzında daha zararlı bir hücre ölümü ortaya çıkmaktadır. Burada MMPT (mitochondrial membrane permeability transition) fenomeni de etkilidir. MMPT mitokondrinin iç ve dış membranları arasında, enerji sarfedilerek korunan elektriksel potansiyelin kaybı anlamına gelmektedir ve sonuç permeabilitenin artması ile mitokondrinin tahrip olmasıdır. Yine oksidatif strese yanıt olarak kupffer hücresi fazla miktarda NO ve TGF- β da üretmektedir. NO bir bakıma oksidatif stresin zararının sınırlanmasına katkıda bulunmaktadır, çünkü serbest oksijen radikallerini bağlamaktadır. Ancak bu bağlanma esnasında oluşan peroksinitrit hızlı bir şekilde yok edilmezse nitrosative stres ve daha sonra lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Deneysel olarak karaciğer toksisitesi oluşturulmadan önce NO oluşumunu bloke eden L-NAME gibi ajanlar kullanılması halinde karaciğer hasarının sınırlanabilmesine karşılık, hasar başladıktan sonra uygulama yapıldığı taktirde tablo ağırlaşmaktadır. TGF- β ise fibroza yol açmaktadır. Hedef hücresi stellat hücredir. Kupffer hücreleri bunun yanında antijen sunan hücre olarak da görev yapmaktadırlar ve hücrel immunitiyi aktive etmektedirler (74-76).

4- Stellat hücreler: Bir deniz yıldızı görünümünde olan bu hücreler, sinüosid duvarında bulunmakta ve yüksek miktarda retinol içermektedirler. Organizmadaki retinol deposunun çok önemli bir kısmı stellat hücrelerde bulunmaktadır. Fizyolojik koşullarda inaktif haldedirler. Kupffer hücrelerinin, örneğin oksidatif stres ile, uyarılmalarıyla ortaya çıkan TGF- β , stellat hücreleri aktif hale getirmekte ve bu hücreler retinol kaybetmektedirler. Aktif stellat hücre disse mesafesine kollajen salgılamaya başlamaktadır. Bu, fibrozun başlangıcıdır, ancak dönüşümsüz değildir.

Son yıllarda stellat hücreler, oksidatif veya başka kaynaklı hasarlanmalarda, sürecin fibroz aşamasını bloke edebilmek için tedavi hedefi haline gelmişlerdir. Bu hücrelerin apoptoza uğratılmasıyla, fibröz doku oluşumunun yavaşlayabileceği, hatta ortadan kalkabileceği düşünülmektedir (31, 77).

5- Safra kanalı epitel hücresi: Safra kanalları başlangıçlarını iki hepatosit arasındaki safra kanalcığından almakta ve birleşerek büyük safra kanallarını oluşturmaktadırlar. Daha sonra ana safra kanalını oluşturarak duodenumun ikinci kısmında sonlanmaktadırlar. Hepatositler tarafından çevrili olan safra kanalcıklarını, safra kanalı epitel hücreleri ile çevrili kanallara birleştiren yapılara herring kanalı denilmektedir ve bu kanallar hepatosit kök hücrelerini bulundurmaktadır. Safra kanalı epitel hücrelerinin hasarıyla karakterize immünolojik hasara örnek hastalıklardan birisi olan primer sklerozan kolanjit de ROS hasarının da rol oynadığı bilinmektedir (30, 78).

2.5 Karbon Tetraklorür ile Karaciğerde Oluşturulan Membran Hasarı

Toksik ajanlar membranı çeşitli yollardan tahrip edebilirler, bunlar genellikle direk olarak membrana temas suretiyle veya membran lipidlerinde peroksidasyona sebep olan serbest radikalleri şekillendirmek suretiyle zedelenmeye yol açarlar. Karbon tetraklorür solventinin intoksikasyonu riski dolayısıyla şekillenen hepatoselüler nekroz çok incelenmiştir. Karbon tetraklorür (CCl_4) membran peroksidasyonunda rol oynar. CCl_4 , membran permabilitesi artar ve özel membran fonksiyonu kaybolur. mitokondriyal monooksijenaz (P4502E1) sistemince metabolize edilir. Metabolizma esnasında öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil (CCl_3^{\cdot}) serbest radikali oluşuktan sonra lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksite (Cl_3COO^{\cdot}) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür. Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur (79-81).

CCl_4 , lipid peroksidasyonu oluşturarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif hasarda, karaciğer stellat hücreleri ve fibroblastları uyarılarak ekstrasellüler matriks ve kollajen sentezini gerçekleştirmeleri sağlanır (11-14). Ayrıca hasarlarla uyarılmış olan Kupffer hücreleri; proinflamator sitokinler, TNF- α ve IL-1h üretimini uyarırlar. Bundan dolayı, oksidatif stresin inhibe edilmesinin yararlı sonuçları olacaktır (1). Bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilir. Karaciğer fibrozu, ekstrasellüler matriks komponentlerinin artması

ile karakterize bir süreçtir. Ekstrasellüler matriksin yapımı ve yıkımı arasındaki denge; oluşan toksik oksijen radikallerine bağlı olarak, matriks yapımı yönünde bozulmaktadır. Yapılmış olan bir çok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (70-72).

2.6 Oksidan–Antioksidan Sistem

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu atom veya molekül ortaklanmamış elektronunu bir başka moleküle vererek veya başka bir molekülden alarak daha kararlı hale gelme eğilimindedir. Bu nedenle serbest radikaller son derece reaktif bileşiklerdir (81-84).

Organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanım sayesinde, fizyolojik aktivitenin doğal sonucu olan serbest radikal nitelikli biyokimyasal ürünleri, oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmayı başarır. Tehlikeli olan durum, radikallerin varlığından daha çok oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin herhangi biri lehine bozulmasıdır (88) .

Organizmaya ani ve aşırı miktarda oksijen girişinin artması; adrenalin ve diğer katekolaminlerin artışı; laktik asit, laktat dehidrogenaz, kreatinin fosfokinaz gibi litik enzim aktivitelerinin yükselmesi; egzersiz, gebelik, yaşlılık gibi fizyolojik haller; kimyasal çevre kirliliğinin yoğun olduğu ortamlarda uzun süre yaşam, yoğun stres, sigara ve alkol kullanımı, diyetle doymamış ve kolay peroksilenebilen yağların fazla miktarda bulunması, antioksidan savunma sistemi yetmezlikleri veya savunma duvarının aşılması gibi durumlarda hassas olan oksidan-antioksidan denge, oksidanlar lehine bozulabilir ki; bu da oksidatif stres oluşumuna neden olur. Bu durum serbest radikallerin oluşumunun artışıyla ya da antioksidan aktivitesinin yetersizliğinden ileri gelebilir (88) .

2.6.1 Oksidan Molekül Kaynakları

1- Biyolojik Kaynaklar: Antineoplastik ajanlar (nitrofrontoin, bleomisin, doxorubicin gibi kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar), alışkanlık yapan maddeler,

çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler), radyasyon ve stres serbest oksijen radikallerinin biyolojik kaynakları içinde yer almaktadır.

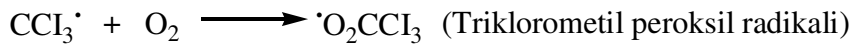
2- İntraselüler Kaynaklar: Küçük moleküllerin (tioller, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinler, hidrokinonlar, antibiyotikler) otooksidasyonu, enzimler ve proteinler (triptofan dioksijenaz, ksantin oksidaz, hemoglobin), mitokondrial elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom p450 ve sitokrom b5 gibi), peroksizomlar (oksidazlar, flavoproteinler), plazma membranı (lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, lipid peroksidasyonu, fagositlerde NADPH oksidaz) ve oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma, intoksikasyon) serbest oksijen radikallerinin intraselüler kaynaklarıdır (89).

2.6.2 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir. Hücre metabolizması sırasında meydana gelen biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkabildikleri gibi, çeşitli dış etkenlerin varlığında da oluşmaktadırlar. Eşlenmemiş elektrona sahip bu molekül veya atom, elektronunu bir başka moleküle vererek veya ondan elektron alarak daha stabil hale gelme eğilimindedir (90-93). Serbest radikaller, vücutta sürekli olarak oluşturulan ve antioksidan savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılan moleküllerdir. Bu dengenin bozulması, serbest radikallerin artmasına ve hücre hasarı oluşturmalarına yol açar. Bu duruma **oksidatif stres** denilmektedir. Biyolojik sistemlerdeki radikaller şu şekilde sınıflandırılabilir (91):

1. Oksijen Kaynaklı Serbest Radikaller: Süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen

2. Karbon Kaynaklı Serbest Radikaller: CCl₄



- 3. Nitrojen Kaynaklı Serbest Radikaller:** Nitrik Oksit (NO) ve fenilhidrazin radikali ($C_6H_5N=N^{\cdot}$)
- 4. Sülfür Kaynaklı Serbest Radikaller:** Tiyol bileşikleri (R-SH) geçiş metallerinin varlığında oksitlenerek RS^{\cdot} radikali oluştururlar.
- $$R-SH + Cu^{+2} \longrightarrow RS^{\cdot} + Cu^{+} + H^{+}$$
- 5. Geçiş Metal Kompleksleri:** Fe^{+3} / Fe^{+2} ; Cu^{+2} / Cu^{+1}
 Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metallerinin de eşlenmemiş elektronu bulunmaktadır. Tam olarak serbest radikal kabul edilmemekle birlikte, bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar.
- 6. Fosfor Kaynaklı Radikaller:** Lipid peroksidasyonuna sebep olarak hepatotoksik etki gösterirler (91).

2.6.3 Reaktif Oksijen Türleri

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest radikallere oksidan moleküller, serbest oksijen radikalleri veya “Reaktif Oksijen Türleri (ROS)” de denilmektedir.

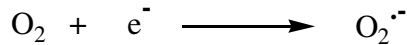
Normal metabolizma esnasında gelişen oksidasyon-redüksiyon olayları sonucunda oluşan reaktif oksijen türevleri biyolojik bir bozukluğa neden olmamasına rağmen; bazı hücrel metabolik bozukluklar nedeniyle (iskemi, inflamasyon, radyasyon, hiperoksi vb.) çok daha fazla miktarlarda üretilmeleri sonucu membranlar, nükleik asitler, enzimler ve polisakkaritler üzerinde değişik derecelerde toksik etki yaparak çeşitli dokularda hasara yol açmaktadırlar. Bunlar, elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşenler (nonradikaller) olmak üzere iki grupta toplanabilir (94, 95) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Radikalik ve Nonradikalik Reaktif Oksijen Türleri (90)

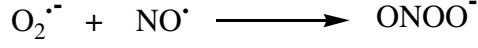
Radikalik Reaktif Oksijen Türleri	Nonradikalik Reaktif Oksijen Türleri
Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikal (OH^{\cdot})	Singlet Oksijen (1O_2)
Peroksil radikal (ROO^{\cdot})	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Alkoksil radikal (RO^{\cdot})	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Organik radikaller (R^{\cdot})	Hipokloröz asit (HOCl)
Organik peroksit radikali ($RCOO^{\cdot}$)	Hipohalöz asit (HOX)
Nitrik oksit (NO^{\cdot})	Azot dioksit (NO_2)
Semikinon radikali (HQ^{\cdot})	Ozon (O_3)
Hemoproteine bağlı serbest radikaller	N- halojenli aminler ($R-NH-X$)

2.6.3.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Biyolojik sistemlerde en fazla oksijen taşıyan primer serbest radikal, kendisinin protonlanmış şekli olan perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) durumundaki süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)'dir. Bu radikalın en önemli kaynağı mitokondri, kloroplast ve endoplazmik retikulum elektron transport zincirinden küçük elektron sızıntılarıdır. Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan $O_2^{\cdot-}$ radikali oluşmaktadır (90, 93, 96).



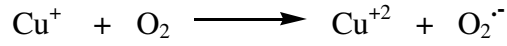
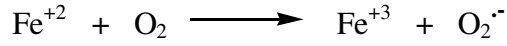
Süperoksit radikali, organizmaya direkt olarak zarar vermemesine rağmen bir hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağıdır ve geçiş metal iyonlarının indirgenmesine neden olmaktadır. Süperoksit radikali ayrıca nitrik oksit ile reaksiyona girerek reaktif bir oksijen türü olan peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturmaktadır.



Böylece NO'nun etkisi inhibe edilir. Peroksinitritlerin proteinler üzerine direkt zararlı etkileri de vardır, ayrıca daha başka reaktif ve toksik ürünlere (azot dioksit (NO_2^{\cdot}), hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) ve nitronyum iyonu) dönüşebilirler (90).

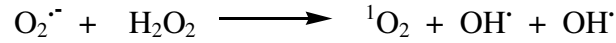
Süperoksit radikalının başlıca kaynakları (96, 97):

1. Elektron transport zincirinden elektron sızıntıları,
2. Aktive fagositleri,
3. Ksantin ve hipoksantin ksantin oksidaz tarafından oksidasyonu,
4. NADPH'nin NADPH oksidaz tarafından oksidasyonu,
5. Dopamin, epinefrin, norepinefrin gibi biyolojik aminlerin otooksidasyonu,
6. Sitokrom p450 tarafından O_2 'nin bir elektron indirgenmesi,
7. Arjinin ve tetrahidrobiopterin bulunduğu zaman eNOS ve nNOS tarafından O_2 'nin bir elektron alarak indirgenmesi,
8. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da $\text{O}_2^{\cdot-}$ meydana getirilebilir.

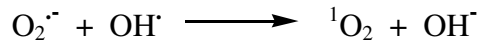


Ortamda biriken $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikallerinin girebileceği başlıca tepkimeler:

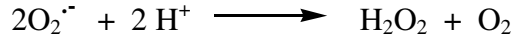
1. Ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) oluşturabilir.
2. H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ve singlet oksijen oluşturabilir.



3. Hidroksil radikali ile tepkimeye girerek singlet oksijen üretimine neden olur (97).

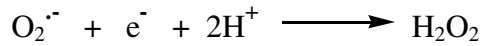
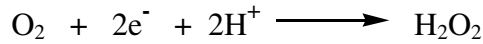


Süperoksit radikali kendiliğinden dismutasyon tepkimesi ile veya bir metalloenzim olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenerek H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşür (98):

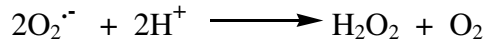


2.6.3.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya $\text{O}_2^{\cdot-}$ nin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2 'yi meydana getirir.

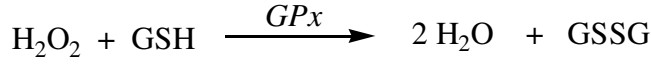
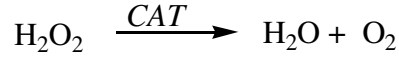


Ancak, biyolojik sistemlerde H_2O_2 'in asıl üretimi $\text{O}_2^{\cdot-}$ nin dismutasyonu ile olmaktadır. Bu dismutasyon spontan olarak veya SOD enzimi aracılığıyla katalizle olabilir:



H_2O_2 gerçekte bir serbest radikal türü olmamasına rağmen, serbest elektron içermesi, serbest hidroksil radikali oluşturabilmesi ve hücrel membranlara kolaylıkla girebilmesi nedeniyle önem kazanmaktadır. H_2O_2 , geçiş metal iyonlarının varlığında kolayca parçalanarak en reaktif ve en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşmaktadır. H_2O_2 , OH^{\cdot} üretmek suretiyle canlı sistemlerde önemli hasarlara sebep olmaktadır (99).

SOD aktivitesi sonucu ortaya çıkan H_2O_2 , katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri ile su ve oksijene dönüştürülür (100).



2.6.3.3 Hidroksil Radikali (OH[•])

Hidroksil radikali; hemen hemen bütün moleküllerle reaksiyona girebilen çok reaktif bir yapı olup, oksidatif strese en güçlü oksidan olarak bilinmektedir. Biyolojik sistemlerde hidroksil radikali birkaç şekilde oluşabilmektedir (99-102).

- 1. Fenton Reaksiyonu:** H₂O₂, Fe⁺² ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek OH[•] radikali oluşur.



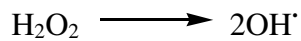
- 2. Haber-Weiss Reaksiyonu :** H₂O₂, O₂^{•-} ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur.



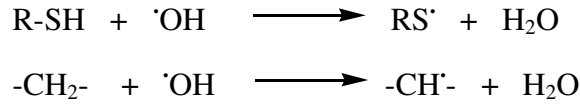
- 3. Suyun yüksek enerjili iyonizan radyasyona maruz kalmasıyla da OH[•] oluşur:**



- 4. H₂O₂ 'nin UV ışığına maruz kalması ile de OH[•] oluşabilir:**



OH' radikali hücrel DNA hasarının oluşumundan ve iyonize radyasyonun membranlara etkisinden sorumludur. Tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına da sebep olmaktadır (90).



Ayrıca lipid peroksidasyon prosesini de başlatmaktadır.

2.6.3.4 Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri arasında yer alan $^1\text{O}_2$ serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. $^1\text{O}_2$ oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucu oluşabileceği gibi, süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir (90, 103).

2.6.3.5 Nitrik Oksit (NO)

Önceleri taşıdığı ortaklanmamış elektronu nedeniyle serbest radikal olduğu için zararlı bir molekül olarak nitelendirilen NO, aslında kan basıncını ve vazodilatasyonu dengede tutan önemli bir moleküldür (104).

NO birçok memeli hücre ve dokusunun fonksiyonlarını düzenlemede rol almaktadır (105). Renksiz bir gazdır. Yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterirken, düşük konsantrasyondaki NO oksijen varlığında dahi stabildir. Havadaki NO, kısa sürede O_2 ile oksitlenerek nitrojen dioksit (NO_2) dönüşür. NO_2 dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. NO'in üzerinde yük taşımaması ve çiftlenmemiş elektron bulundurması, hücreden hücreye hiçbir bariyer ile karşılaşmadan kolaylıkla

geçmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda NO, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle radikal molekül olarak isimlendirilmektedir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlıyken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (106). Her ne kadar NO sinir sisteminin atipik nörotransmitteri olarak tanımlansa da ikincil mesajcı veya hormon olarak kabul etmek daha uygun görünmektedir (107, 108). NO diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma süresine sahip olup 2-30 saniye içinde daha stabil bir yapı olan nitrata oksitlenir (109, 110). NO klasik nöromediatörlerden farklı olarak nöronlarda veziküller içinde depo edilmez, üretilen NO hemen nöron dışına salıverilir ve lipofilik olması nedeniyle salıverildiği hücrenin çevresinde nispeten geniş bir alana yayılır, hücre ve sinir uçlarının içine kolaylıkla girerler (111, 112).

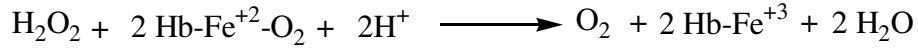
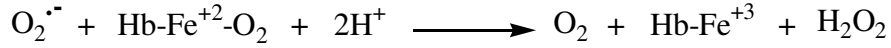
2.6.4 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (113-115).

2.6.4.1 Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında

olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (113, 116, 117).



2.6.4.2 Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (114).

Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabete bağlı komplikasyonların gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (100, 114, 118, 119).

Okzaldehytler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (120-122).

Glukozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalüronik asitin reaktif oksijen türleri ile etkilenmesi ile bağ dokusu stabilitesi bozulur. Hyalüronik asit parçalanması inflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humourunda da bol miktarda hyluronik asit bulunur. Bunun da oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (114, 121).

2.6.4.3 Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksitate ile sonuçlanır (100, 114).

Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarına saldırabilir ve mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (123).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Reaktif oksijen türleri, DNA'nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis, hastalıklar ve yaşlanma da önemlidir (124, 125).

2.6.4.4 Lipidler Üzerine Etkileri

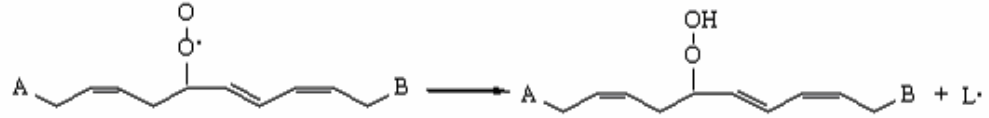
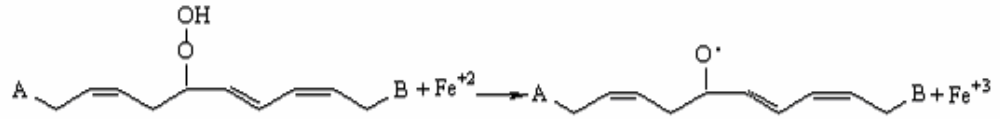
Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonu (LPO)'na neden olarak, bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında ve progresyonunda rol oynamalarıdır. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır. LPO, zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece zar lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. LPO'nun oluşumu başlama, ilerleme ve sonlanma şeklinde 3 aşamada gerçekleşir (Şekil 2.8).

Başlama; redoks katalisti olarak görev yapan Fe^{+3} veya Cu^{+2} gibi geçiş metal iyonlarının varlığında, serbest radikallerin hepsi, LPO'nu başlatabilir. Peroksidasyon, serbest radikallerin, poliansature yağ asidinin metilenik yan zincirinden bir hidrojen atomu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Böylece, yağ asidi zinciri üzerinde

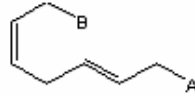
karbon merkezli bir lipid radikali oluşur. Radikal oluşumunu takiben yağ asidi zincirindeki çift bağlar, konjuge dien şeklinde yeniden düzenlendikten sonra, O₂ ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluştururlar (115).

İlerleme; peroksi radikali diğer bir peroksi radikaliyle birleşebilir ya da membran proteinleriyle etkileşebilir. Fakat en önemlisi, bu radikallerin kendilerine komşu yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarını çıkartabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zinciri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir.

Sonlanma; lipid hidroperoksitleri, hem proteinleri veya bazı metal kompleksleri varlığında, siklik peroksitler ya da endoperoksitler üzerinden çeşitli ürünlere yıkılmaktadır. Çoğu, biyolojik olarak aktif olan bu ürünler -OH, -OOH, -COOH veya -CHO grupları içeren kısa zincirli yağ asitleri ile etan ve pentan gibi gazlardır (126).

Başlama**Zincir Tepkimesinin İlerlemesi****Zincir Dallanması****Parçalanma**

Malondialdehit



Parçalanmış Lipit Peroksit

Şekil 2.8 Lipid Peroksidasyonunun Zincir Reaksiyonları (115, 126)

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile son bulur. Oluşan son ürünlerden birisi de kan plazmasında kolaylıkla teşhis edilebilen ve oksidatif stres ölçümlerinde kullanılan malondialdehit molekülüdür.

Lipid peroksidasyonu tepkimeleri sonucunda başta aldehitler olmak üzere çok sayıda ürün oluşmaktadır. Peroksidasyon sırasında oluşan peroksi radikalleri, lipid hidroperoksitler ve bunların yıkım ürünleri, biyomembranlar, subzellüler organeller ve enzimler üzerinde toksik etkilerini gösterirler. Oluşan lipid radikalleri ve MDA gibi peroksidasyon ürünleri aracılığıyla lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda yaygın hale geldiği zaman hücresel yapı fonksiyon hasarları ortaya çıkmaktadır. Yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın

azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyelinin azalması, membrana bağlı enzimlerde (Na^+ ve K^+ ATPaz) aktivite azalması görülür. Çünkü enzimler dahil birçok protein yapısında bulunan serbest tiyol (-SH) gruplarını, disüfitlere (S-S) oksitleyerek, bu bileşiklerin aktivite ya da fonksiyonlarının değişmesine neden olurlar. Lizozomal mitokondriyal membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriği (mitokondrial matris enzimleri, lizozomal enzimler gibi) hücre içine salınır. Normal koşullarda lizozomlar içinde güvenli bir şekilde tutulan lizozomal proteolitik enzimlerin stoplazmaya salınmaları ile hücre içi proteoliz hızlanır, doku hasarı şiddetlenir. Membran geçirgenliğinin bozulması ile protein sentezi için çok önemli olan K^+ , Mg^{+2} konsantrasyonlarının değişerek buna bağlı olarak protein sentezinin inhibisyonu görülür (127).

2.6.5 Malondialdehit (MDA)

Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığından, herhangi bir sitotoksiste ortaya çıkmaz. Ancak bu işleyişin radikaller lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay ortaya çıkar. Organizmada serbest radikal oluşturan doğal olayların başlıcaları, mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyananla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biyosentetik ve biyokimyasal yıkım olaylarıdır. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar (128).

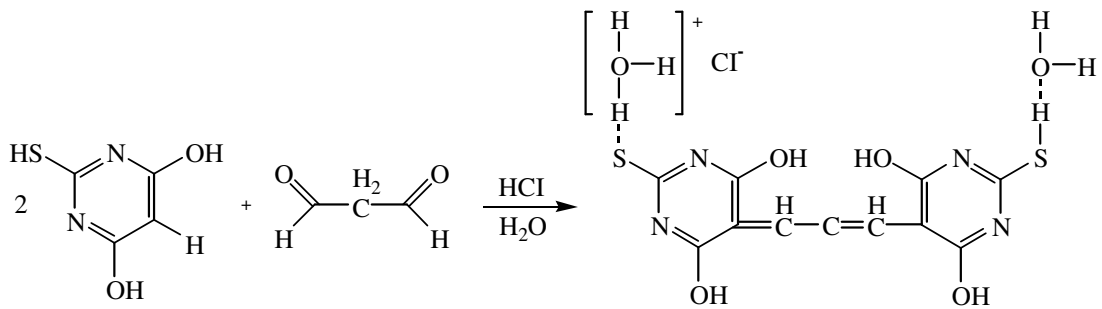
Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkımın daha fazladır. Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipid peroksidasyonu gelişir. Oluşan lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşmesi sonucunda gelişen MDA, oksidatif hasarın, sistemik dolaşımda düzeyi saptanabilen dolaylı bir göstergesidir. Yaşlanma, koroner kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta lipid peroksidasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA doku reaksiyon zincir hızının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA, SOR'nin seviyesinin tespitinde kullanılan önemli bir

gösterge. Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksidin parçalanması sonucu oluşur. MDA, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (127).

Lipid hidroperoksitler doğrudan DNA zincirini kırabilir ve lipid peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da oksidasyona sebep olabilirler. Okzaldehydler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Kanserli hastalarda MDA düzeyleri artarken, antioksidan enzim aktiviteleri artma ya da azalma gösterebilmektedir. ROS'nin yaptığı yıkımın ürünü olan MDA'nın kendisi de mutajen ve potansiyel karsinojen etkilidir (129).

MDA düzeyindeki artmanın karsinomda yetersiz damarlaşmadan meydana gelen nekroz oluşumu ile ilgili olabileceği ve kanser hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin artmasının enzimlerin aşırı ekspresyonuna sebep olabileceği, artmış antioksidan enzim aktivitesinin de hücrelerin kanserojen ajanlara hassasiyeti ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

MDA dışında lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan başka aldehit bileşikleri de mevcuttur. Bunlar sıcak ortamda tiyobarbitürik asitle pembe renkli kromojenler oluşturdukları için, lipid peroksitlerin ölçümünde bu özellikten yararlanılır. Bu bileşiklerin tümüne birden "tiyobarbitürik asit reaktif maddeler" denilir (130).



2.6.6 Vücutun Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak **antioksidanlar** denir (114, 118, 125).

Antioksidanlar, sellüler lokalizasyonları göre intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere sınıflandırılabilirler. Fonksiyonlarına göre de, radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, β -karoten, glutatyon, ürat) antioksidanlar olarak iki kategoride incelenirler. Ayrıca Tablo 2.2 de görüldüğü gibi enzim ve enzim olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar şeklinde de sınıflandırma yapılmaktadır (114).

Tablo 2.2 Enzimatik ve Nonenzimatik Antioksidanlar (114)

Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Glutatyon	Albumin
Glutatyon Peroksidaz (GPx)	Vitamin E	Seruloplazmin
Katalaz (CAT)	Vitamin C	Transferin
Fosfolipid hidroperoksit glutatyon	Karotenler	Ferritin
Peroksidaz (PLGSH-Px)	Flavonoidler	Laktoferrin
Glutatyon –S-transferaz (GST)	Ürik Asit	Melatonin
Glutatyon redüktaz (GSSG-R)	Bilirubin	Sistein

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler. Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler (114, 118, 120).

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.

2. Hidroksil (OH[·]) radikali yapısında yer alan hidrojen atomları, bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Membran lipidlerine direk etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni (¹O₂) baskılayabilir ya da temizleyebilirler.
4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların ve/veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda LPO'nun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç için ve hem de oluşan lipid peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.
5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GPx, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zinciri kırabilirler yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar içinde fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olanı α -tokoferol yer almakla birlikte başka zincir kırıcı antioksidanlar da vardır.

Bir oksidatif zincirde antioksidanlar, farklı basamaklarda etki gösterirler. LPO'nu yukarıdaki mekanizmalardan ilk dört tanesi ile önleyenler "koruyucu antioksidanlar" olarak kabul edilmektedir. Dördüncü mekanizma ile etki edenler reaksiyon sırasında tüketilemezler. Beşinci mekanizma ile etki eden antioksidanlar ise koruyucu olmakla birlikte reaksiyon sırasında kimyasal karakterlerine göre, tüketilebilir ya da tüketilemezler. Altıncı mekanizma ile etki eden zincir kırıcı antioksidanlar ise zincir uzama reaksiyonlarına neden olan radikallerle kompleks yaptıklarından kırma reaksiyonu sürecinde tüketilirler. Antioksidanların pek çoğu tek bir mekanizma üzerinden etki etmez, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturur. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilirler. Ancak hiperoksi, iskemiden sonra reperfüzyon, dokularda reaktif oksijen radikalleri oluşturan ksenobiyotiklere maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive edilmiş nötrofillerle diğer

fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlar oksidan/antioksidan dengesinin bozulmasına, antioksidan mekanizmaların tükenmesine ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliğinin artmasına bağlı olarak hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar (114, 119, 122, 131).

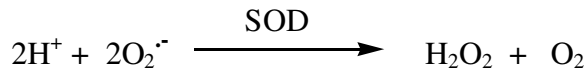
Antioksidanlar, yiyecek katkıları olarak, hücresel komponentler veya plazma bileşenleri olarak çok önemli rol oynamaktadırlar. Çok sayıda yiyecek katkıları günümüzde koruyucular, antioksidanlar, renk vericiler, tatlandırıcılar, koyulaştırıcı ajanlar, besleyici olmayan şekersiz tatlandırıcılar olarak kullanılmaktadır. Yiyecek katkısı olarak kullanılanların bazılarının yasaklandığı ve bunların mutajenik, karsinojenik ve toksik etkili olduğu belirtilmiştir (132).

Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında; yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (133).

2.6.6.1 Enzimatik Antioksidanlar

2.6.6.1.1 Süperoksit Dismutaz (E.C.1.15.1.1)

Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyon gören en önemli enzim süperoksit dismutaz'dır. Bu enzim iki süperoksit molekülü arasındaki dismutasyon reaksiyonunu katalizler (98, 134).



SOD'un tüm formları çekirdekte kodlanır. Hedef edinilen hücre içi bölgeye amino terminal hücre zinciri ile taşınır. Prokaryot hücreler ve birçok ökaryotik algler Mn-SOD ve Fe-SOD izozimlerini içerir (135, 136).

SOD enzimi kofaktör olarak içerdikleri metal iyonlarına göre 3 gruba ayrılır;

Bakır ve Çinko İçeren Dismutazlar (Cu-Zn-SOD): Bakır içeren bu mavi yeşil protein ilk defa büyükbaş hayvan kanından izole edilmiş **haemocuprein** olarak

isimlendirilmiştir. 1953 yılında benzer protein at karaciğerinden izole edilmiş **hepatocuprein** olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraları bu gibi enzimler beyinden de izole edilmiş ve **cerebrocuprein** denilmiştir. 1970 yılında eritrositte bakıra ek olarak çinko içeren bir protein daha bulunmuştur. İlk olarak bu proteinlerin hiçbir fonksiyonu olmadığı metal depo ettikleri düşünülmüştür. Fakat 1968 yılında McCord ve Fridovich bu eritrosit proteininin katalitik olarak süperoksit radikalini uzaklaştıran faaliyet gösterdiğini bulmuş ve onu süperoksit dismutaz olarak adlandırmıştır. Şimdiye kadarki çalışmalar değerlendirildiğinde SOD enzimlerinin süperoksit radikalini süpürmek için spesifik olduğu bilinmektedir (100).

Ökaryotlarda bakır içeren SOD iki ayrı alt birimden oluşmuştur. Alt birimler birbirlerine tek disülfid bağı ile bağlanır. 32.000 molekül ağırlığındadır. Enzimin etkinliği için bakır mutlaka gereklidir. Zn^{+2} ise Co^{+2} ve Cd^{+2} ile yer değiştirebilir. Dismutazyonda bakır ile $O_2^{\cdot-}$ radikali arasında etkileşim vardır. Siyonid, enzimin yapısındaki çinkoya bağlandığından enzim siyonide duyarlıdır. Mitokondri matriksi dışında ökaryotik hücrenin her organelinde bulunan dismutazdır. Tüm ökaryotik hücrelerde bulunur. Prokaryotik hücrelerde bulunmazlar (137).

SOD uzaysal bir yapıya sahip olup dış mekandaki bakır atomlarının aktif katalitik merkezi oluşturduğu, iç mekandaki çinkonun enzimatik aktivitede rolü olmadığı bilinmektedir (138).

Mangan İçeren Dismutazlar (Mn-SOD): Bu süperoksit dismutaz ilk olarak E. coli'den izole edilmiştir. Cu-Zn-SOD'dan tamamen farklı olup pembe renklidir. Siyanid veya dietilditiokarbamat ile inhibe edilmez, molekül ağırlığı 40.00 dir ve iki alt birimden oluşmuştur. Kloroform veya etanol ile muamele edildikleri zaman denaturasyona uğrarlar. Aktif merkezlerinde Mn bulunur. Mn-SOD, Cu-Zn-SOD gibi $O_2^{\cdot-}$ 'yi süpürme reaksiyonlarını katalizler. Cu-Zn-SOD'dan farklı olarak Mn-SOD'ın alkali pH'da oran sabitesi azalır. Böylece dokularda yüksek pH'da SOD aktive tayinlerinde Mn-SOD miktarı Cu-Zn-SOD'a nispeten az görülür. Mn-SOD deterjan gibi kimyasallar veya sıcaklığa bağlı denaturasyona karşı Cu-Zn-SOD'dan daha yatkındır (100).

Mitokondri Mn-SOD dismutazı prokaryotların Mn-SOD dismutazına benzer. Ancak 80.000 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Mitokondri ve diğer prokaryotların dismutazları pek çok ortak özellik yanında primer yapıları da birbirine

çok benzer. Mitokondri dismutazlarının bu özelliği mitokondrinin prokaryotik orjinli olup ökaryotik hücre içine girerek simbiyotik bir yaşam oluşturduğuna kanıt olarak kabul edilir. Aynı tepkimeyi katalizlemeleri dışında Mn-SOD ile Cu-Zn-SOD arasında hiçbir ortak yapısal özellik yoktur. Hem mitokondrial hem de sitozolik enzimdir (137-140).

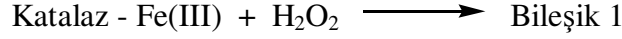
Demir İçeren Dismutazlar (Fe-SOD): Bazı bakteriler birden çok SOD içerirler. Bunlardan biri tüm prokaryotlarda bulunan Mn-SOD olup, hücre stoplazmasında bulunur. Bazı bakteriler periplazmik bölgelerinde demir içeren bir SOD daha bulundurur. E. coli bakterisinden 3 enzim daha purifiye edilebilir. Bunlardan biri Mn-SOD dur. Diğeri demir içeren enzim Fe-SOD'dur. Üçüncüsü E.coli SOD hibrit enzimi olup, aynı dimerik molekülde mangan ve demir subüniteleri içerir. Fe-SOD ve Mn-SOD E. coli'de hücre matriksinde bulunur. Fe-SOD kofaktör dışında Mn-SOD'a benzer. Mikroorganizmalarda matriks enzimin (Mn-SOD) endojen O_2^- radikallerine, Fe-SOD'un ise çevreden gelen radikallere karşı koruyucu fonksiyon gördüğü kabul edilmektedir (100, 137).

2.6.6.1.2 Katalaz (E.C.1.11.1.6)

Katalaz enzimi yapısında dört adet hem grubu içeren alt ünitelerden oluşmuş kompleks bir hemoproteindir. Yapısında prostetik grup olarak Fe^{+3} içeren bir protoporfirin IX bulunur. Her alt birime bağlı bir molekül NADPH vardır. Her bir alt birim yaklaşık olarak 6000 dalton civarında bir molekül ağırlığına sahiptir. Katalazların subünitelerine parçalanması aktivitelerinin kaybolmasına neden olur. Bu parçalanma depolanma ile enzimin asit veya alkaliye bırakılmasıyla olabilir.

Katalaz, sitokrom sistemi içeren tüm hücrelerde bulunur (90, 141). Aerobik canlılar katalaz içerse de bakterilerden örneğin *Bacillus popilliae*, *Mycoplasma pneumoniae*, alglerden *Euglena* katalaz içermez. Anaerob canlıların büyük bir çoğunluğu katalaz içermez. Hayvanlarda katalaz vücudun tüm organlarında toplanmıştır. Fakat karaciğer ve eritrositlerde fazla miktardadır. Beyin, kalp ve iskelet kası az miktarda katalaz içerir, fakat kaslar arasında ve aynı kasta başka bölgelerde bile aktivitesi değişir.

Katalazın en önemli görevi H_2O_2 'in enzimatik yıkımıdır. Ancak H_2O_2 konsantrasyonu düşük olduğunda katalaz, etil ve metil hidroperoksitleri gibi küçük molekülü elektron vericilerini indirgemekte (peroksidatik aktivite), büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine karşı etkili olamamaktadır. Katalazın etki mekanizması aşağıdaki gibidir (100, 142).

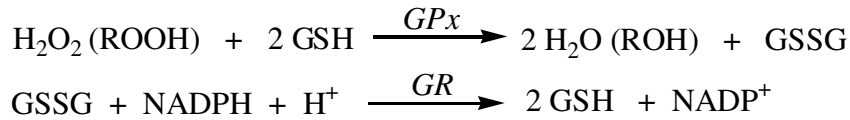


Katalaz stoplazmada % 20, peroksizomlarda % 80 oranında lokalize olmuştur (143).

2.6.6.1.3 Glutatyon Peroksidaz (E.C.1.11.1.9)

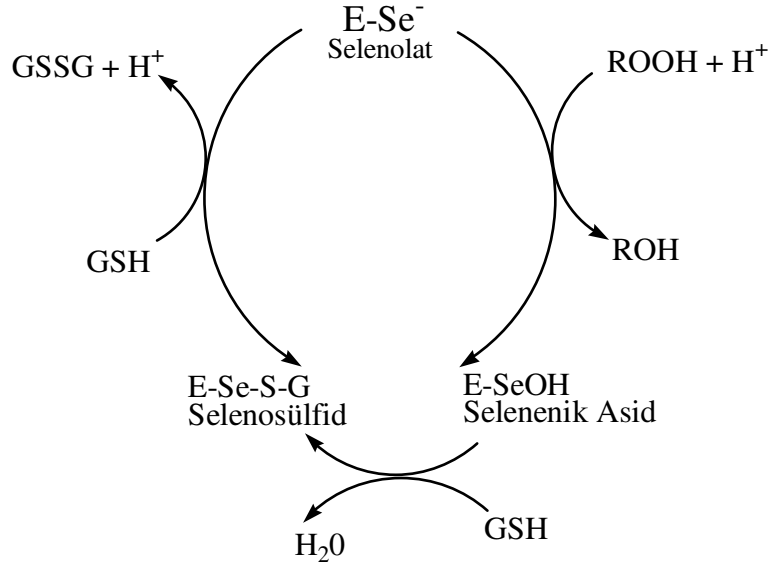
Glutatyon peroksidaz enzimi ilk kez 1957 yılında Mills tarafından hayvan dokusunda keşfedilmiştir. Genellikle yüksek bitkilerde ve bakterilerde bulunmamasına karşın bazı alglerde ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (85, 144).

GPx'ler selenyum-bağımlı GPx'ler ve selenyum-bağımsız GPx'ler olarak iki gruba ayrılabilir. Birincisi, aktif bölgesinde selenosistein formunda kovalent bağlı selenyum içeren selenyum-bağımlı GPx'dir. Selenyum-bağımlı GPx'ler, H_2O_2 ve organik hidroperoksitleri indirgeyebilir. H_2O_2 dahil çeşitli hidroperoksitlerin yıkımını GSH'nin oksidasyonu yoluyla katalizler. Okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz (GR) enzimi aracılığıyla tekrar GSH'a indirgenir.



Enzimin diğer tipi ise, katalizleme işlemleri için selenyuma bağlı olmayan proteinlerden oluşur ve H_2O_2 e karşı ihmal edilebilir bir aktivite gösterir. Bu grup enzimler glutatyon S-transferaz (GST) olarak adlandırılır ve elektrofilik bileşikler ile GSH'nin konjugasyonunu katalize eden proteinler olarak tanımlanır (85).

Selenyum-GPx, her ünite aktif bölgesinde bir atom selenyum elementi içeren dört protein alt ünitesinden oluşur. Molekül ağırlığı yaklaşık 85.000'dir. Sitosol ve mitokondride bulunur. Se elementi selenosistein şeklinde olup, normal sisteindeki sülfür yerine Se bulunur (R-SH yerine R-SeH). GSH, enzim içerisindeki selenyumunu indirger ve indirgenmiş enzim H_2O_2 ile reaksiyon verir. Selenyum-GPx enziminin katalitik döngüsü şekil 2.9 da gösterilmiştir. Selenyum-GPx'in selenolat formu (E-Se⁻) peroksid substratını (ROOH) alkole indirgerken, kendisi okside aside dönüşür (E-Se-OH). GSH bu devrede reaksiyona katılarak selenosülfidi oluşturur (E-Se-S-G). İkinci bir GSH'nin selenosülfide bağlanması ile enzim aktif formu olan selenolat formuna dönerken GSH da GSSG'a okside olur (85, 145).



Şekil 2.9 Selenyum-GPx Enziminin Katalitik Döngüsü (145)

Selenyum-GPx enzimi, karaciğerde yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta ve kasta düşük aktivitede bulunur. Karaciğerde sitosolde ve mitokondride yerleşmiş olarak bulunur (146).

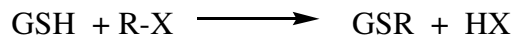
Selenyum-GPx'dan başka, fosfolipid peroksid GPx enzimi (PL-GPx) vardır ve molekül ağırlığı 20.000'dir. Bir selenyum atomu ihtiva eden sitosolik bir enzim olup membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger. Membranlara bağlı en önemli antioksidanlardan olan E vitamini yetersiz olduğu zaman membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (85, 90, 147).

2.6.6.1.4. Glutasyon S-Transferaz (E.C.2.5.1.19)

Glutasyon S-transferazlar bazı aktivasyon reaksiyonları dışında çok geniş bir alandaki kimyasal grupların detoksifikasyonunda yer alan bir multigen enzim ailesidir. GST'ler elektrofilik substratlar üzerine GSH'nin nükleofilik atağını katalizleyerek bunların hücrel makromoleküller üzerine olan reaktifliklerini azaltmaktadır. Bu enzimler bitki, hayvan ve bakterileri kapsayan hemen tüm canlı türlerinde bulunmaktadır. Küçük bir mikrozomal GST ailesi ve GST kapa olarak tanımlanan mitokondriyal bir GST dışında GST'lerin büyük kısmı çözülebilir enzimlerdir. İnsanda ve rodentlerde karaciğer total çözülebilir proteinlerin yaklaşık % 4 'ünü oluşturmaktadır. Kesin fizyolojik rollerinin tanımlanmamış olmasına karşın α - β -ansatüre ketoprostaglandinler ve 4-hidroksi-2-nonenal gibi endojen yağ asiti oksidasyonu ürünleri belirli GST'ler için substrat olmaktadır.

Çözünebilir formları her bir alt ünitesi yaklaşık 25 kD ağırlığında olan dimerik proteinler halinde bulunmaktadır. Dimerik enzimin her bir alt ünitesi iki farklı fonksiyonel bölgeden oluşan bir aktif bölgeye sahiptir. Fizyolojik G bölgesi ve yapısal olarak farklı elektrofilik substratların bağlanması için hidrofobik bir ortam sağlayan komşu bir H bölgesi. G bölgesi yüksek GSH spesifikliğı nedeni ile bütün GST'lerde oldukça benzerdir; fakat H bölgesi farklı GST'ler arasında tamamen farklı olabilir ve oldukça geniş bir substrat bağlanma spesifikliğıne sahiptir (148).

GST'ler



Şekildeki genel bir reaksiyonu katalizlemektedirler. Enzimin fonksiyonu:

1. Proteinin aktif merkezinde hem GSH hem de elektrofilik substratın bağlanması ile GSH ile substratın yaklaşmasını sağlamak,
2. GSH üzerindeki sülfidril grubunu aktive ederek elektrofilik substrat üzerine GSH'nin nükleofilik atağını sağlamaktır (148).

Glutasyon S-transferazlar merkaptürik asit biyosentezinin başlangıç reaksiyonlarına aracılık etmektedirler. Merkaptürik asit biyosentezi başlangıçta GSH konjugatı ile başlayan ve sonra γ -glutamil transpeptidaz (γ -GT; EC 2.3.2.2) tarafından glutamik asidin uzaklaştırılması ile sonuçlanan, sisteinil-glisin konjugatının oluşumu ile devam eden birkaç basamaktan oluşmaktadır. Bu reaksiyonu glisinin uzaklaştırılması ile sisteinil S- konjugatının yani pre-merkaptürik asidin oluşumu izler. N-asetiltransferazlar tarafından sisteinil S-konjugatının asetilasyonu-merkaptürik asit oluşumu ile sonuçlanır (149).

Çok sayıda kimyasal GST'ler için substrat olabilmektedir. Birçok epoksit karsinojen GST'ler tarafından detoksifiye edilir ve spesifik izoformların tanımlanmalarındaki farklılıklar hedef organ ve türlerin duyarlılıklarının belirlenmesinde önemli olabilmektedir. Klorlanmış nitrobenzenler (1-kloro-2,4-dinitrobenzen, CDNB; 1,2-dikloro-4- nitrobenzen, DCNB) hemen tüm GST'ler için standart substratlar olarak kullanılmaktadır.

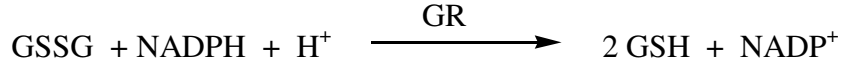
Substratların elektrofilik fonksiyonel merkezleri karbon, nitrojen veya sülfür olabilmektedir. Elektrofilik bileşik ve GSH'ın sistein rezidüsü arasında GST tarafından katalizlenen tiyoeter bağının oluşumu genellikle suda daha çok çözünebilen ve daha az reaktif olan ürünler oluşturur. Bu nedenle GST reaksiyonları genellikle detoksifikasyon reaksiyonlarıdır. Bununla beraber, etilen dibromür ve metilen klorür gibi haloalka(e)nler için GST aracılıklı GSH konjugasyonu oldukça reaktif ara bileşiklerin oluşumunu sağlayabilir bu nedenle bu reaksiyonlar aktivasyon reaksiyonları olarak rol oynayabilirler (147, 148).

2.6.6.1.5 Glutasyon Redüktaz (E.C.1.8.1.7)

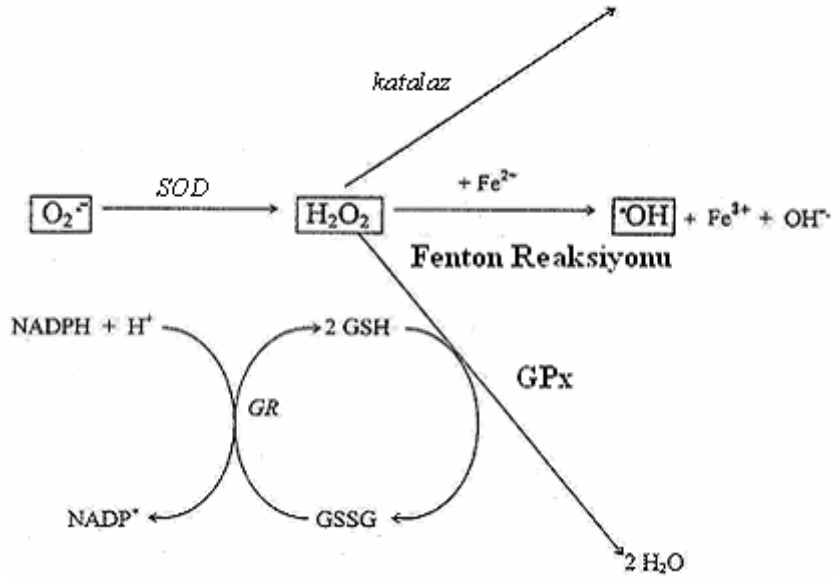
Hücrel GSH düzeyleri, GSH'ın sentezi ve kaybı arasındaki bir steady-state dengesini yansıtmaktadır. Steady-state (sabit durum) dengesi, sistemin tüm parçaları arasındaki dengeyi ifade eder. Bu denge sabitleştirilmiş veya statik değildir. Fakat sistemin fonksiyon gösterebilmesi için değişmeye (denge içinde) fırsat verir. GSH'ın sentezi de novo (kendiliğinden) gerçekleştiği gibi, GR enziminin katalizlediği GSSG'den GSH rejenerasyonu yoluyla da olmaktadır. GR normal koşullarda total GSH havuzunu baskın olarak redükte formda tuttuğu için GSSG ve

GSH arasındaki redoks döngüsü hücresele GSH düzeyleri üzerine genelde önemli bir etki yapmamaktadır. Diğer taraftan yüksek düzeydeki oksidatif ve nitrosatif stres durumunda özellikle GR aktivitesinin genetik bozukluklarla veya kanser ilacı olan 1,3-bis(2-kloroetil)-1-nitrozoüre (BCNU) gibi bir inhibitörün verilmesi ile azalması sunucunda GSH dengesi GSSG düzeyleri lehine hızlı bir şekilde değişmektedir.

Normal hücrelerde GSH'ın GSSG'ye oranı oldukça yüksektir, bu nedenle hücrede oluşan GSSG'nin yeniden GSH'a indirgenmesi zorunluluğu vardır. Bu indirgenme olayı GR enziminin aktivitesi ile sağlanmaktadır.

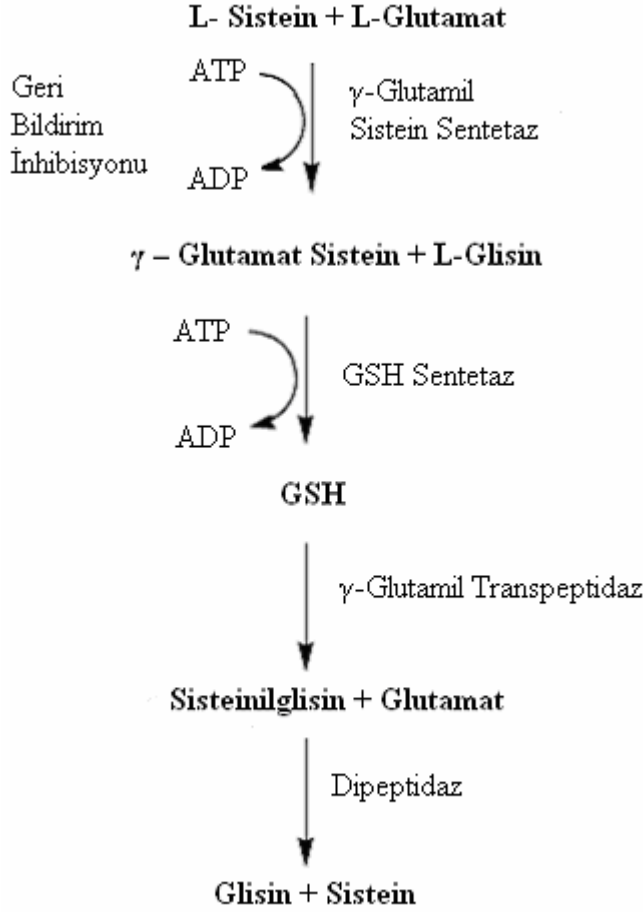


Glutatyon redüktaz her biri aktif merkezinde FAD içeren iki protein alt ünitesinden oluşmaktadır. Enzimin katalizlediği reaksiyon sırasında FAD, NADPH tarafından indirgenir. Bundan gelen elektronlar da enzimin aktif merkezinde GSSG'nin iki sistein rezidüsü arasındaki disülfid bağına (-S-S) taşınır. Bu şekilde iki -SH grubu oluşurken GSSG iki GSH'a indirgenmektedir (85). Şekil 2.10'da antioksidan özellik gösteren enzimler gösterilmiştir.



Şekil 2.10 Enzim Savunma Mekanizması (135, 142, 144)

önemli bir rol oynar (137). GSH aynı zamanda GSH peroksidazlar (selenyum içeren ve diğerleri) için substrat olabilir.



Şekil 2.11 Glutatyon Biyosentezi (151)

GSH'nin eritrositlerin normal hücre yapısının korunması ve hemoglobindeki demirin ferro durumunda tutulması için de gerekli olduğu ileri sürülmektedir. Daha düşük düzeyde indirgenmiş glutatyon içeren hücreler, hemolize daha hassastır. Eritrositlerdeki GSH konsantrasyonu bir çift otozomal allel gen tarafından düzenlenmektedir ve yüksek düzeydeki glutatyonu (GSSH) kontrol eden genin düşük düzeydeki glutatyonu (GSHh) kontrol eden gene karşı dominant olduğu ileri sürülse de temel gen etkisi çevre ve diğer genetik faktörlerin etkisi altındadır. GSH doğadaki en bol ve her yerde bulunan küçük organik moleküllerden biridir. Nerdeyse tüm yaşayan hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan bu endojen antioksidanın önemli fonksiyonel rolleri olduğu birçok defa incelenmiştir. Ksenobiotikler,

karsinojenler, serbest radikaller ve lipid peroksidler gibi birçok endojen ve ekzojen maddelerin detoksifikasyonu, intraselluler metabolizmada ve aminoasitlerin transportunda, protein yapılarının ve fonksiyonlarının korunması, protein sentezinin ve yıkımının düzenlenmesi, oksidatif zarara karşı koruma ve immun fonksiyonun korunması bu rollerinden bazılarıdır. Kanser, diyabet, alkolik karaciğer hastalığı, katarakt, AIDS ve Parkinson hastalığı da dahil olmak üzere bir çok dejeneratif durumun ve hastalığın patogenezinde bozulmuş GSH statüsü gösterilmiştir. GSH'in ayrıca serbest radikallerin genotoksik etkilerine karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmüştür. Oksidatif ve serbest radikaller, radyasyona bağlı mutasyon oluşumu ve karsinogenezde önemli faktör olduğu düşünülmüştür. Glutasyon, GSH peroksidazlar, GSH disülfat redüktazlar ve yardımcı NADPH saptayıcı reaksiyonlar ile beraber hücredeki oksidatif stres ve serbest radikal hasarında savunmada anahtar rol oynar (152).

İndirgenmiş glutasyon (GSH) içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. Glutasyon peroksidazın (GPx) kofaktörlüğünü yaparak, hidrojen peroksidi metabolize eder.

Oksidatif stres sonucunda artan ROS oluşumunun hücre hasarlarındaki etkilerinin detoksifikasyonu, glutasyonun indirgenmiş formunun (GSH) oksitlenmiş dimer formuna (GSSG) dönüşümü ile sağlanmaktadır. Hücre yüksek miktarda oksidana maruz kaldığında, GSSG oluşumu metabolik sınırını aşmakta ve oksidatif stres oluşmaktadır. Detoksifiye olamayan oksidanlar membran lipidlerinin ve hücrenin çeşitli fonksiyonel ve yapısal proteinlerinin bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca GSSG'nin kendisi de, proteinlerin sülfidril gruplarıyla (-SH) reaksiyona girerek kalıcı zararlı etkiler meydana getirmektedir (152). Şekil 2.12'de GSH'ın antioksidan fonksiyonları şematize edilmiştir.

α -tokoferol plazmadaki E vitamininin % 80-90'ını oluşturmaktadır ve dokudaki major E vitamini formudur. Bunun sebebi α -tokoferolun LDL içinde öncelikle reinkorporasyonuna (tokoferol bağlayıcı protein (TBP) yoluyla ve γ -tokoferol'un karaciğerde çabuk yıkılmasına) bağlıdır. Bu yüzden α -tokoferol üstüne daha çok odaklanılmıştır ve E vitamin suplemantasyonun major formudur. α -tokoferol kanda γ -tokoferol'den 4-10 kat fazladır (156, 158).

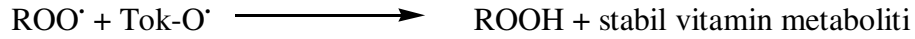
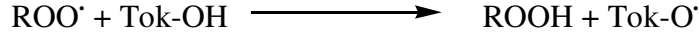
E vitamini doğada yaygın olarak bulunan bir vitamindir. Bitkisel yağlar E vitamini bakımından zengindir. Ayrıca hububat tanelerinin yağ fraksiyonları pamuk yağı, soya yağı, mısır yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlarda ve bunlardan elde edilen margarinlerde, ayrıca orta derecede karaciğer ve yumurtada bulunur. Günlük besinin önemli bir kısmını oluşturan hububat türleri E vitamini içermektedir ve E vitamini besinlerde yaygın olarak bulunur. Günlük gereksinim vücut büyüklüğüne, kişinin fizyolojik durumuna, hatta beslenmede bulunan uzun zincirli yağların oranına göre değişmektedir. E vitamini için önerilen günlük gereksinim erkeklerde 10 mg kadınlarda 8 mg'dır. E vitamini gereksinimi çoklu doymamış yağ asiti alımı arttığı zaman artar (153, 157).

E vitaminin önemli bir özeliği antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir (159). Yani oksijeni bağlayarak, oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerde doymamış yağ asitleri (lineoleik asit ve araşinodik asit gibi) kendiliğinden ya da oksidan metabolitlerinin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipid peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (153, 156). Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamindir.

Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutatyon peroksidaz ve β -karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir. Bütün hücre membranlarının lipidleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. α -tokoferol bu yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur.

E vitamini, hücre ve organellerin membran lipidleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (156).

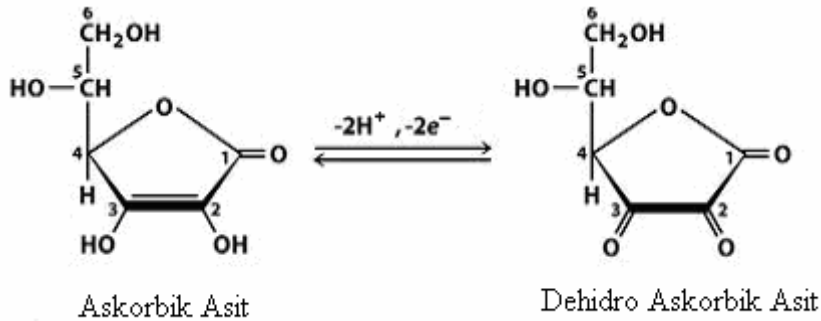
E vitamini lipid peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO[•]) transfer etmek suretiyle antioksidan etkisini aşağıdaki şekilde iki basamakta gerçekleştirir:



E vitamininin bir diğer işlevi de A vitamininin bağırsaktan absorpsiyonunu ve dokulardaki düzeyini arttırmasıdır. Bu durum büyük bir olasılıkla, A vitamininin oksidasyonla kaybının azalmasına bağlıdır (156).

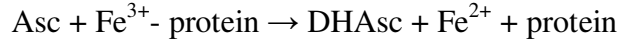
2.6.6.2.3 Vitamin C (Askorbik Asit)

Askorbik asit yapıca, glukoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzeyen, kapalı formülü C₆H₈O₆ olan ve suda çözünen bir vitamindir. Askorbik asit dokularda bir enzimin katalitik aracılığı olmadan bile kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir. Bu özelliği nedeniyle askorbik asit indirgeyici nitelik gösterir; dehidro şekline dönüşmesi molekül başına iki hidrojen atomunun serbest kalmasına neden olur. Dehidroaskorbik asit ortamda iki hidrojen atomu almak suretiyle kolaylıkla askorbik aside indirgenir. Bu kimyasal özelliklerinden dolayı, askorbik asit ve dehidroaskorbik asit vücut sıvılarında denge halinde bulunurlar, birbirlerine kolayca dönüşürler ve böylece redoks niteliği gösterirler.



C vitamini güçlü indirgeyici aktivitesi nedeniyle aynı zamanda güçlü bir antioksidandır (160, 161). Hücre dışı sıvıda bulunan en önemli antioksidan maddedir. Hücrelerin içinde de antioksidan etkinlik gösterir. Süperoksit anyonunu, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikalleri ve singlet oksijeni güçlü bir şekilde bağlayarak işlevsiz kılar. Plazma lipidleri ile yapılan incelemeler, peroksil radikali oluşmasını teşvik eden maddelerin yaptığı lipid peroksidasyonunu baskılayan en önemli plazma komponentinin askorbik asit olduğunu göstermiştir. Böylece biyomembranları ve DNA'yı peroksidatif zedelenmeden koruyabilir. Ayrıca tokoferol'un antioksidan etkinliğini güçlendirir (162).

C vitamininin, ferri demiri ferro demire indirgeyen, süperoksit radikali dışındaki tek hücrenel ajan olduğu düşünülmektedir. Böylece askorbat, aynı zamanda proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırıp Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürdüğünden dolayı serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörüdür (160).



C vitamini organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Epinefrinin tirozinden sentezinde dopamin β -hidroksilaz basamağında, tirozin yıkımında p-hidroksi-fenil piruvatın homogentisata oksidasyonunda ve safra asitlerinin oluşumunda 7 α -hidroksilaz başlangıç basamağında gereklidir. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici rol oynar. Midede ferri demirin ferro demire indirgenip absorpsiyonunda görev alır. Bağışıklık ve yara iyileşmesinde gereklidir (162-164).

2.7 *Matricaria chamomilla* L.



Resim 1. *Matricaria chamomilla* L. Bitkisi

Alem: Plantae

Alt alem :Tracheobionta

Şube: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Altsınıf: Asteridae

Takım: Asterales

Familya: Asteraceae

Cins: Matricaria

Matricaria chamomilla Linnaeus var *pappulose*, Matricaria cinsinin 4 türünden biridir. Mayıs papatyası (*Matricaria chamomilla* L.), ülkemizde adi papatya, hakiki papatya, tıbbi papatya ya da sadece papatya adlarıyla bilinir.

Papatya anavatanı Doğu Avrupa ve Asya'dır. Ancak bu birkaç yüzyıldan beri Orta Avrupa'ya da yayılmıştır. Amerika ve Avustralya'ya ise tahıllarla beraber götürülmüştür. Çok eskiden Chamaemelon adı altında Plinius ve Dioskorides (M.S. 77-79) tarafından, aynı zamanda Arap hekimleri tarafından bilinmekte idi. O zamanlar papatya çiçeklerinden elde edilen yağdan hazırlanan preparatların omalarda

kullanıldığı belirtilmektedir. Bugün dahi mavi yağ diye bilinen papatya yağından ilk defa 1588 de bahsedilmiştir.

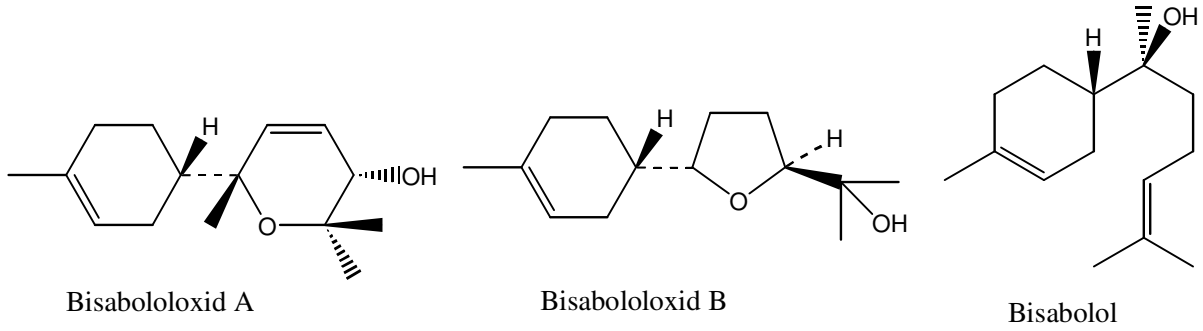
Mayıs papatyası bugün dünyanın birçok yöresine yayılmış bulunmakta ve pek çok ülkede kültürü yapılmaktadır. En fazla üretimi yapılan ülkeler Almanya, Macaristan, Rusya, Belçika, Fransa , İspanya, Yunanistan ve Türkiye'dir (165, 166).

Adi papatya tek yıllık, 60 cm kadar yükseklikte bir bitkidir. Toprağın üst sahasında yayılan ince bir saçak köke sahiptir. Genellikle dik gelişen çok fazla dallanmış sapsızları vardır ve sapsızların içleri doludur. Yaprakları almaşıklı durumda olup 2-3 parçalıdır. Sap uçlarında tek tek bulunan çiçek düğmeleri çiçekleri oluşturmaktadır. Kapitulmun çapı ortalama 18-28 mm arasında değişir. Kalınlığı ise 5-10 mm² dir. Ancak ıslah edilmiş çeşitlerde, özellikle tetraploid tiplerde bunlar daha büyük olabilmektedir. Çiçek düğmesinin tabanı (recep-taculum) konimsi olup içi boştur. Çanak yapraklar (involukru) 20-30 kadar tek sıra halinde dizilmiş, uzunumsu, derimsi, küt uçludur. Papatya'da bir çiçek düğmesinin kenarlarında 12-18 adet beyaz, dışı dil çiçekleri ile çok sayıda 5 köşeli sarı hermafrodit boru çiçekleri ve çiçek tabanı (infloresens) bulunur. Beyaz dil çiçeklerinin sonları 3-4 dişli olup her biri 4 esas damarlıdır. Bunlar genellikle 3-6 mm uzunlukta, 3 mm kadar genişliktedir. Çiçek tabanı genç devrede hafif, daha sonra kuvvetli kubbemsi olup iç kısmı boştur ve buna benzer diğer kompozitelerden önemli bir ayırım farklılığıdır. Dil çiçekleri önce dik olarak açarlar, gelişme ile çiçek tablosunun ortasındaki çiçeklerin gelişimi ile burası yükselir. Drüze tüyleri gelişmenin çok erken devrelerinde oluşur ve zamanla gelişimlerini tamamlarlar. Bunlar şizogen tipi uçucu yağ hücrelerine sahiptir. Papatya'da meyve çok küçüktür. 0,7-1,2 mm uzunlukta 0,3 mm genişliktedir. Rengi sarımsı-gridir (166).

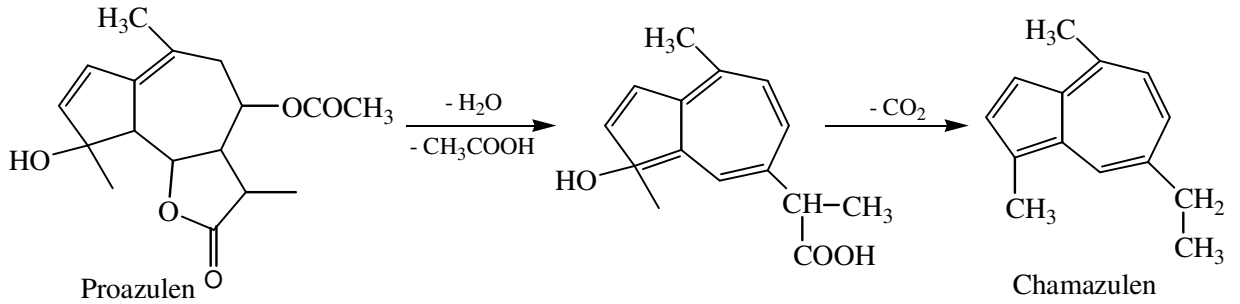
Papatya ovalardan yüksek yerlere kadar hemen her yerde bulunur. Ağır ve hafif topraklarda yetişebilir. Özellikle kireçli toprakları tercih eder. Papatya değişik toprak reaksiyonunda yani asitli topraklardan alkali topraklara kadar yetişir ancak en uygunu pH 7,3-8,1 olan yerlerdir. İyi bir büyüme için sıcak yerler gereklidir. Hafif nemli yerlerde özellikle çok iyi gelişir. Papatya, yetiştiği ekolojik bölgeye yani toprak tipi ve iklim koşullarına göre büyümesi ve içerdiği uçucu yağ oranı değişmektedir. Papatya çiçekleri uçucu yağ içerir. En fazla uçucu yağ boru çiçeklerinde bulunur. Bitki büyümesi esnasında çiçeklerdeki uçucu yağın 2 defa

maksimuma ulaştığı saptanmıştır. Uçucu yağlardan zengin ürünü elde etmek için, hasadın çiçek açmasından 3-5 gün sonra yapılması önerilmektedir. Papatyada en uygun hasat zamanını saptamak için çiçek düğmesinin farklı gelişim devrelerinde ağırlığı, içerdiği uçucu yağ miktarı ve bu uçucu yağda en önemli kısmı oluşturan Azulen oranını bularak uygun hasat zamanını belirlemeye yönelik çalışmalar da vardır (165-167).

Papatyada esas etken madde uçucu yağdır. Papatya uçucu yağı mavi veya mavi-yeşil renktedir. Bu uçucu yağın büyük kısmı (% 65) boru çiçeklerinde, ortalama % 25'i çiçek tabanında ve % 10 kadarı dil çiçeklerinde bulunur. İyi bir papatya drogu su buharı destilasyonu ile % 0,5-1,5 arasında uçucu (eterik) yağ içermektedir. Yağda siklik sesquiterpenler Chamazulen, Bisabolol ile Bisabolonoxidler bulunur.



Chamazulen bitkilerde bulunmaz, ancak destilasyonda renksiz Proazulen (Matrizin) öncül maddesinden meydana gelmektedir. Uçucu yağa mavi rengi chamazulen verir. Bu renkte olmayan yağlar değersizdir. Uçucu yağların ışıktan korunması gerekmektedir (168-171).



Papatya eskiden beri midevi, karın ağrularına karşı, tonik hafif antiseptik ve saç boyayıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yara tedavilerinde dışarıdan lapa şeklinde uygulaması da vardır. Papatyanın sindirime iyi geldiği ve bağırsak mukozasında olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Ülkemizde, tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin belirlenmesine yönelik bir yapılan çalışmada papatyanın, öksürük, akne, karın ağrısı, bağırsak bozuklukları, soğuk algınlığı, astım bronşit gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir. Yaprak ve çiçekleri kaynatılarak elde edilen sıvı ile yapılan gargaranın ağız içi enfeksiyonlara iyi geldiği görülmüştür (172-174).

Gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılan, içerisinde *Mentha piperita*, *Melisa officinalis* gibi bitkilerle beraber *Matricaria chamomilla L.*'nin de bulunduğu dokuz bitkinin etanol ekstraktı olan STW 5'in antioksidatif özelliklerinin incelendiği bir çalışma sonucunda bu bitkisel ilacın dikkate değer oksidan temizleyici olduğu sonucuna varılmıştır (176).

Geleneksel olarak uyku bozuklukları için kullanılan *Matricaria chamomilla L.* ve *Passiflora incarnata*'nın (apigenin ve chrysin gibi flavonoid içerikleri nedeniyle) kıyaslandığı bir çalışmada, *Matricaria chamomilla L.*'nin daha iyi sakinleştirici, rahatlatıcı etkisi bulunmuştur (177).

Matricaria chamomilla L.'nin önemli oranda içerdiği chamazulenin lipid peroksidasyonu ve serbest radikaller üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, chamazulenin lipid peroksidasyonunu engellediği görülmüştür (178).

Matricaria chamomilla L.'nin, yanık yaralarının iyileştirilmesine katkılarının incelendiği bir başka çalışmada, bitki ekstresinin iyileştirmeyi hızlandırıcı iyi bir potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (179).

Hepatitler (sarılık), aşırı dozda kullanılan ilaçlar, çevre kirliliği, artan sigara ve alkol tüketimi gibi nedenler sonucu ortaya çıkan karaciğer hastalıkları dünya üzerinde çok sayıda insanı etkilemektedir. İlaçların yan etkileri de düşünüldüğünde bunların metabolizma yeri olan karaciğer hastalıklarının tedavisinde kimyasal yerine bitkisel yöntemi seçmek daha faydalı görülmektedir.

Canlı organizma serbest radikallerin etkisinden korunmak için antioksidatif korunma sistemine sahiptir. Bazı durumlarda antioksidatif koruyucu sistemin iyi çalışmamasından dolayı, serbest radikallerin vücutta fazlaştığı görülür. Antioksidanlar, hücreye zarar veren serbest radikallerle reaksiyona girerek bunların

başlattığı zincir reaksiyonunu durduran ve böylece vücudumuzdaki hayati bileşenlerin zarar görmesini engelleyen moleküllerdir. Son yıllarda sentetik antioksidanların yan etkilerinin görülmeye başlaması nedeniyle besin kimyası ve koruyucu tıbbın bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara ilgisi artmıştır. Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde alternatif tedavi yöntemleri rağbet görüp yükselen bir değer olmaya başlamıştır. Yaygın olarak hastalığı önlemek ya da çeşitli hastalıkları tedavi etmek için alternatif tıptan (bitkisel ilaç ve çeşitli teknikler) yararlanılmaktadır (15, 175).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Deney Hayvanı

Çalışmada 35 adet 150–200 g ağırlığındaki 3 aylık Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinden temin edildi. Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya laboratuvarında, AKÜ Hayvan Etik Kurulunun 18-07 referans no'lu onayı doğrultusunda gerçekleştirildi. Ratlar, Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde barındırıldı.

Ratlar ortama uyum sağlamaları için Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezine geldikten bir hafta sonra çalışmaya başlandı. Ratların bakımı, 12 saatlik ideal aydınlık ve 12 saatlik ideal karanlık ortamda, uygun sıcaklıkta, rat bakımı için tasarlanmış polipropilen 17x30x42 cm boyutlarındaki özel kafeslerde yapıldı. Her bir kafese yedi adet konan ratların altlarına serilen kaba talaş her gün değiştirilerek, kafeslerde kuru bir ortam oluşması sağlandı. Deney hayvanlarına Afyonkarahisar Yem Fabrikasından temin edilen yem ve su verildi.

3.1.2 *Matricaria chamomilla* L. Ekstresinin Hazırlanması

Çalışma için gerekli olan *Matricaria chamomilla* L., Mayıs ayının üçüncü haftasında toplanarak bir hafta boyunca gölgede, kapalı ortamda, oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra kurutulan *Matricaria chamomilla* L. Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezine getirildi. *Matricaria chamomilla* L. çiçekleri burada öğütücüde öğütüldü. 75 gr öğütülmüş *Matricaria chamomilla* L. çiçeği, 500 ml'lik soxhelet aparatına doldurularak, 1 L'lik balona kaynama taşları konulup balon soxhelet gövdesine bağlandı. Soxhelet'e bir sifon yapana kadar alkol (% 37'lik etil alkol) dolduruldu. Sonra bu işlem tekrarlanıp toplam 1 L alkol konuldu. Soxhelet üstte soğutucuya, altta da ısıtıcı içine yerleştirilmiş balona şilifle bağlandı (Resim 2).



Resim 2. Soxhelet Düzeneđi

Sođutucu ve daha sonra da ısıtıcı açılıp, ekstraksiyona 8 saat boyunca devam edildi. Süre sonunda balondaki ekstre alınarak süzgeç kağıdından süzöldü. Rotary evaporator balonuna alınarak 60 °C su banyosunda (Buchi Heating Bath B-490) rotary evaporatorda (Buchi Rotavapor R-200) vakum altında alkolü uzaklaştırdı. Sulu ekstre kavanozlara aktarılarak derin dondurucuda dondurulduktan sonra liyofilizatöre (Leybold-Heraceus LYO VAC GT 2) konulup suyu tamamen uçuruldu ve bu işlemde 13.26 gr kuru ekstre elde edildi. % verim hesabı yapıldığında verim % 17.7 olarak bulundu. Sonuçta 102.2 gr kuru *Matricaria chamomilla L.* ekstresi (MCE) elde edildi ve cam bir kabın içeşisine yerleştirelerek hava almayacak şekilde kapatıldı.

3.2 Metot

Ratlar çalışma boyunca AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde bir hafta standart yem ile beslenerek gözlem altında tutuldular. Ratlardan vücut

ağırlıklarına göre her biri yedi rattan oluşmak üzere toplam beş grup oluşturuldu. Ratların vücut ağırlıkları başlangıçta ve 14. günde ölçüldü.

Deneyden 24 saat önce tüm ratlar aç bırakıldı (su içmeleri serbest), dışkılarını yemelerini önlemek için kafeslerin altına tel ızgara yerleştirildi. Çalışma grupları aşağıdaki gibi belirlendi.

1. Grup (Kontrol grubu) : Ratlar 14 gün boyunca standart yemle beslenmiştir.

2. Grup (CCl₄ grubu) : Ratlar 14 gün boyunca standart yemle beslenmiş ve ratlara 14 gün boyunca her gün 0,8 ml/kg CCl₄, 0,8 ml/kg sıvı yağ içinde çözülerek intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

3. Grup (CCl₄ ve *Matricaria chamomilla* L. ekstresi): Ratlar standart yemle beslenmiş ve ratlara 14 gün boyunca her gün 0,8 ml/kg CCl₄, 0,8 ml/kg sıvı yağ içinde çözülerek intraperitoneal olarak ve 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi ise suda çözülerek gavajla uygulanmıştır.

4. Grup (CCl₄ ve *Matricaria chamomilla* L. ekstresi) : Ratlar standart yemle beslenmiş ve ratlara 14 gün boyunca her gün 0,8 ml/kg CCl₄, 0,8 ml/kg sıvı yağ içinde çözülerek intraperitoneal olarak ve 100 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi ise suda çözülerek gavajla uygulanmıştır.

5. Grup (CCl₄ ve *Matricaria chamomilla* L. ekstresi) : Ratlar standart yemle beslenmiş ve ratlara 14 gün boyunca her gün 0,8 ml/kg CCl₄, 0,8 ml/kg sıvı yağ içinde çözülerek intraperitoneal olarak ve 200 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi ise suda çözülerek gavajla uygulanmıştır.

3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Deneyler için gerekli olan kan, enjektör yardımıyla hayvanların kalbinden alındı. Kanlar, EDTA'lı cam tüplere alındı. Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) seviyeleri tayinleri hemen gerçekleştirildi. Eritrosit paketleri elde edildikten sonra derin dondurucuda -20 °C de süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayinine kadar saklandı. AST ve ALT tayinleri serum üzerinde gerçekleştirildi. Normal tüplere alınan kan örnekleri oda sıcaklığında bekletildikten sonra santrifüj edilerek tüpün üstünde

toplanan berrak serum numunesi endorf tüplere aktarıldı ve analiz yapılana kadar derin dondurucuda 2 hafta bekletildi.

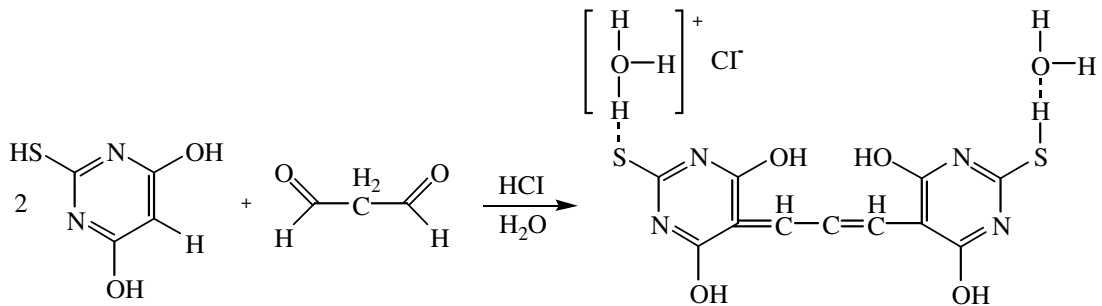
3.2.2 Eritrosit Paketinin Hazırlanması

Deneyle için gerekli olan kan, enjektörler yardımıyla hayvanın kalbinden EDTA'lı cam tüplere alındı. Bir saat +4 °C de bekletildikten sonra 3000 rpm'de +4 °C de soğutmalı santrifujde 15 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma atıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler +4 °C de 2000 rpm'de 8 dakika santrifüj edilerek eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayinine kadar derin dondurucuda (-20 °C) 2 hafta saklandı.

3.2.3 Biyokimyasal Analizler

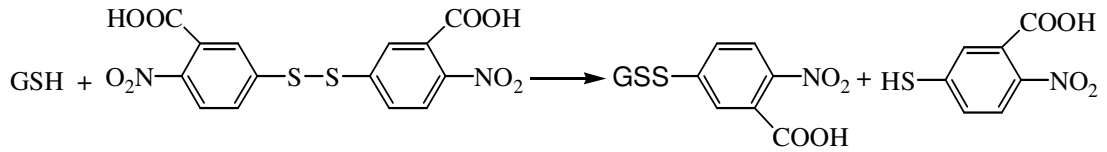
3.2.3.1 Malondialdehit (MDA) Tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri malondialdehittir (MDA). MDA, TBA (tiyobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarında spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/VIS) absorbansı ölçülerek lipid peroksidasyonu tayini yapıldı (180).



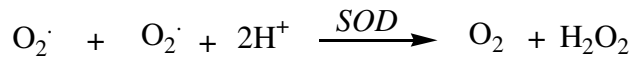
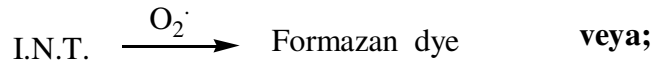
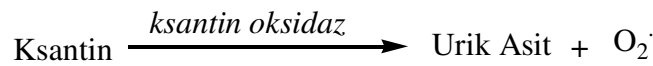
3.2.3.2 Glutatyon (GSH) Tayini

Tüm kandan distile su ile hazırlanan hemolizatın içindeki -SH (sülfidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile proteinler çöktürülüp, süzülerek ayrılır. Redükte glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB (5,5'-2- Dithiobis nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucunda oluşan absorbanı sarı rengin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü (181).



3.2.3.3 Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

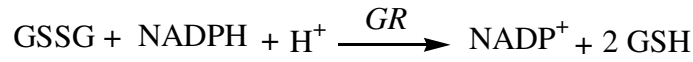
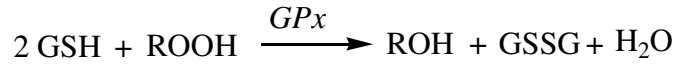
Oksidatif enerji basamağında üretilen toksik süperoksit radikalının, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonu süperoksit dismutaz tarafından hızlandırılmaktadır. Bu metodla ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali, 2-(iyodofenil)-3-(4- nitrofenol)-5-feniltetrazoyum klorür (INT) ile kırmızı renkli forma dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür.



SOD enzim aktivitesi Radox-Ransod enzim kiti ile spektrofotometrik olarak (505 nm) ölçüldü. Analiz materyali olarak önceden hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda bekletilen eritrosit paketi kullanıldı. Eritrosit paketinden alınan numune üzerine eklenen ayıraçlar karıştırılarak ilk absorban A_1 30 sn sonra ve son absorban 3 dakika sonra okunarak hesaplandı (182-184).

3.2.3.4 Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini

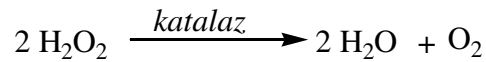
Glutatyon peroksidaz, kümen hidroksidin ile indirgenmiş glutatyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutatyon redüktaz (GR) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) bulunursa yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir.



Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti kullanılarak spektrofotometrede ölçüldü. Analiz materyali olarak önceden hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda bekletilen eritrosit paketi kullanıldı. Analiz için eritrosit paketinden alınan numune üzerine eklenen maddeler karıştırılarak, örnek ve körün absorbansları 340 nm'de 1 dakika sonra okundu. İkinci ve üçüncü dakikalarda da absorbanslar okunarak kaydedildi (185).

3.2.3.5 Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini

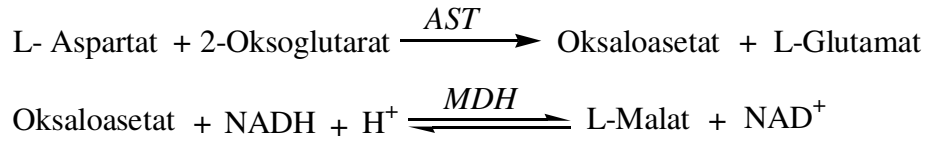
Katalaz enzim aktivite tayini Aebi yöntemine göre yapıldı (186). Numunede mevcut katalaz enzimi substrattaki H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalamaktadır. Bu durum spektroskopide 240 nm dalga boyunda absorbans azalmasına neden olmaktadır.



Analiz materyali olarak önceden hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda bekletilen eritrosit paketi kullanılmıştır. Absorbans azalması numunede mevcut enzim miktarıyla doğru orantılıdır. Absorbans değerleri 0. sn ve 15. sn okunarak katalaz miktarı tayin edilmiştir.

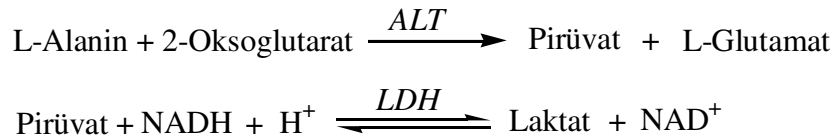
3.2.3.6 Aspartat Aminotransferaz (AST) Enzim Aktivite Tayini

Serumda AST enzimi, reaksiyon sonunda meydana gelen oksaloasetatın NADH varlığında L-Malata dönüşmesi esnasında, NADH'ın NAD⁺'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış ticari kitler ile spektrofotometrede 340 nm de, 1., 2. ve 3. dakikalarda absorbanları ölçülerek tayin edildi (187-189).



3.2.3.7 Alanin Aminotransferaz (ALT) Enzim Aktivite Tayini

Serumda ALT enzimi, reaksiyon sonunda meydana gelen pirüvatın, NADH varlığında laktata dönüşmesi esnasında, NADH'ın NAD⁺'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanan metoda göre hazırlanmış ticari kitler ile spektrofotometrede 340 nm de, 1., 2. ve 3. dakikalarda absorbanları ölçülerek tayin edildi (187-189).



3.3 İstatistik Analizler

Verilerin istatistik analizleri, SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada elde edilen veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edildi ($X \pm SD$). Gruplara varyans analizi (ANOVA) Tukey post testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlendi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi (190).

4. BULGULAR

Çalışma sonunda ratlardan alınan kan örneklerinde alanin transaminaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) enzim aktivite düzeyleri belirlendi. Ayrıca çalışmaya başlamadan önce ve çalışma sonunda rat ağırlıkları da ölçülerek kaydedildi. Bu değerler yardımıyla her grup için hesaplamalar yapılarak standart sapmaları bulundu. Çalışma gruplarına ait bulgular tablo ve grafiklerde de gösterilmiştir.

4.1 Rat Ağırlıkları

Gruplara ait vücut ağırlıkları Tablo 4.1 ve Grafik 4.1 de verilmiştir. Grup I'den elde edilen rat ağırlıkları; başlangıçta 210.875 ± 2.59 g, 14.günde 214.750 ± 5.31 g olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı grupta geçen süre içerisinde istatistiksel önemde farklılıklar tespit edildi. 0. gün ile 14. gün arasında ($P>0.05$) istatistiksel fark gözlemlendi.

Grup II'de çalışma süresince rat ağırlıkları; 0. günde 203.667 ± 3.14 g, çalışma sonunda 178.658 ± 8.55 g olarak ölçülmüştür. Bu grupta geçen süre içerisinde istatistiksel önemde farklılıklar tespit edildi. 0. gün ile 14. gün arasında ($P>0.001$) istatistiksel fark görüldü.

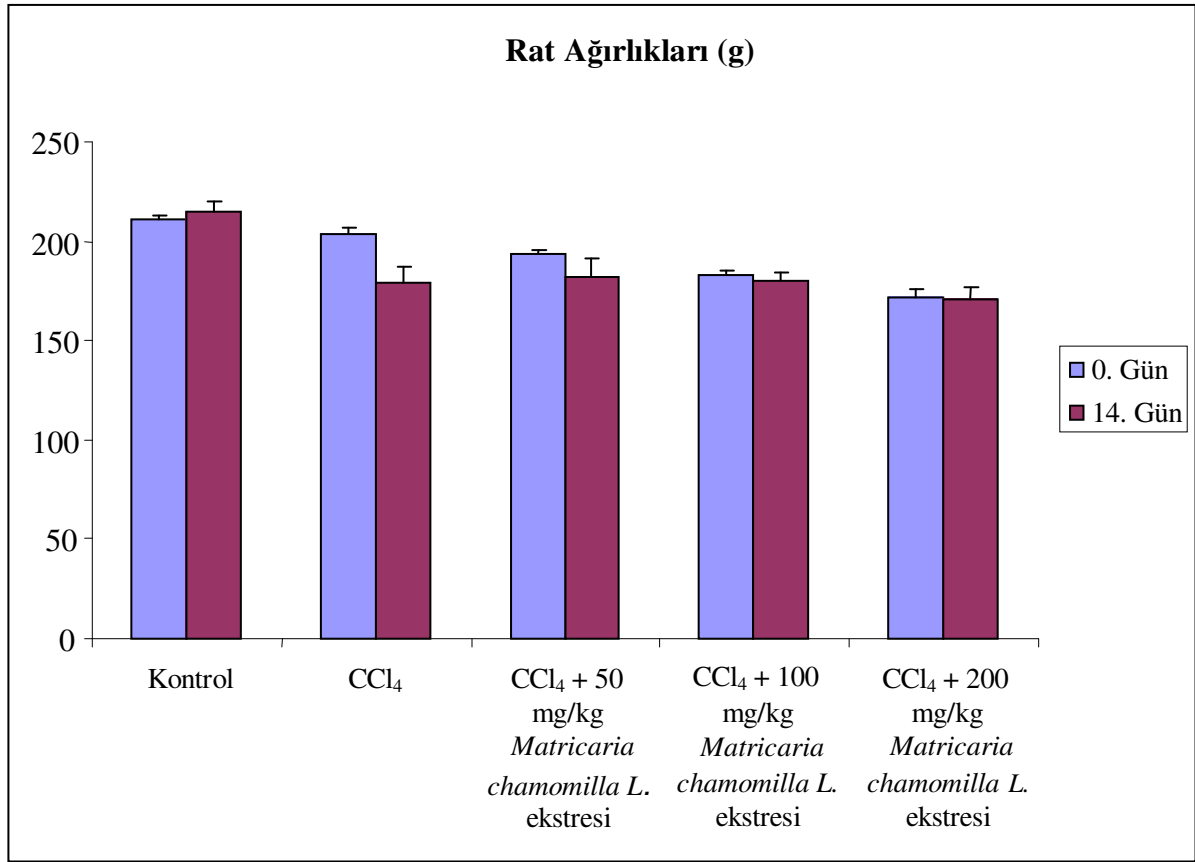
Grup III'den elde edilen rat ağırlıkları; ilk tartımda 193.210 ± 2.59 g, son tartımda 181.603 ± 9.29 g olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı grupta geçen süre içerisinde istatistiksel önemde farklılıklar tespit edildi. 0. gün ile 14. gün arasında ($P>0.05$) istatistiksel fark bulundu.

Grup IV'de 183.204 ± 2.39 g ve 179.610 ± 4.06 g olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte aynı grupta geçen süre içerisinde istatistiksel önemde farklılıklar tespit edildi. 0. gün ile 14. gün arasında ($P>0.05$) istatistiksel fark gözlemlendi.

Deneysel çalışmanın başında V. gruptaki ratların ağırlıkları 171.343 ± 4.55 g ve 170.332 ± 6.41 g olarak tartıldı. Bu grupta 0. gün ile 14. gün arasında ($P>0.05$) istatistiksel fark bulundu.

Tablo 4.1 Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Rat Ağırlıkları (g)

Gruplar	n	0. Gün	14.Gün	P değeri
Kontrol	7	210.875 ± 2.59	214.750 ± 5.31	P>0.05
CCl ₄	7	203.667 ± 3.14	178.658 ± 8.55	P<0.001
CCl ₄ + 50 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	193.210 ± 2.59	181.603 ± 9.29	P>0.05
CCl ₄ + 100 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	183.204 ± 2.39	179.610 ± 4.06	P>0.05
CCl ₄ + 200 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	171.343 ± 4.55	170.332 ± 6.41	P>0.05



Grafik 4.1 Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Rat Ağırlıkları

4.2 Alanin Aminotransferaz ve Aspartat Aminotransferaz Enzim Aktivite Düzeyleri

Çalışma gruplarının serum ALT aktiviteleri sırasıyla; 52.913 ± 5.27 U/L, 279.981 ± 12.38 , 108.758 ± 9.08 U/L, 88.786 ± 8.63 U/L, 72.024 ± 11.55 U/L olarak ölçülmüştür. CCl₄ grubuna ait ALT aktiviteleri, kontrol grubuna göre önemli istatistiksel fark göstermiştir ($p < 0.001$). CCl₄ ile birlikte 50 mg/kg ekstrenin verildiği

grubun serum ALT aktivitesi, kontrol ve CCl₄ grubunun aktivitesinden p<0.001 oranında farklı bulunmuştur. IV. grubun ALT aktivitesi, kontrol ve CCl₄ grubunun aktivitesinden p<0.001 oranında ve III. Grubun aktivitesinden p<0.05 oranında farklı olduğu görülmüştür. CCl₄ ile birlikte 200 mg/kg ekstrenin verildiği V. gruptaki ALT aktivitesi, kontrol grubunun aktivitesine göre istatistiksel öneme sahiptir (p<0.01). Ayrıca V. grubun aktivitesi, CCl₄ ve III. Gruplarının aktivitelerinden p<0.001 oranında, IV. grubun aktivitesinden p<0.05 oranında farklıdır (Tablo 4.2, Grafik 4.2).

Tüm grupların serum AST aktivite düzeyleri sırasıyla; 52.913 ± 5.27 U/L, 279.981 ±12.38 U/L, 108.758 ± 9.08 U/L, 88.786 ± 8.63 U/L, 72.024 ± 11.55 U/L olarak ölçülmüştür. CCl₄ grubunun AST aktivitesi, kontrol grubunun aktivitesinden istatistiksel yönden (p<0.001) farklı bulunmuştur. CCl₄ ile birlikte 50 mg/kg ekstrenin verildiği grubun aktivitesi, kontrol ve CCl₄ gruplarının aktivitelerinden p<0.001 oranında farklı bulunmuştur. IV. grubun aktivitesi, kontrol grubunun aktivitesinden p<0.01 oranında ve CCl₄ grubunun aktivitesinden p<0.001 oranında farklı olduğu görülmüştür. CCl₄ ile birlikte 200 mg/kg ekstrenin verildiği V. grubun aktivitesi ise CCl₄ grubunun ve III. grubun aktivitesinden farklı istatistiksel öneme sahiptir (p<0.01) (Tablo 4.2, Grafik 4.3).

Tablo 4.2 ALT ve AST Enzim Aktivite Düzeyleri

Gruplar	n	ALT (U/L)	AST (U/L)
Kontrol	7	52.913 ± 5.27	141.726 ± 11.84
CCl ₄	7	279.981 ±12.38 ^a	745.673 ± 48.41 ^a
CCl ₄ + 50 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	108.758 ± 9.08 ^{a, c}	244.330 ± 21.45 ^{a, c}
CCl ₄ + 100 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	88.786 ± 8.63 ^{a, c, d}	202.218 ± 23.14 ^{b, c}
CCl ₄ + 200 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	72.024 ± 11.55 ^{b, c, e, f}	169.545 ± 25.40 ^{c, g}

^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)

^b: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

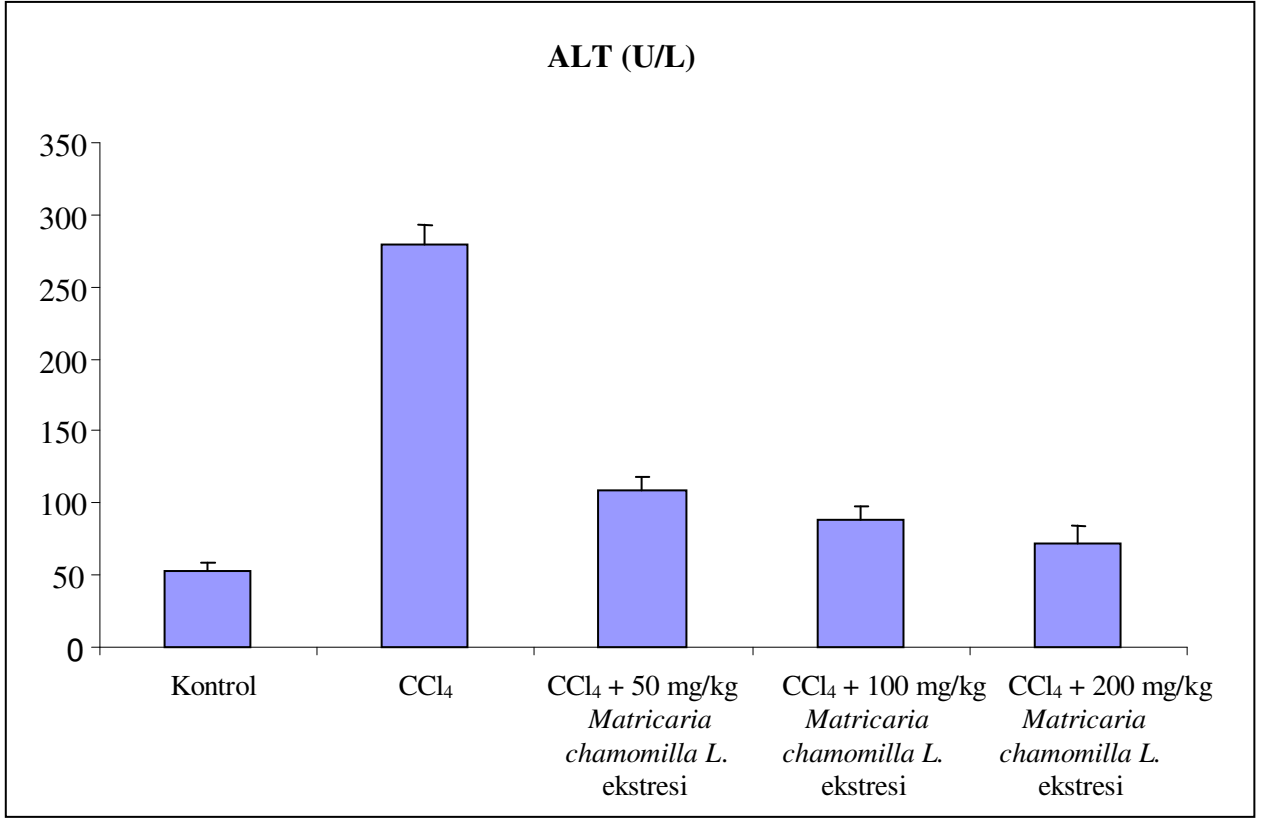
^c: CCl₄ farklıdır (p<0.001)

^d: CCl₄ + 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi'den farklıdır (p<0.05)

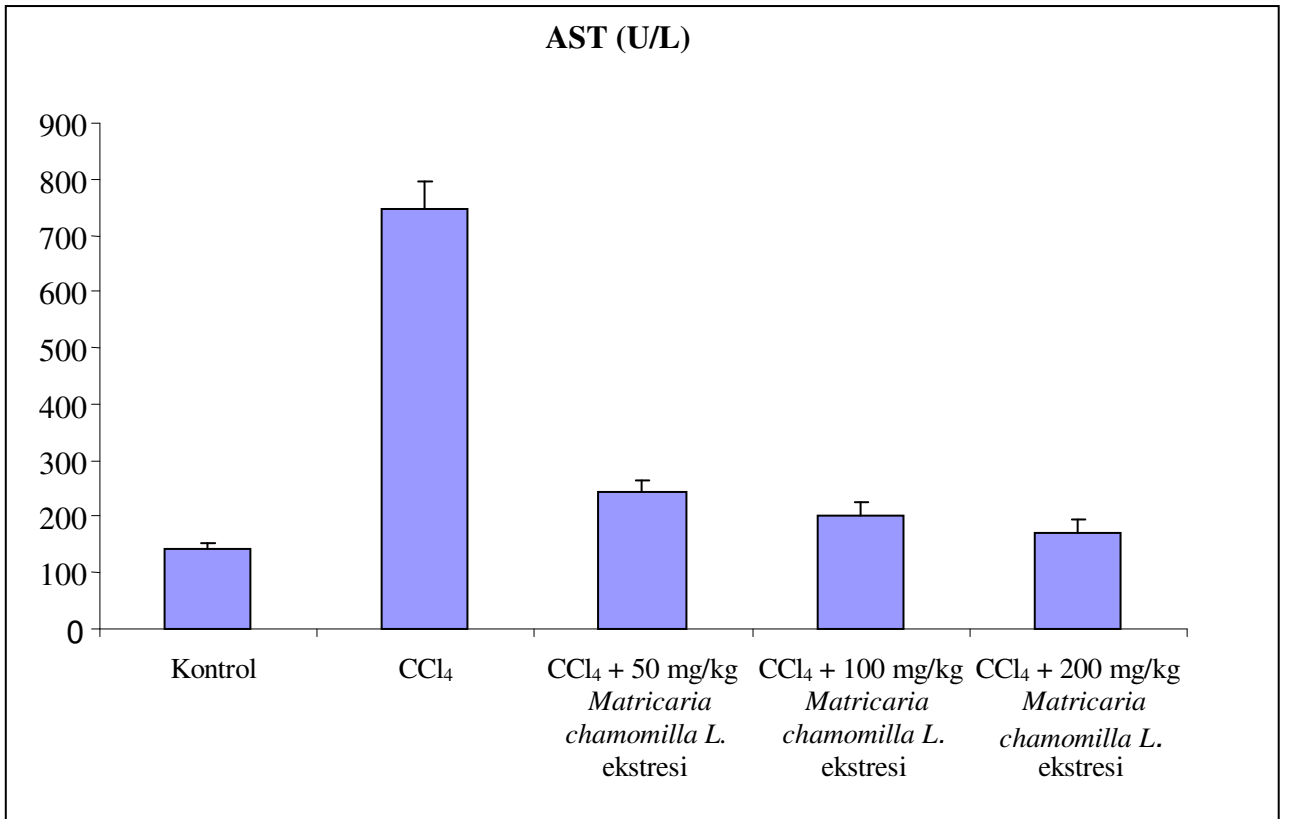
^e: CCl₄ + 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi'den farklıdır (p<0.001)

^f: CCl₄ + 100 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi'den farklıdır (p<0.05)

^g: CCl₄ + 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi'den farklıdır (p<0.01)



Grafik 4.2 ALT Enzim Aktivite Düzeyleri



Grafik 4.3 AST Enzim Aktivite Düzeyleri

4.3 Malondialdehit ve Redükte Glutatyon Düzeyleri

Sunulan çalışmada her bir grupta bulunan 7 adet ratın kanları alınmış ve tüm kan üzerinde malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeyleri analiz edilmiştir.

Grupların elde edilen redükte glutatyon (GSH) değerleri sırasıyla; 42.060 ± 2.94 mg/dl, 36.560 ± 3.31 mg/dl, 42.759 ± 1.91 mg/dl, 41.776 ± 2.28 mg/dl, 44.251 ± 3.36 mg/dl olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu, CCl₄ grubundan istatistiksel önemde ($p < 0.05$) farklı bulunmuştur. III. ve IV. gruplarda CCl₄ grubundan istatistiksel önemde ($p < 0.05$) farklıdır. V. grup ise CCl₄ grubundan $p < 0.01$ oranında farklıdır (Tablo 4.3, Grafik 4.4).

Kontrol, CCl₄, CCl₄ + 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* ekstresi, CCl₄ + 100 mg/kg *Matricaria chamomilla* ekstresi, CCl₄ + 200 mg/kg *Matricaria chamomilla* ekstresi gruplarındaki MDA değerleri 1.851 ± 0.24 nmol/ml, 3.357 ± 0.50 nmol/ml, 2.397 ± 0.33 nmol/ml, 2.435 ± 0.54 nmol/ml, 2.226 ± 0.59 nmol/ml olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu, CCl₄ grubundan istatistiksel önemde ($p < 0.001$) farklı bulunmuştur. III. ve IV. gruplarda CCl₄ grubundan istatistiksel önemde ($p < 0.05$) farklıdır. V. grup ise CCl₄ grubundan $p < 0.01$ oranında farklıdır (Tablo 4.3, Grafik 4.5).

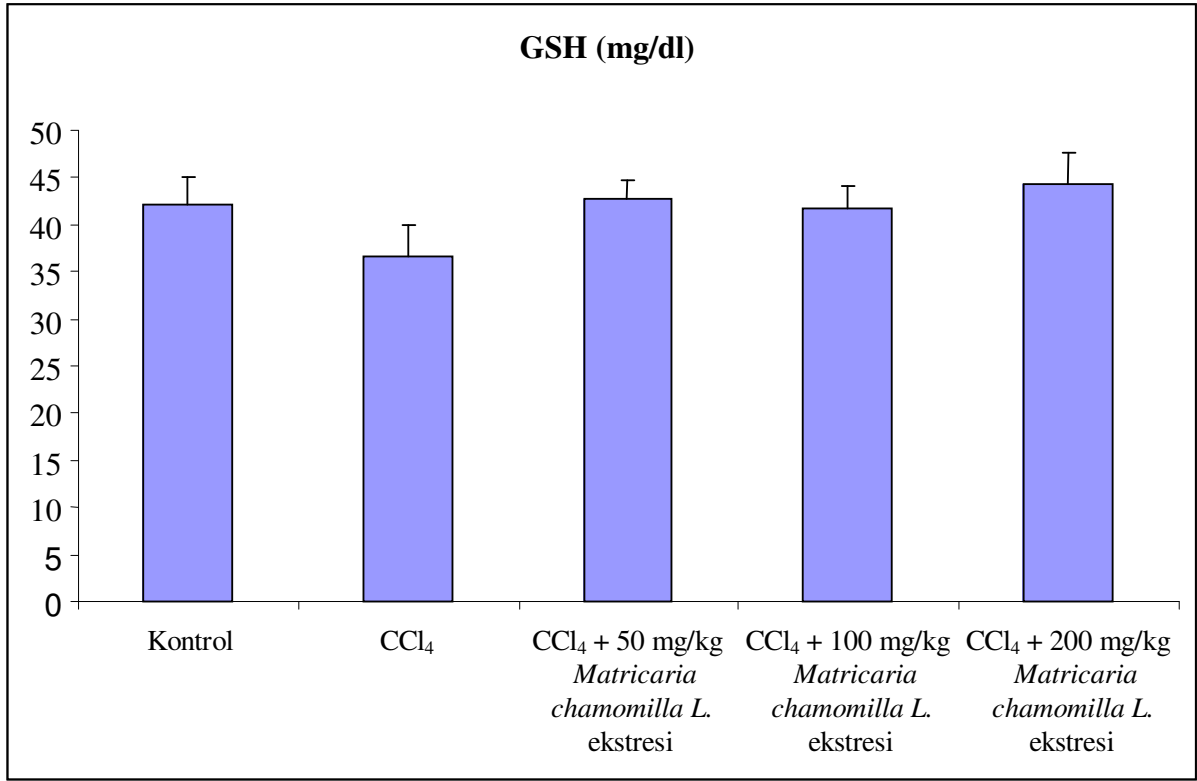
Tablo 4.3 GSH ve MDA Düzeyleri

Gruplar	n	GSH (mg/dl)	MDA (nmol/ml)
Kontrol	7	42.060 ± 2.94^a	1.851 ± 0.24^c
CCl ₄	7	36.560 ± 3.31	3.357 ± 0.50
CCl ₄ + 50 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	42.759 ± 1.91^a	2.397 ± 0.33^a
CCl ₄ + 100 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	41.776 ± 2.28^a	2.435 ± 0.54^a
CCl ₄ + 200 mg/kg <i>Matricaria chamomilla</i> L. ekstresi	7	44.251 ± 3.36^b	2.226 ± 0.59^b

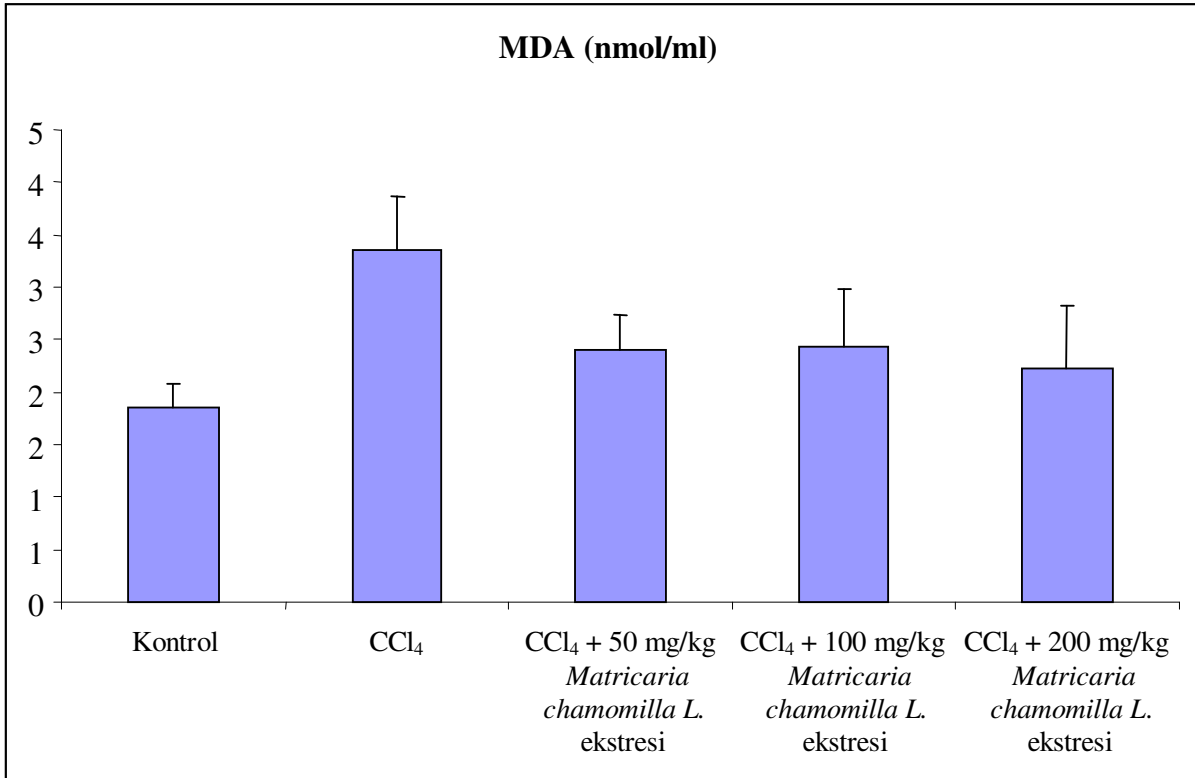
^a: CCl₄'den farklıdır ($p < 0.05$)

^b: CCl₄'den farklıdır ($p < 0.01$)

^c: CCl₄'den farklıdır ($p < 0.001$)



Grafik 4.4 GSH Düzeyleri



Grafik 4.5 MDA Düzeyleri

4.4 Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Katalaz Enzim Aktivite Düzeyleri

Gruplara ait Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT) enzim aktivite değerleri Tablo 4.4 de sunulmuştur.

I., II., III., IV. ve V. gruplara ait süperoksit dismutaz aktivite değerleri sırasıyla; 226.53 ± 12.6 U/ml, 189.09 ± 14.6 U/ml, 194.24 ± 15.6 U/ml, 193.47 ± 13.3 U/ml, 238.43 ± 18.7 U/ml olarak belirlenmiştir. CCl₄ grubunun SOD aktivite düzeyin, kontrol grubunun aktivitesinden istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde farklıdır. III. ve IV. gruplardaki aktiviteler, kontrol grubu ve V. grubun aktivitelerinden $p < 0.01$ düzeyinde farklıdır. V. grubun aktivitesi ile CCl₄ grubun aktivitesi arasında $p < 0.001$ oranında bir fark bulunmuştur (Tablo 4.4, Grafik 4.6).

Gruplara ait GPx aktivite düzeyleri sırasıyla; 7678.65 ± 666.2 U/L, 4210.72 ± 586.9 U/L, 5509.86 ± 483.1 U/L, 5878.50 ± 543.5 U/L, 6005.54 ± 667.6 U/L olarak ölçülmüştür. Kontrol grubunun aktivitesi, II. grubun aktivitesinden istatistiksel olarak ($p < 0.001$) farklıdır. III. grup ile kontrol grubun aktiviteleri arasında $p < 0.01$ olarak bulunan istatistiksel bir fark belirlenmiştir. IV. grubun aktivitesi, kontrol grubunun aktivitesinden $p < 0.01$ ve CCl₄ grubunun aktivitesinden $p < 0.05$ düzeyinde farklıdır. Son grubun aktivitesi ise kontrol grubunun aktivitesinden $p < 0.05$ ve CCl₄ grubunun aktivitesinden $p < 0.01$ oranında farklıdır (Tablo 4.4, Grafik 4.7).

Kontrol, CCl₄, CCl₄ + 50 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi, CCl₄ + 100 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi, CCl₄ + 200 mg/kg *Matricaria chamomilla* L. ekstresi gruplarındaki katalaz aktivite düzeyleri sırasıyla; 5898.91 ± 450.6 kU/L, 4013.78 ± 638.7 kU/L, 4044.92 ± 547.7 kU/L, 4676.74 ± 507.6 kU/L, 4795.9 ± 670.8 kU/L olarak bulunmuştur. II ve III. Grupların katalaz aktivitesi istatistiksel olarak kontrol grubunun aktivitesinden $p < 0.001$ oranında, IV. ve V. grubun aktivitesi ise kontrol grubunun aktivitesinden $p < 0.01$ oranında farklı bulunmuştur (Tablo 4.4, Grafik 4.8).

Tablo 4.4 Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Katalaz Enzim Aktivite Düzeyleri

Gruplar	n	SOD (U/ml)	GPx (U/L)	CAT (kU/L)
Kontrol	7	226.53 ± 12.6	7678.65 ± 666.2 ^b	5898.91 ± 450.6
CCl ₄	7	189.09 ± 14.6 ^a	4210.72 ± 586.9	4013.78 ± 638.7 ^g
CCl ₄ + 50 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	194.24 ± 15.6 ^{a,c}	5509.86 ± 483.1 ^a	4044.92 ± 547.7 ^g
CCl ₄ + 100 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	193.47 ± 13.3 ^{a,c}	5878.50 ± 543.5 ^{a,e}	4676.74 ± 507.6 ^a
CCl ₄ + 200 mg/kg <i>Matricaria chamomilla L.</i> ekstresi	7	238.43 ± 18.7 ^b	6005.54 ± 667.6 ^{d,f}	4795.9 ± 670.8 ^a

^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

^b: CCl₄'den farklıdır (p<0.001)

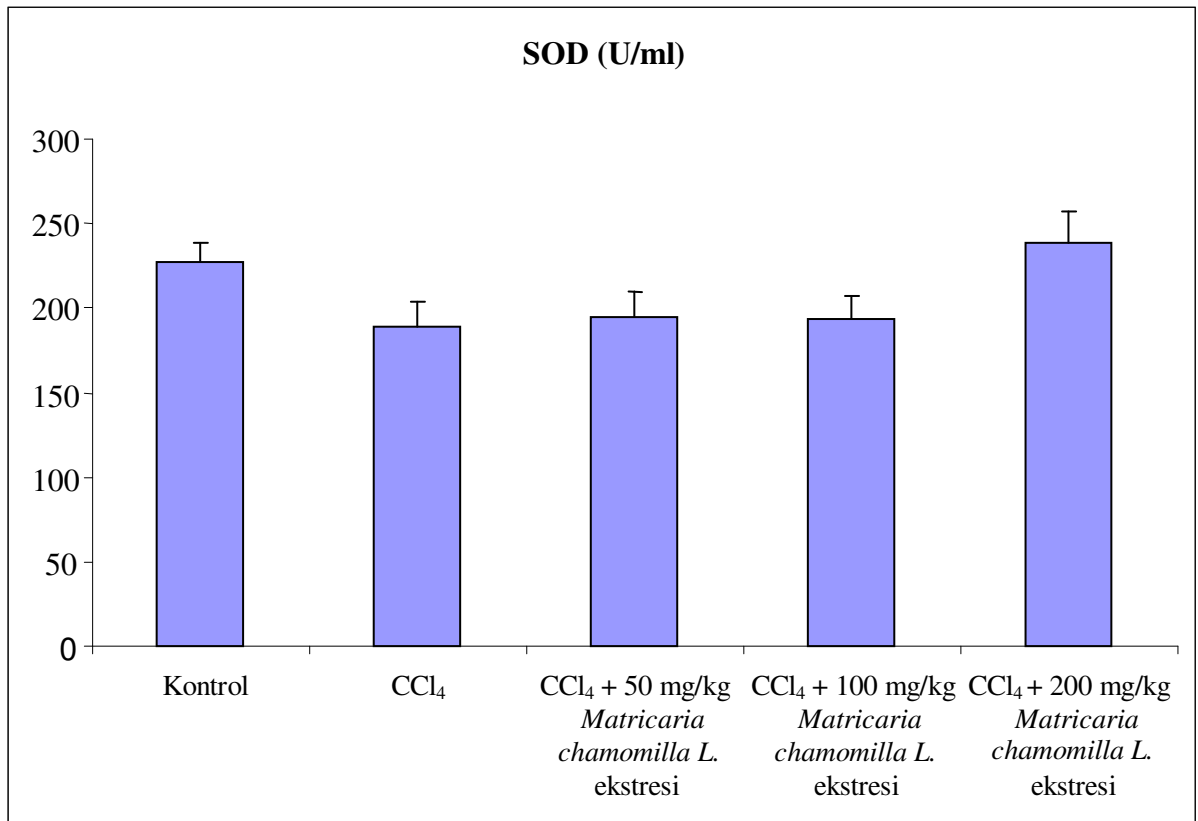
^c: CCl₄ + 200 mg/kg *Matricaria chamomilla L.* ekstresi'den farklıdır (p<0.01)

^d: Kontrol'den farklıdır (p<0.05)

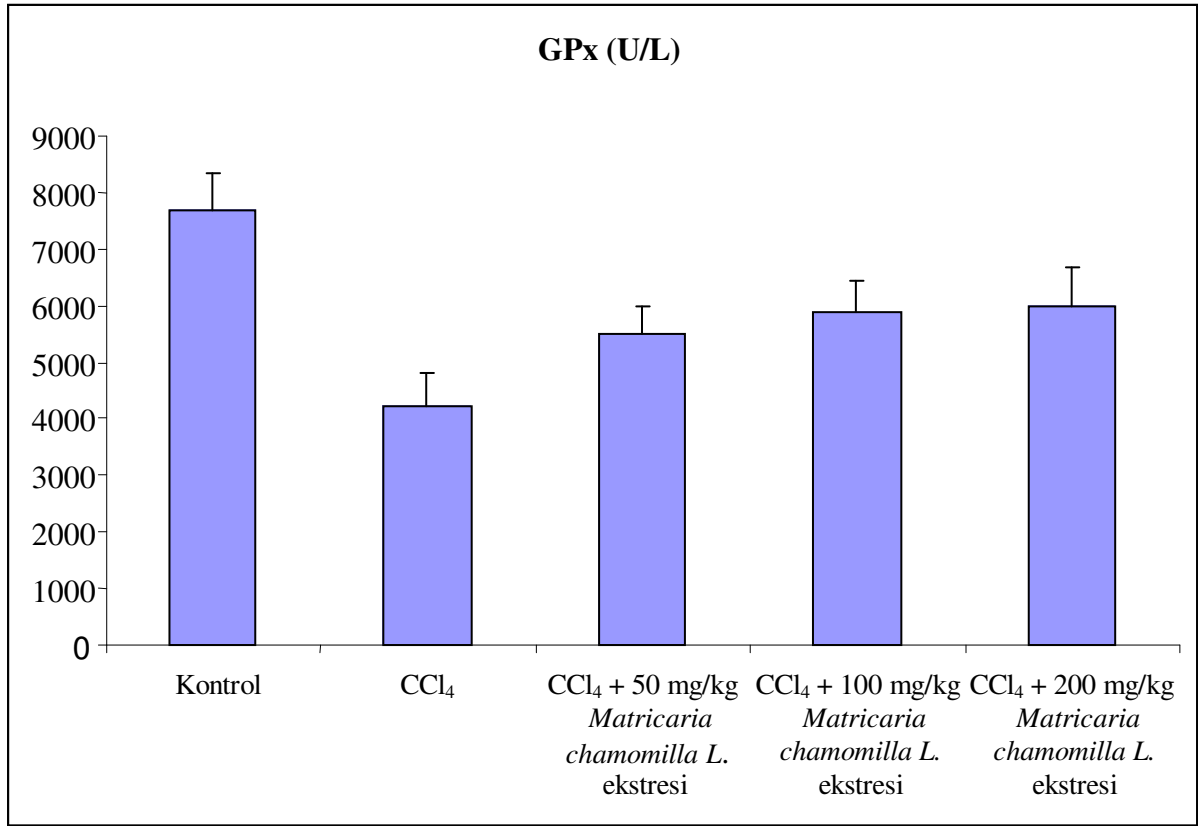
^e: CCl₄'den farklıdır (p<0.05)

^f: CCl₄'den farklıdır (p<0.01)

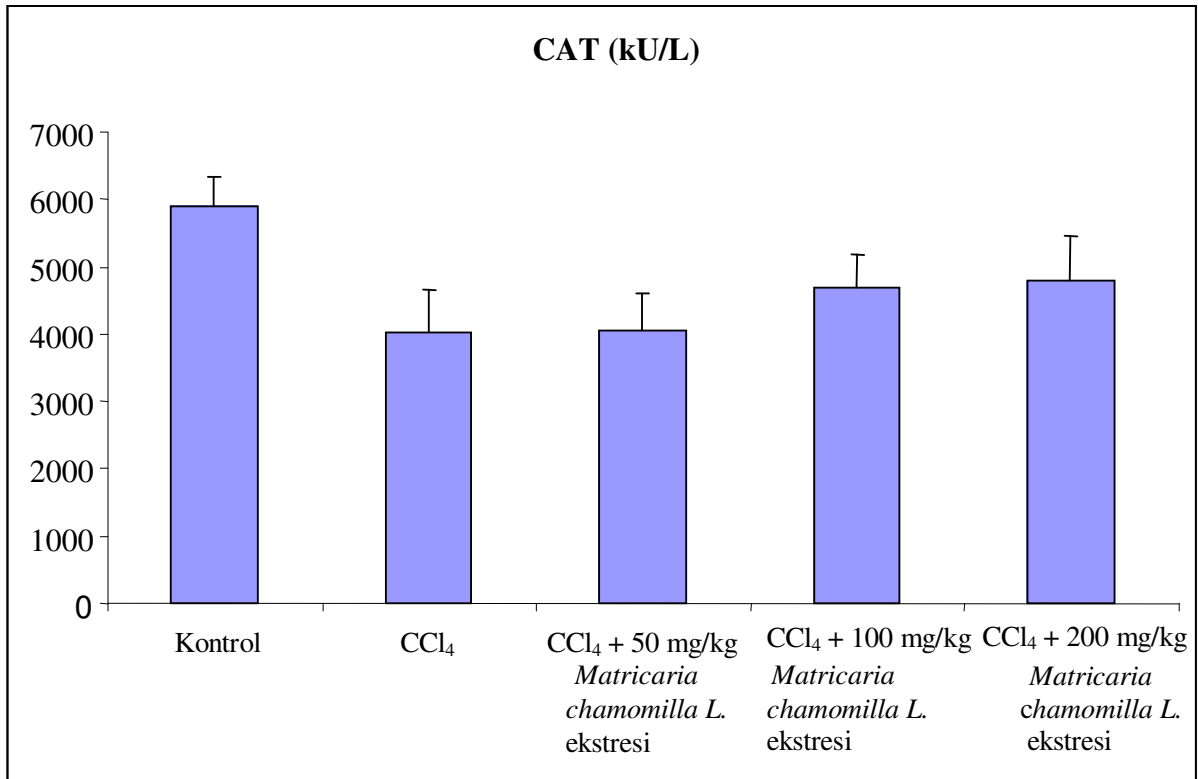
^g: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)



Grafik 4.6 SOD Enzim Aktivite Düzeyleri



Grafik 4.7 GPx Enzim Aktivite Düzeyleri



Grafik 4.8 CAT Enzim Aktivite Düzeyleri

5. TARTIŞMA

Sindirim ve dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu önemli fonksiyonlar nedeniyle karaciğer, pek çok etkenle hasara uğrayabilmektedir. Toksik maddeler (karbon tetraklorür, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömür katranı), mikrobiyal etmenler, dolaşım sistemi hastalıkları ve neoplastik hastalıklar karaciğeri etkilemektedir (1-3).

Karaciğer hastalığının etkeni olan virüslerden Hepatit B, tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunu olmakla beraber, karaciğer sirozu ve kanserinin önde gelen nedenlerinden biridir. Bugün yaşayan insanlar arasında 2 milyardan fazlası HBV ile hayatlarının belirli bir döneminde karşılaşmıştır. Bu kişilerin yaklaşık 350 milyonu kronik enfeksiyonludur ve hastalığın taşıyıcısı durumundadır. Dünya nüfusunun üçte biri yüksek enfeksiyon riski olan bölgelerde yaşamaktadır. Her yıl 4 milyondan fazla akut klinik HBV vakasıyla karşılaşmaktadır ve taşıyıcıların % 25'i, 1 milyon insan her yıl kronik aktif hepatit, siroz veya primer karaciğer kanseri nedeniyle hayatlarını kaybetmektedir ve en sık ölüm nedenleri içinde 10. sıradadır (4, 40, 45, 46).

Günümüzde artan alkol tüketimi de karaciğer hastalıklarına neden olmaktadır. Alkolün metabolize edildiği yer karaciğerdir. Ancak karaciğerin birim zamanda zararsız hale getirebileceği alkol miktarı sınırlıdır. Karaciğerin fazla miktarda alkolü zararsız hale getirme işlemi sırasında, diğer fonksiyonları da aksar. Karaciğer hücreleri zarar görebilir, yapısal değişikliklere uğrayabilir (yağlanma). Bazı durumlarda karaciğerde alkolik hepatit ve/veya siroz gelişebilir (45, 46).

Karaciğerde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da oluşur. Ancak organa gelen hasar sürekli olur ve tekrarlanırsa hücre yenilenmesinden daha fazla oranda bağ dokusu artışı meydana gelir. Hepatik fibroz, çok sayıda hücrel ve moleküler sürecin olduğu ilerleyici bir patolojik durumdur. Viral hepatitler, alkol kullanımı, ilaçlar ve metabolik hastalıklar, kronik hasarlar oluşturarak karaciğer fibrozisi oluşturur. Tahribat rejenerasyon ve onarımla cevaplanamazsa karaciğerin normal yapısı bozulur. Kollajen ve ekstraselüler matriks proteinleri disse aralığında (endotel hücreleri ile hepatositler arasındaki mesafe) birikmeye başlar. Bağ dokusundaki bu artış karaciğer yapısındaki bozuklukla sonuçlanır ve siroz olarak isimlendirilir (46).

Deneysel siroz oluşumunda çoğunlukla CCl_4 kullanılma sebebi, oluşan karaciğer hasarının ratlarda ve insanlarda, birbirlerine uygunluk göstermesinden dolayıdır. CCl_4 , akut hasarlar oluşturması yanı sıra uzun süreli kullanımı ile kronik hasarlar oluşturarak siroza kadar uzanan sonuçlar vermektedir (2-10, 191).

Sunulan çalışmada karaciğer hasarı oluşturulmak üzere bir ksenobiyotik olan CCl_4 kullanılmıştır. Karbon tetraklorür (CCl_4) deneysel olarak ve mitokondriyal monooksijenaz (p4502E1) sistemince metabolize edilir. Metabolizma esnasında öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil (CCl_3^{\cdot}) serbest radikali oluşuktan sonra lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksite (Cl_3COO^{\cdot}) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür. Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur. Oluşan bu serbest radikaller hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan yağ asidlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücre harabiyetine neden olurlar. CCl_4 lipid peroksidasyonunu artırarak özellikle endoplazmik retikulum ve mitokondriyi bozmakta, karaciğerde kaspas-3'ü aktive ederek apoptosisi artırmaktadır. Nekroz, CCl_4 uygulanmasından 12 saat sonra yoğunluk kazanır. CCl_4 'ün tek enjeksiyonu uygulama sonrasında hepositlerde yağ dejenerasyonu koagülasyon nekrozu meydana getirmesinin yanında, tekrar eden enjeksiyonlar da siroz meydana getirir (11-14, 79-84).

Cluet ve arkadaşları (192) ratlara deneysel olarak 3 gün süreyle fenobarbiton ve CCl_4 verildiğinde CCl_4 'ün alken (eten, penten) salgısına yol açtığını, fakat fenobarbitonun endojen lipid peroksidasyonda etkili olmadığını bulmuşlardır. Fenobarbiton ve CCl_4 'ün birlikte etkisiyle ratlarda, karaciğer sirozu ortaya çıkmaktadır. Her iki ksenobiyotik, hepatik antioksidan enzim olan katalaz, GSH-Px enzimlerini ve lipid peroksidasyonunu etkilemektedir.

Grizzi ve arkadaşları (193), akut olarak CCl_4 uyguladıktan 2 ve 24 saat sonra yaptıkları incelemelerde; 2 saat sonra sentrobüler zonda hepatosit nekrozu ve makrofaj ile lenfositler yoğun inflamatör hücre infiltrasyonu bulmuşlardır. Sentrobüler zonda yer alan hepatositlerde hidrofilik dejenerasyon, vakuolizasyon ve şişme görmüşlerdir. Yağlı değişimlerin birkaç damlacık tarzında ve değişik

hacimlerde olduğunu saptanmıştır. Aynı bulgular 24 saat sonraki incelemelerde de şiddetlenmiş olarak görülmüştür.

Yang ve arkadaşlarının (194), 2007 yılında 30 rat üzerinde CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturup piknogenal'in karaciğer üzerine koruyucu etkisini araştırmak üzere yaptıkları bir çalışma, 1,25 mL/kg lik tez doz halinde uygulanan CCl₄'ün hepatotoksitite gösterdiği ve serum AST, ALT değerlerinin arttığını göstermiştir.

AST ve ALT, karaciğer hasarını saptamada rutinde sık kullanılan belirleyicilerdir. AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de yoğun olarak bulunmaktadır. Buna karşılık ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. Yaklaşık olarak hepatositte bulunan AST'nin % 80'i mitokondridedir. Oysa ALT'nin predominant formu non mitokondriyal olanıdır. Bu nedenle hafif hepatosellüler hasarda, hepatosit membranı hasara uğramış ancak mitokondriyal membranı sağlam ise sitoplazmik AST ve ALT seruma salınır. Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında AST ve ALT seviyeleri sağlıklı bireylere göre birçok kat artış gösterir. Serum aminotransferazları kronik hepatitlerde ve akut viral hepatitlerinin hafif vakalarında ve ilaca bağlı hepatitlerde orta derecede artar. Sirozda, nonalkolik hepatosteatozda, kolestatik karaciğer hastalıklarında, karaciğer yağlanmasında ve karaciğer tümörlerinde serum aminotransferazları hafifçe artar. Daha ciddi hepatosellüler hasarlarda mitokondri membranında da hasar olur ve mitokondriyal AST salınımı ile sonuçlanır (195-197).

Yapılan çalışmada literatürle uyumlu olarak CCl₄ uygulanan gruplarda hasar meydana geldiği görülmüştür. Yalnız CCl₄'ün uygulandığı grupta AST ve ALT değerlerinde oldukça büyük artış meydana gelmiş, CCl₄ ile birlikte değişik dozlarda tedavi uygulanan gruplardaki AST ve ALT değerlerindeki artış daha az olmuştur. Bu gruplardaki değerler kontrol grubundaki değerlere yakındır.

Radyasyon, ilaç toksikasyonu, kimyasal maddeler veya hastalıkların oluşumu ile birlikte serbest radikal üretiminde artış ve buna bağlı olarak hücrenel bileşiklerde çeşitli zararlı etkiler oluşmaktadır. Serbest radikallerin hücre savunma sistemini aşacak miktarda meydana gelmesi sonucunda, metabolizmada zararlı etkileri en hassas bileşikler olan lipidler üzerinde gösterirler. Membran yapısında yer alan doymamış fosfolipidler ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu oluşturur. Hücrenel hasarın iyi tanımlanmış bir mekanizması

olan lipid peroksidasyonu, doku ve hücrelerdeki oksidatif stresin göstergesi olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu esnasında meydana gelen aldehitler, serbest radikallerin ilk oluştuğu merkezden daha uzaktaki intra ve ekstra hücresel hedefine diffüze olabilir. MDA, membran lipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonundan oluşan son üründür. MDA, aynı zamanda metabolik, genotoksik ve mutajenik etkilerinin yanı sıra hücre çoğalması üzerindeki inhibitör aktivitesinden dolayı hücresel toksik aldehitlerden biridir (87-90, 94, 95, 128). Tablo 4.3 ve Grafik 4.5'de görüldüğü gibi CCl₄'ün uygulandığı grupta MDA miktarında istatistiksel açıdan artış görülmüştür. Bu, CCl₄'ün radikal üretimini indüklemesi sonucu lipid peroksidasyonuna neden olduğu şeklinde açıklanabilir. Ayrıca hücresel antioksidan savunma sistemini olumsuz etkileyerek radikallerin ortadan kaldırılma mekanizmasını sekteye uğratmış ve doymamış yağ asitlerine saldırarak lipid peroksidasyonunu hızlandırmış olabileceği düşünülmektedir. Katalaz, SOD ve GPx enzim aktivitelerindeki azalma bunu destekler niteliktedir.

Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarlarının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin arttırılması gibi değişik şekillerde etkiler. Organizma, değişen koşullara karşı hücresel homeostazisi korumak durumundadır. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonuna karşı bu yolla antioksidan savunma sistemi oluşturularak hücresel denge korunmaya çalışılır (114, 118, 125).

Serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli görevleri olan glutatyonun asıl kaynağı kükürt içeren aminoasitler, özellikle sistein ve metiyonindir. Kandaki düşük GSH düzeyinin, yetersiz GSH sentezinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Glutatyon, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyonuna yol açmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması için görev alan güçlü bir antioksidandır. Oksidatif hasardan kaynaklanan lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek okside glutatyon dönüşür. Çeşitli araştırmalarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyon ürünlerinde artış, glutatyon düzeylerinde ise azalmalar tesbit edilmiştir. GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin yol açtığı hücresel hasarlar karşısında büyük savunma sağlar (150-152).

Kurata ve arkadaşları (198), bazı memeli türlerindeki eritrosit antioksidan sistemlerini karşılaştırdıkları çalışmada, antioksidan korumadan dolayı GSH'ın bittiğini göstermişlerdir. Reaktif oksijen türevlerinin etkisi altında artan oksidatif stresin değiştirilmesi yönünde kullanılıyor olmasından dolayı GSH seviyelerinde azalma olduğu düşünülmektedir. GSH'da görülen bu azalma oksidatif stres riskini artırmaktadır.

Glutasyon, hücrelerin serbest radikallerinden oluşan hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik maddelerin ortadan kaldırılmasında da görev almaktadır. Bununla birlikte, GSH'un GSSG'a oksidasyonu ve adaptasyon mekanizmasının kaybedilmesinden dolayı gelişen ciddi bir oksidatif stres durumu GSH düzeyini baskılayabilir. Buna göre uygulanan CCl₄ serbest radikal üretimini artırmakta ve bu radikalleri nötralize etmek için ortamdaki GSH'ların kullanıldığı düşünülmektedir. Lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA artışı da bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksitin H₂O₂'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimidir. SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD enziminin canlılardaki dağılımı katalaz ile birlikte incelenmelidir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürün, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir (100, 137). Süperoksit dismutaz aktivitesindeki azalma süperoksit radikalinin birikiminin sonucudur. Süperoksit radikali katalaz enzimini de inhibe etmektedir. Katalaz miktarında meydana gelen azalma Tablo 4.4 ile Grafik 4.8'de gösterilmiştir. Reaktif oksijen radikalleri başta yağ asitlerinin ve proteinlerin doymamış bağlarına saldırarak inhibe eder ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna neden olurlar (100). Oksidatif stresin büyüklüğüne bağlı olarak gelişen adaptasyonla birlikte hücrelerdeki SOD aktivitesi artmaktadır. Antioksidan savunma enzimlerinden SOD aktivitesinde meydana gelen bu artış süperoksit radikalinde görülen artışın bir göstergesi sayılabilir.

GPx, hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerin indirgenmesini katalizlemektedir. Lipid peroksidasyonuna karşı etkili koruma sağlayan enzim olarak kabul edilir. Hücresel savunma elemanlarından glutasyon peroksidaz aktivitesinde, ilk aşamada bu zararlı etkileri nötralize etmek amacıyla artış gerçekleşmiştir. Serbest radikal

oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılması halinde ise antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olacağı bildirilmektedir (85, 90). CCl₄ uygulanmasından sonra artan lipid peroksidasyonuna paralel olarak hücrel antioksidan savunma mekanizmalarından olan glutatyon peroksidaz aktivitesinde artış olması kan düzeyinde hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılamadığını ortaya koymuştur (85, 90).

Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi hidrojen peroksidin ortamdaki uzaklaştırılmasında rol oynar. Katalaz, H₂O₂'in yüksek konsantrasyonlarda parçalanmasında görev alırken, glutatyon peroksidaz H₂O₂'in düşük konsantrasyonlarda parçalanmasında görev alır (100, 142). Buna göre CCl₄ uygulanan ratlarda eritrosit katalaz enzim aktivitesinin azalmasının, düşük H₂O₂ konsantrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. CCl₄ uygulanması ratların eritrosit katalaz enzim sentezini inhibe etmiş olabilir.

Yang ve arkadaşlarının (194), 2007 yılında 30 rat üzerinde CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturup piknogenal'in karaciğer üzerine koruyucu etkisini araştırmak üzere yaptıkları bir çalışmada yalnız CCl₄ uygulanan gruptaki MDA seviyelerinde artış; SOD, katalaz ve GSH seviyelerinde ise anlamlı düzeyde ($p < 0.01$) azalma görülmüştür.

Wang ve arkadaşları (199) 50 rat üzerinde 5 mmol/kg i.p. olarak uygulanan CCl₄'ün karaciğerde oluşturduğu akut toksikasyon üzerinde salvianik asitin karaciğer üzerine koruyucu etkisini araştırmak üzere yaptıkları çalışma sonucunda CCl₄ grubundaki MDA seviyelerinde artma ve SOD, katalaz, GSH seviyelerinde anlamlı düzeyde düşme tespit etmişlerdir.

Cabre ve arkadaşları (200) yaptıkları çalışmada CCl₄ ile sıçanlarda oluşturulan karaciğer fibrozu modelinde lipid peroksidasyonunun arttığını ve karaciğer GPx ve GSH düzeylerinin azaldığını göstermişler ve lipid peroksidasyonu ile GPx arasında negatif bir korelasyon olduğunu saptamışlardır ($r = -0,47$; $p < 0,001$). GSH seviyeleri erken dönemde % 49 azalmış fakat geç dönemde kontrol grubundan farklılık göstermemiştir.

Sunulan çalışmada literatürle uyumlu olarak CCl₄ uyguladığımız grupta Tablo 4.3'de gösterildiği gibi MDA değerlerinde anlamlı bir artış ($p < 0.001$) ve GSH

değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde azalma söz konusudur. SOD değerleri ($p < 0.01$), GPx ve katalaz değerlerinde ($p < 0.001$) azalma görülmektedir (Tablo 4.4).

Bitkiler yüksek oranda içerdikleri çeşitli kimyasallar nedeniyle ilaç, kozmetik ve gıda endüstrileri için primer kaynaktır. Antioksidan aktivite, bitkiler açısından bu üç endüstri kolunun merkezi durumundadır. Canlı organizmada çeşitli oksidatif stresin kanser, diyabet, karaciğer hastalıkları, hematolojik bozukluklar gibi birçok hastalıkta rol alması, antioksidan bileşiklere ve özellikle de doğal antioksidanlara ilgiyi artırmıştır. Antioksidan ve antiradikal etkilerinden dolayı bu etkileri gösteren bitkiler son yıllarda yoğun biçimde çalışılmaktadır (15, 175).

Salvia Miltiorrhiza bitkisinden ekstrakte edilen Savianik Asitin etkisinin araştırıldığı çalışmada Wang ve arkadaşları (199), 5 mmol/kg i.p. olarak uygulanan CCl_4 karaciğerde oluşturduğu toksikasyonun üzerine Savianik Asitin antioksidatif mekanizma ile koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Jordao ve ark. (201), serbest radikallerin karaciğer hasarının patogenezinde yer aldığını ve bunu reaktif oksijen türlerini artırarak ve antioksidanları azaltarak gerçekleştirdiğini ifade etmiş, E vitamininin de bu etkilerden karaciğeri koruduğunu ve antioksidan özellikteki bu vitaminin uygulanmasının oksidasyonu azalttığını belirtmiştir.

Xu ve arkadaşları (202) karaciğerde CCl_4 ile toksikasyon oluşturdukları grupta AST, ALT, MDA, GSH, CAT, SOD değerlerini ölçmüşler, AST, ALT, MDA değerlerinde artış; GSH, SOD ve katalaz değerlerinde ise azalma meydana geldiğini belirtmişler ve hepatosititeye karşı 5-4¹-Dihidroksi-3¹, 5¹-dimetoksi 7-o-β-D glukopiranoksi flavon kullanmış ve bu maddenin koruyucu olarak kullanılabileceğini açıklamışlardır.

Yaping ve arkadaşları (203) 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada, insan ve hayvanlarda hepatotoksisite oluşturan bir ksenobiyotik olan CCl_4 metabolizmasında oksijen varlığında oluşan triklorometil peroksil radikaline ($CCl_3O_2^{\cdot}$) karşı likopenin antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada, likopenin absorbe edildiği yerde renginin açıldığı görülmüştür. Bu da likopenin $CCl_3O_2^{\cdot}$ ile kolayca reaksiyona girdiğini göstermektedir. Çalışmanın sonucunda CCl_4 ile hasar verilmiş sıçanlarda

hayatta kalma süresinin artması üzerine, likopenin faydalı etkisi olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Ülkemizin çok geniş bir bitkisel florası vardır. Dolayısıyla bitkilerin tıpta tedavi amaçlı kullanımı için çok uygun bir ekosistem bulunmaktadır. Halk arasında tedavi maksatlı kullanılan bitkilerden biri olan *Matricaria chamomilla L.*, idrar çoğaltıcı, iştah açıcı, yatıştırıcı, gaz ve safra söktürücü özellikleriyle bilinir (16).

Yılmaz tarafından yapılan tez çalışmasında (204) *Matricaria chamomilla L.*'nin etil alkol ile oluşturulan akut mide hasarı üzerine etkisi incelenmiş ve bitkinin gastrik mukozal hasarı önlemede etkili olduğu sonucuna varılmıştır. *Matricaria chamomilla L.*'nin doza bağlı şekilde antiülserojen olduğu görülmüştür.

Cemek ve arkadaşları (205) tarafından yapılan çalışmada streptozotozin ile ratlarda diyabet oluşturulmuş ve *Matricaria chamomilla L.*'nin antidiyabetik etkisi araştırılmıştır. Artan *Matricaria chamomilla L.* ekstre dozlarının antidiyabetik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Sunulan bu çalışmada, ratlara CCl₄ uygulayarak karaciğerde toksikasyon ve bunun sonucunda oksidatif stres oluşturulmaya çalışılmıştır. *Matricaria chamomilla L.* ekstresi 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg 'lık dozlar halinde tedavi edici olarak ratlara gavajla verilmiştir. Uygulanan farklı dozlardaki ekstrenin etkilerinin de farklı olduğu görülmüştür. Bu üç tedavi grubundaki AST ve ALT değerlerinde önemli oranda azalma görülmüştür. MDA değerleri azalırken GSH değerlerinde artma görülmektedir. 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruptaki SOD değerlerinde istatistiksel önemde artış görülmüştür. 100 ve 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruplardaki katalaz aktivitesi artmıştır. Bu üç gruptaki GPx değerlerinde ise istatistiksel önemde artış söz konusudur.

6. SONUÇ

CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine *Matricaria chamomilla L.* ekstresinin 50, 100 ve 200 mg/kg canlı ağırlık miktarlarının 14 gün boyunca uygulanması sonucunda antioksidatif etkisinin araştırılması amacıyla yapılan bu doktora tez çalışmasında;

- Deneysel çalışmalarda pek çok etkenle karaciğer hasarı oluşturulabilmesine rağmen, insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için bu çalışmada CCl₄ tercih edildi. Kontrol grubu dışındaki ratlarda CCl₄ ile karaciğer toksikasyonu oluşturuldu. Artan AST ve ALT serum değerleri karaciğer hasarının bir göstergesi olarak değerlendirildi.
- Çalışmamızda CCl₄ + ekstre gruplarında serum AST, ALT değerleri CCl₄ grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ve sonuçlar kontrol grubuyla yakınlık gösterdi. Bu gruplardaki karaciğer hasarının CCl₄ grubuna göre daha az olduğu görüldü.
- Oksidatif stresin indikatörü olan MDA değerlerinin çok yüksek olduğu CCl₄ grubunda serbest radikal üretiminin arttığı, CCl₄ + ekstre gruplarında ise kontrol grubuna yakın olan MDA değerlerinin *Matricaria chamomilla L.*'nin oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir.
- Reaktif oksijen türlerinin etkisiyle artan oksidatif stresin azalması için kullanılıyor olmasından dolayı GSH seviyesinde azalma olduğu düşünülmektedir. 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı 5. gruptaki yüksek GSH değeri ekstrenin antioksidan sistemi desteklediğini göstermektedir.
- 50 mg/kg ve 100 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruplardaki SOD değerlerinin, kontrol grubuna göre düşük ve CCl₄ grubu değerlerine yakın bulunmuş ve bu gruplarda uygulanan MCE miktarların SOD miktarı yeterince artırmadığı görülmüştür. 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruptaki yüksek SOD

değerinin kontrol grubundan yüksek olması bu dozun antioksidan sistemi güçlendirdiğinin göstergesi olarak görülmektedir.

- Üç farklı dozda ekstrenin uygulandığı gruplardaki GPx değerlerinin, CCl₄ grubu değerlerine göre arttığı fakat kontrol grubu değerlerinden düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuç farklı dozlarda uygulanan ekstrenin, oksidatif stresi azaltma miktarlarını göstermektedir.
- 100 mg/kg ve 200 mg/kg ekstrenin uygulandığı gruplardaki katalaz değerlerinin, CCl₄ ve 50 mg/kg gruplarının değerlerinden fazla, kontrol grubundan düşük olduğu görülmüştür. Yüksek dozlarda uygulanan ekstrenin hücrel antioksidan savunmaya katkısı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak; *Matricaria chamomilla L.* ekstresinin CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada; *Matricaria chamomilla L.* ekstresinin oksidatif stresi baskılayıp antioksidan sistemi güçlendirdiği, özellikle artan dozlarda elde edilen sonuçların daha etkili olduğu görülmüştür. *Matricaria chamomilla L.* ekstresinin karaciğer harabiyetini tedavi etmek veya hasara karşı korumak amacıyla insanlar üzerinde faydalı olabileceği, karaciğer hastalıklarının klinik tedavisinde destekleyici olarak değerlendirilebileceği ve yardımcı tedaviler arasına girebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Wang H., Weit W., Wang N.P., et al., (2005) Melatonin Ameliorates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Fibrogenesis in Rats via İnhibition of Oxidative Stress. *Life Science* 77, 1902-1915.
2. MacDonalds-Wicks L.K., Garg M.L., (2003) Vitamin E Supplementation in The Mitigation of Carbon Tetrachloride İnduced Oxidative Stress on Rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14, 211-218.
3. Sun F., Hamagawa E., Tsutsui C., et al., (2001) Evalutaion of Oxidative Stres Durinh Apoptosis and Necrosis Caused by Carbon Tetrachloride in Rat Liver. *Biochimica at Biophysica Acta*, 1535, 186-191.
4. Malnick S.D.H., Beergadel M., Khobler H., (2003) Nonalcolic Fatty Liver: a Common Manifestation of a Metabolic Disorder. *Q.J. Med.* 96, 699-709.
5. Geier A., Kim S.K., Gerloff T., et al., (2002) Hepatobiliary Organic Anion Transporters Are Diffurently Regulatad in Acute Toxic Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride. *Journal of Hepatology* 37, 198-205.
6. Onori P., Morini S., Franchitto A., et al., (2000) Hepatic Microvascular Features in Experimental Cirrhosis a Structural and Morphometrical Study in CCl₄-Treated Rats. *Journal of Hepatology* 33, 555-563.
7. Moghaddam, AP, Eggers JS., Calabrese EJ., (1998) Evaluaion of Sex Difference in Tissue Following Acute Carbon Tetrachloride Toxicity in Male and Female Sprague-Dawley Rats. *Toxicology* 130, 95-105.
8. Akiyoshi H., Terada T., (1998) Mast Cell Myofibroblast and Nevre Terminal Complexes in Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhotic Rat Livers. *Journal of Hepatology* 29, 112-119.

9. Nanni G., Majorani F., Maloberti G., et al., (2000) Action of Chronic CCl₄ on The Retinol and Dolichol Content of Rat Liver Parenchymal and Non-Parenchymal Cells. *Life Sciences* 67, 2293-2304.
10. Mahmoud A., (2000) Protective Effects of Thymoquinone and Desferrioxamine Aganist Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride in Mice. *Mansour Life Sciences*, Vol.66, No.26, 2583-2591.
11. Parola M., Robino G., (2001) Oxidative Stress-Related Molecules and Liver Fibrozis. *Journal of Hepatology* 35 (2), 297-306.
12. Poli G., (2000) Pathogenesis of Liver Fibrozis, Role of Oxidative Stres. *Moleculer Aspects of Medicine* 21 (3), 49-98.
13. Lee KS., Buck M., Houglum K., et al., (1995) Activation of Hepatic Stellate Cells By TGF Alpha and Collagen Type I is Mediated by Oxidative Stres Through Cyb Expression. *Journal of Clinical Investigation* 96 (5), 2461-2468.
14. Parola M., Pinzani M., Casini A., et al., (1993) Stimulation of Lipid Peroxidation or 4- Hdroxynonenal Treatment Increase Procollagen Alpha 1 (I) Gene Expression in human Liver Fat- Storing Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 194 (3), 1044-1050.
15. Dündar Y., (2001) Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi*.2, 131-138.
16. Baytop T., (1986) Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Kitapevi.
17. Menteş N.K., (1983) Klinik Gastroenteroloji. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Cilt 2, (4. Baskı), 485-835.

18. Dursun N., (2001), Veteriner Anatomi II. Medisan Yayınevi, Ankara, (7.Baskı), 63-70.
19. Yaman K., (1999) Fizyoloji. Vipaş A.Ş., (3.baskı), Bursa, 174-176.
20. Robbins Sl., Kumar V. (1990) Temel Patoloji. Çeviri Editörü Prof.Dr. Yüksel Alvrur, Prof. Dr. Yıldız Erhan, Prof. Dr. Rıfkı Finci Güneş Kitapevi Ltd.Şti. Ankara , 735-736.
21. Aklan H.,(1988) Gastroenteroloji, Fizyoloji, Semptomlar. Klinik Makro Yayıncılık, Ankara, 245-320.
22. Telater H.,(1993) Gastroenteroloji Cilt 2. Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 555-562.
23. <http://www.easttroy.k12.wi.us/hs/dept/science/bottum/Adv%20Biology/digestive/danatomy/dahome.htm>
24. Bissel DM, Maher JJ., (1996) Hepatik Fibrosis and Cirrhosis, Zakim D, Boyer TD (Ed.) A Textbook of Liver Disease. Philadelphia, W.B.Sounders Company, 506.
25. Tulunay Ö. (2001) Kronik Viral Hepatit Patolojisi. Kılıçturgay K, (Eds.) Viral Hepatit, İstanbul, 317.
26. Bissell DM, Roll J. (1990) Connective Tissue Tetabolism and Hepatic Fibrosis. Zakim D., (Eds.) Hepatology: A Textbook of Liver Disease, Philadelphia, W.B. Saunders, 454.
27. Sherlock S, Dooley J., (1997) Anatomy and Function, Diseases of the Liver and Biliary System. (10th edition), Oxford, Blackwell Science Ltd, 1-15.

28. Ökten A., (2001) Karaciğerin Fonksiyonel Anatomisi Gastroenterohepatoloji. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, 311-314.
29. Ökten A., (1998) Türkiye’de Karaciğer Sirozunun Etyolojisi. Hepatolojide Güncel Gelişmeler Sempozyum Kitabı, 67.
30. Junqueira LC., Carneiro J., (2003) Basic Histology. (10 th edition), USA, 332-344.
31. Şentürk H., (2004) Serbest Radikal Hasarının Hepatobilier Sistem Hastalıklarındaki Rolü. Kocatepe Tıp Dergisi 5, 1-8.
32. Burtis Ca., Ashwood ER., (1999) Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company, (3rd Edition), Philadelphia, London, Toronto, 1125-1177.
33. <http://www.akaike-lab.bio.titech.ac.jp/akaike/english/resarch/index.html>
34. Kaplan L.A., Pesce JA., Kazmierce SC., (2003) Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation, Mosby, Vincinatti , 493-497.
35. İliçin G., Ünal S., Biberoglu K., et al., (1996) Temel İç Hastalıkları. Cilt I, Güneş Kitapevi, Ankara, 1077-1167.
36. Guyton A.C., (1986) Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul,1203-1211.
37. Mahoney FJ., (1999) Update On Diagnosis, Management and Prevention Of Hepatitis B İnfection. Clinical Microbiology Reviews 12 (2), 351-366.
38. Chisari F and Cerrari C., (1995) Hepatitis B Virus İmmunopathogenesis. Annu Rev. Immunol. 13, 29-60.

39. Chisari F. (1997) Cytotoxic T-Cells and Viral Hepatitis. *Journal Clin. Investig.* 99, 1472-1477.
40. Şentürk H., (1996) Kronik Hepatitler. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hepatoloji Bilim Dalı İç Hastalıkları Ders Kitabı II Hepatoloji, İstanbul, 68-93.
41. O'Grady JO, Schalm SW, Williams R., (1993) Acute Liver Failure: Redefining The Syndromes. *Lancet* 342, 273-275.
42. Riordan SM, Williams R. (1999) Cause and Prognosis in Acute Liver Failure. *Liver Transpl. Surg* 5, 86-89.
43. Williams R., (1998) Treatment of Fulminant Hepatitis. Zuckerman A.T, (Eds), *Viral Hepatitis*, London, Churchill Livingstone, 477-488.
44. Sterling RK., Shiftman ML., (1999) Fulminant Hepatic Failure, *Clinical Practice of Gastroenterology*. Philadelphia, Current Medicine Tnc, 1010-1018.
45. Sherlock S., Dooley J., (1997) Chronic Hepatitis, Sherlock S. (Eds). *Diseases of the Liver and Biliary System*. (10th Edition), Oxford, Blackwell Science Ltd, 303-330.
46. Çakaloğlu Y., (2001) Kronik hepatit, Ökten A (ed), *Gastroenterohepatoloji İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları*. İstanbul, 387-399.
47. Demirci U., (2006) Karaciğer Hastalıklarında Vasküler Endotel Büyüme Faktör (Vascular Endothelial Growth Factor, Vegf) Düzeyleri. 17.
48. Dolar E., (2002) Klinik Karaciğer Hastalıkları. Bölüm 4, 1.Baskı, Nobel&Güneş Tıp Kitabevi, 133-146.

49. You M., Crabb DW., (2004) Recent Advances in Alcoholic Liver Disease II. Minireview Molecular Mechanisms of Alcoholic Fatty Liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 287 (1), 1-6.
50. Montgomery R., (1996) *Biochemistry A Case-Oriented Approach 6th Edition 5:* Mosby-Year book, 203-204.
51. Janssen YMW., Houten BV., Borm PJA., Mossman BT., (1993) Biology Of Disease, Cell and Tissue Responses to Oxidative Damage. *Lab. Invest.* 69, 261-274.
52. Hoerner M., Behrens UJ., Worner T., Lieber CS., (1986) Humoral Immune Response to Acetaldehyde Adducts in Alcoholic Patients. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 54 (1), 3-12.
53. Tuma DJ., (2002) Role Of Malondialdehyde-Acetaldehyde Adducts in Liver Injury. *Free Radical Biol Med. Review* 15, 32 (4), 303-338.
54. Albano E., (2002) Free Radical Mechanisms in Immune Reactions Associated with Alcoholic Liver Disease. *Free Radic Biol Med. Review* 15, 32 (2), 110-114.
55. Jaeschke H., Gores GJ., Cederbaum AI., Hinson JA., et al. (2002)., Mechanisms of Hepatotoxicity Review. *Toxicol Sci.* 65 (2), 166-176.
56. Lumeng L., Crabb DW., (1994) Genetic Aspects and Risk Factors in Alcoholism and Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology Review* 107 (2), 572-578.
57. Lindi C., Montorfano G., Marciani P., (1998) Rat Erythrocyte Susceptibility to Lipid Peroxidation After Chronic Ethanol Intake. *Alcohol.* 16 (4), 311-316.

58. Schauer RJ, Gerbes LA, Vonier D, et al., (2003) Induction Of Cellular Resistance Against Kupffer Cell-Derived Oxidant Stress, A Novel Concept of Hepatoprotection by Ischemic Preconditioning. *Hepatology* 37, 286-295.
59. Lieber C., (1995) *Metabolism of Alcohol An Update in Alcoholic Liver Disease. Pathology and Pathogenesis*, 2nd Edn, Hall, P. Ed.,. Edward Arnold, London, 17-40.
60. Lieber CS., (2004) Alcoholic Fatty Liver: Its Pathogenesis And Mechanism of Progression to Inflammation and Fibrosis Review. *Alcohol*. 34 (1), 9-19.
61. <http://www.nature.com/ncpgasthep/journal/v4/n1/thumbs/ncpgasthep0683-f1.jpg>
62. Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, Et Al., (2001) Clinical Features and Natural History of Nonalcoholic Steatosis Syndromes. *Seminars in Liver Disease* 21 (1), 17-26.
63. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, et al. (1980) Nonalcoholic Steatohepatitis, Mayo Clinic Experiences with A Hitherto Unnamed Disease. *Mayo Clin Proc.* 55, 434-438.
64. Alba ML, Lindor K., (2003) Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics Review* 17, 977-986.
65. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP., (2002) Nonalcoholic Fatty Liver Diseases: An Agenda for Clinical Research. *Hepatology* 35 (4), 746-752.
66. Brunt EM, Elizabeth M. (2001) Nonalcoholic Steatohepatit: Definition and Pathology. *Seminars In Liver Disease* 21, 3-16.
67. Kasper, Braunwald, Fauci, et al., (2004), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16 th Edition, McGraw-Hill Companies, 1858-1859.

68. Memik F., Dolar E., (2005) Karaciğer Sirozu. Klinik Gastroenteroloji Nobel& Güneş Tıp Kitapevleri, 626-633.
69. Ökten A., Mungan Z., Çakaloğlu Y., (2001) Karaciğer Sirozu. Gastroenterohepatoloji Nobel Tıp Kitapevi, 449-450.
70. Ökten A., (1998) Türkiye’de Karaciğer Sirozunun Etyolojisi. Hepotolojide Güncel Gelişmeler Sempozyum Kitabı, 67.
71. Kumar V., Cotran RS., Robbins SL., (1994). Temel Patoloji. Çevikbaş U. (Ed.) Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti. (2. Baskı), İstanbul, 545-550.
72. Gochee PA, Johnsson JR, Clouston AD et al, (2003) Steatozis in Chronic Hepatitis C: Association with Increased Messenger RNA Expression of Collagen I, Tumor Necrosis Factor-Alpha and Cytochrome P450 2E1. J Gastroenterol Hepatology 18, 386-392.
73. Aboutwerat A, Pemberton PW, Smith A, et al., (2003) Oxidant Stress is a Significant Feature of Primary Biliary Cirrhosis. Biochim Biophys Acta 1637, 142-150.
74. Videla LA, Fernandez V, Tapia G, et al., (2003) Oxidative Stress Mediated Hepatotoxicity of Iron and Copper Role of Kuppfer Cells. Biometals 16, 103-111.
75. Schauer RJ, Gerbes LA, Vonier D, et al., (2003) Induction Of Cellular Resistance Against Kuppfer Cell-Derived Oxidant Stress, A Novel Concept of Hepatoprotection by Ischemic Preconditioning. Hepatology 37, 286-295.
76. Liu J., Li C., Waalkes MP., et al., (2003) The Nitric Oxide Donor, V-PYRRO/NO Protects Against Acetaminophen Induced Hepato-Toxicity in Mice. Hepatology 37, 324-333.

77. Shimizu I, Ma YR, Mizobuchi Y., et al., (1999) Effects of Sho-Saiko-To, A Japanese Herbal Medicine on Hepatic Fibrosis in Rats. *Hepatology* 29, 149-160.
78. Slott PA., Liu MH., Tavoloni N., (1990) Origin, Pattern and Mechanism of Bile Duct Proliferation Following Biliary Obstruction in The Rats. *Gastroenterology* 99, 466-477.
79. Comporti M., (1985) Biology of Disease Lipid Peroxidation and Cellular Damage in Toxic Liver Injury. *Lab. Invest.* 53, 599-623.
80. Freeman B., Crapo JD., (1982) Biology of Disease, Free Radicals and Tissue Injury. *Lab. Invest.* 47, 412-426.
81. Özmen Ö., (2004) Veteriner Genel Patoloji Ders Notları. Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Ders Notu 7, Burdur, 40-45.
82. Armutçu F., Gürel A., Söğüt S. ve ark., (2004) Alkol Alışkanlığı Olanlarda Eritrosit Oksidan ve Antioksidan Parametre Düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi* 9 (2), 50-53.
83. Kurt H., Başaran A., Muşmul A., (2004) Sıçanlarda CCl₄'ün Oluşturduğu Oksidatif Stresin Kateşin ile Önlenmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 29-34.
84. Yılmaz S.,Bahçecioğlu H.I., (2000) Karbontetraklorür ile Siroz Oluşturulmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzim ve Pirüvat Kinaz Aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci* 24, 25–28.
85. Halliwell B., Gutteridge JMC. (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine.* (3rd edition) New York.

86. Şenses SV., Özyazgan S., Akkan AG., (1999) Serbest Oksijen Radikalleri I. Vücuttaki Antioksidan Sistemler. Türk Aile Hekimliği Dergisi 3; 5-11.
87. Halliwell B., (1994) Free Radicals and Antioxidants. A Personal View. Nutr Rev. 52; 253-265.
88. Dündar Y., Aslan R., (2000) Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. Afyon Kocatpe Üniversitesi Yayınları, Afyon, 21-32.
89. Özkan A., Fışkın K., (2004) Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidan Enzimler. Turkish J.Hematoloji., No 1, Vol 14.
90. Akkuş İ., (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya Mimoza Yayınları,(1. Baskı), 1-84.
91. Aybey B., Tufan H., Ergenekon G., (1996) Serbest Radikaller. Türk Derm. 30, 116-122.
92. Cheeseman KH., Slater TF., (1993) An Introduction to Free Radical Biochemistry. British Medical Bulletin 49, 481-493.
93. Stoian I., Oros A., Moldoveanu E., (1996) Apoptosis and Free Radicals. Biochemical and Molecular Medicine 59, 93-97.
94. Bulky GB., (1993) Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. Clinical Relevance and The Therapeutic Efficacy of Antioxidant Therapy. Surgery 113, 479-483.
95. Yu BP., (1994) Cellular Defenses Against Damage from Reactive Oxygen Species. Physiol Rev. 74, 139-162.

96. Nordberg J., Arner ESJ. (2001) Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biogoly Medicine* 31, 1287-1312.
97. Frang Y.Z., Yang S., Wu G., (2002) Free Radicals, Antioksidants and Nutrition. *Nutrition* 18, 872-879.
98. Ceruti A.P. Mc Cord JM, Fridovich I., (1988) Oxy Radicals in Molecular Biology and Pathology. Alan R. Liss Ins. Newyork, 183-193.
99. Betteridge D.J., (2000) What is Oxidative Stres. *Metabolism* 49, 3-8.
100. Halliwell, B. (1994) Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Curiosity, Cause or Consequence. *Lancet*. Sep 10; 344 (8924), 721-724.
101. Fridovich I., (1997) Superoxide Anion Radical, Superoxide Dismutases and Related Matters, *J Biol Chem*. 272, 18515-18517.
102. Kılınç K., (1986) Kanserde Oksijen Radikalleri ve Süperoksit Dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 3, 59-76.
103. Ryter SW., Tyrrell RM., (1998) Singlet Molecular Oxygen a Possible Effector of Eukaryotic Gene Expression. *Free Radic Biol Med*. 24, 1520-1534.
104. Moncada S., Palmer R., Higgs EA., (1991) Nitric Oxide, Physiology Pathophysiology and Pharmacology. *Pharmacol Rev*. 43, 109-142.
105. Lowestein CJ., Dinerman JL., Snyder SH., (1994) Nitric Oxide, A Physiologic Messenger. *Ann Intern Med* 120, 227-237.
106. Schulman H., Nitric Oxide, (1997) A Spatial Second Messenger. *Mol Psychiatry* 2, 296-299.

107. Granner DK., (1996) Hormone Action. In Harper's Biochemistry, Appleton & Lange Publications, 509-521.
108. Star RA., (1993) Nitric Oxide. Am J Med Sci 306 (5), 348-358.
109. Tayeh MA., Marletta MA., (1989) Macrophage Oxidation of L- Arginine to Nitric Oxide, Nitrite and Nitrate, Tetrahydrobiopterin is Required as a Cofactor. J Biol Chem. 264, 19654-19658.
110. Koltuksuz U., Irmak MK., Karaman A., (2000) Testicular Nitric Oxide Levels After Unilateral Testicular Torsion/Detorsion in Rats Pretreated with Caffeic Acid Phenethyl Ester. Urol. Res 28, 360-363.
111. Kennedy MD., (1994) The Biochemistry of Synaptic Regulation in Central Nervous System. Ann Rev Biochem. 63, 571-600.
112. Rand MJ., Li CG., (1995) Nitric Oxide As a Neurotransmitter in Peripheral Nerves: Nature of Transmitter and Mechanism of Transmission. Ann. Rev. Pyhsiol. 57, 659-682.
113. Bast A., Goris R.J.A., (1989) Oxidative Stress, Biochemistry Anahuman Disease. Pharma Weekbl., 11(6), 199-206.
114. Yanbeyi, S. (1999) Aspirin Ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz xe Glutatyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88.
115. Burton G.W., (1989); Antioxidant Action of Carotenoids. J Nutr, 119, 109-111.

116. Richardson JS., (1991) Oxygen Free Radicals and Brain Dysfunction. *Inter J. Neuroscience*, 57, 1-17.
117. Ripine JE., Bast A., (1997) Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am j Respir Crit Care Med.*, 156, 341-347.
118. Ames Bn., Shigenaga Mk., Hagen Tm. (1993) Oxidants, Antioxidants and the Degenerative Diseases of Aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, Sep 1, 90 (17), 7915-7922.
119. Maxwell Sr., (1995) Prospects for the Use of Antioxidant Therapies, *Drugs*. Mar 49 (3), 345-361.
120. Cross C., Halliwell B., Borish, E., et al., (1987) Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med*, Oct, 107 (4), 526-545.
121. Holley AE., Cheeseman Kh., (1993) Measuring Free Radical Reactions in Vivo. *Br Med Bull*. Jul, 49(3), 494-505.
122. Papas M.A. (1998). *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*. CRC Press, 672.
123. Halliwell, B., Gutteridge, Jm. (1984) Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage and Antioxidant Therapy. *Lancet*. Jun 23, 1(8391), 1396-1397.
124. Winrow, V.R., Winyard, P.G., Morris, C.J., et al., (1993) Free Radicals in Inflammation. *Second Messengers and Mediators of Tissue Destruction*. *British Medical Bulletin* 49, 3, 506-522.
125. Frei B., (1994) Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action. *The American Journal of Medicine*, 97.

126. Köse K., Doğan P., (1992) Lipid Peroksidasyonu. Erciyes Üniversitesi Tıp Dergisi, Ek 1, 340-350.
127. Yarıktaş M., Fehmi D., Doğru H. ve ark., (2003) Baş-boyun Malign Tümörlerinde Malondialdehit Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri. 10, 65-67.
128. Öztürk M., Güzelhan Y., Sayar K. ve ark., (2001) Yaygın Gelişim Bozukluğu Olan Çocuklarda Plazma Malondialdehit ve Glutasyon Düzeylerinin Araştırılması. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 11, 155-159.
129. Yılmaz S, Temizer Ozan S., (2003) Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. Türk Biyokimya Dergisi 28, 252-256.
130. Jain S., Mc Vie R., Duett J., et al., (1989) Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidase and Glycollylated Hemoglobin in Diabets. Diabetes, Vol 38, 1539-1543.
131. Jlalal, I., Fuller, Cj. (1993) Oxidized LDL and Antioxidants. Clin Cardiol. Apr, 16(4 Suppl 1), 16-19.
132. Fujise, H. (1982) Enzyme İnduction in Liver Microsomes and Alteration of Benzo(A)Pyrene Metabolism in İsolated Liver Cells From Rats Administered Food Additives. Nagoya Med, J., 26, 151-171.
133. Ito, N., Hirose, M. (1989) Antioxidants-Carcinogenic and Chemopreventive Properties. Adv Cancer Res, 53, 247-302.
134. Wheeler RC., Salkzman AJ., (1990) Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. Analytical Biochemistry 184, 193-199.

135. Scandalias J.G., (1990) Response of Plant Antioksidant Defense Genes to Environmental Stress. *Adv. Genet.* 28, 1-41.
136. Bowler C., Van Montague, M. Inze D., (1992) Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. *Ann Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol* 43, 83-116.
137. Kılınç K., (1985) Oksijen Radikalleri: Üretilmeleri, Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. *Biyokimya Der.* 10, 2.
138. Klebanoff S.J., (1980) Oxygen Metabolism and the Toxic Properties of Phagocytosis. *Ann. Int. Med.* 39, 480-489.
139. Fridovich, I., (1975) Superoxide Dismutase *Ann. Rev. Biochem.* 44, 147-159.
140. Muray RK., Mayes P.A., Graner D.K., Radwell V.W., (1993) Harper'in Biyokimyası, G. Menteş (Eds), Barış Kitapevi.
141. Jenkins RR., Tengji J., (1981) Catalase Activity in Sceletal Muscle of Varying Fiber Types. *Experimentia.* 37, 67-68.
142. Percy ME, Can J. (1984), Catalase: An Old Enzyme with a New Role. Review *Biochem Cell Biol.* 62, 1006-1014.
143. Özel Y., (2006) Ratlarda Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarında Grape Seed Proanthocyanidin Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 5. Genel Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 11.
144. Mills GC., (1957) Hemoglobin Catabolism, Glutathione Peroxidase, An Erythrocyte Enzyme Which Protects Hemoglobin from Oxidative Breakdown. *J Biol Chem* 229, 189.

145. Mannervik B., (1985) Glutathione Peroxidase. *Method Enzymology* 113, 490-495.
146. Aydın A., Sayal A., İşimer A., (2001) Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı*.
147. Fırat S., (1997) Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon, Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon- S-Transferaz Düzeyleri Ve N-Asetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. *Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı Uzm.Tezi, Ankara, 95*.
148. D.L. Eaton and T.K. Bammler, (1999) Concise Review of the Glutathione S-Transferases and Their Significance to Toxicology. *Toxicological Sciences* 49, pp. 156–164.
149. E. Hodgson and R.C., (2001) *Smart Introduction to Biochemical Toxicology*. Wiley-Interscience Press, New York Chapter 6, pp. 117–131.
150. Ulakoğlu Z., Gümüştaş M.K., Belce A., (1998) Strese Bağlı Mide Mukozası Hasarında Endojen Glutasyon Tükenişinin Enerji Metabolizması ile İlişkisi. *Cerrahpaşa J. Med* 29 (3), 127-131.
151. Alican F., (1995) Mide Tümörleri. *Cerrahi Dersleri Cilt II, İstanbul, Afa Matbaacılık, 216-217*.
152. John P. Richie, Jr., (1992) The Role of Glutathione in Aging and Cancer. *Experimental Gerontology* 27, 615-626.
153. Kayaalp, O., (2002) *Tıbbi Farmakoloji* 91, 1484-1489.

154. MacDonald-Wicks LK., Garg ML., (2003) Vitamin E Supplementation in the Mitigation of Carbon Tetrachloride Induced Oxidative Stres in Rats. *Journal Of Nutritional Biochemistry*. 14, 211-218.
155. Jordao Jr, AA, Chirarello PG., Arantes MR., (2004) Effect of An Acute Dose of Ethanol on lipid Peroxidation In rats: Action of Vitamen E, *Food and Chemical Toxicology*. 42, 459-464.
156. Frank J., (2005) Vitamin E Supplementation an Alternative Strategy to Improve Vitamin E Status. *Journal of Plant Physiology*, 162, 834-843.
157. Champe PC., Harvey RA., (1997) *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2, 340.
158. Jiang Q., Lykkesfeldt J., Shigenaga MK., (2002) γ -Tocepherol Supplementation İnhibitis Protein Nitrotion and Ascorbate Oxidation in rats with Inflammation. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol.33, No.11, 1534-1542.
159. El-Demerdash FM., Yousef MI., Kedwany FS., (2004) Cadmium-Induced Changes in Lipid Peroxidation, Blood Hematology, Biochemical Parameters And Semen Quality of Male Rats. Protective Role of Vitamin E and β -Carotene, *Food and Chemical Toxicology*. 42, 1562-1571.
160. Lunec J., Blake D., (1990) Oxygen Free radicals, Their Relevance to Disease Processes. In Cohen RD., Lewis B., Albert KGMM. *The metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. Balliere Tindall, London., 189-212.
161. Jialal I. Fuller CJ., (1993) Oxidized LDL and Antioxidants. *Clinic Cardiol*. 16, 1-9.

162. Kayaalp S.O., (2002) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. (10th Edition), Hacettepe Taş Kitabevi, 1728.
163. Niki E., (1991) Vitamin C as An Antioxidant Selected Vitamins, Minerals and Functional Consequences of Maternal Malnutrition. World Rev Nutr Diet. 64, 1-30.
164. Özdener H., Çelik C., (1993) Vitamin C'nin Metabolik ve Klinik Önemi Yeni Yaklaşımlar. T. Klinik Tıp Bilimleri Dergisi. 13, 200-209.
165. Ceylan A., (1996), Tıbbi Bitkiler II Uçucu Yağ Bitkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Bornova, İzmir, 110-123.
166. Tanker N., Koyuncu M., Çoşkun M., (1998) Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 360-361.
167. Zeybek N., (1985) Farmasötik Botanik Kapalı Tohumlu Bitkiler Sistematığı ve Önemli Maddeleri. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 342-343.
168. Svehlikova V., Repcak M., (2006) Apigenin Chemotypes of *Matricaria Chamomilla* L. Biochemical Systematics and Ecology 34, 654-657.
169. Avallone R., Zanolli P., Puia G., (2000) Pharmacological Profile of Apigenin, a Flavonoid Isolated from *Matricaria Chamomilla*. Biochemical Pharmacology, Vol. 59, pp. 1387-1394.
170. Pastirova A., Repcak M., Eliasova A., (2004) Salicylic Acid Induces Changes of Coumarin Metabolites in *Matricaria Chamomilla* L., Plant Science 167, 819-824.

171. Zaiter L., Bouherroum M., Benayache S., et al., (2007) Sesquiterpen Lactones and Other Constituents from *Matricaria Chamomilla* L., *Biochemical Systematics and Ecology*, 1-6.
172. Baytop T., (1984) *Therapy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present)*. Vol. 3255, Publications of the Istanbul University, Istanbul, 359.
173. Wells P, Holbrook A., (1994) Interactions with Drugs and Food. *Ann Intern Med* 121, 676-83.
174. Heck A, DeWitt B, Lukes A., (2000) Potential Interactions Between Alternative Therapies and Warfarin. *Am J Health Syst Pharm*, 57, 1221-1230.
175. Teferedegne. T., (2000) New Perspective on the Use of Tropical Plants to Improve Ruminant Nutrition. *Proceed. Nutr. Soc.* 59, 209-214.
176. Schemppa H., Weiserb D., Kelber O. (2006) Radical Scavenging and Anti-inflammatory Properties of STW 5 (Iberogasts) and Its Components. *Phytomedicine* 13, 36–44
177. Zanolì U.P., Avallone R., Baraldi M. (2000) Behavioral Characterisation of the Flavonoids Apigenin and Chrysin. *Fitoterapia* 71, 117-123
178. Rekka E.A., Kourounakis A.P., Kourounakis P.N., (1996) Investigation of the Effect of Chamazulene on Lipid Peroxidation and Free Radical Processes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.*, 92 (3), 361-364
179. Jarrahi M., (2008) An Experimental Study of the Effects of *Matricaria chamomilla* Extract on Cutaneous Burn Wound Healing in Albino Rats. *Natural Product Research*, Vol. 22, No. 5, 423–428

180. Jain S., Mc Vie, R., Duett J., et al., (1989) Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidase and Glycolylated Hemoglobin in Diabetes. *Diabetes*, Vol.38, pp 1539-1543.
181. Buetler, E., Dupon O., Kelly B.M., (1963) Improved Method for The Determination of Blood Glutathione. *J. Lab. Clin.Med.*, Vol 61, 882-888.
182. Woolliams JA, Wiener G., Anderson PH, (1983) Variation in the Activities of Glutathione Peroxide and Superoxide Dismutase and in the Concentration of Copper in the Blood in Various Breed Crosses of Sheep. *Research in Veterinary Science* 34, 253-256.
183. Suttle NF., (1986) Problems in the Diagnosis and Anticipation of Trace Element Deficiencies in Grazing Livestock. *The Veterinary Record* 119, 519-522.
184. Arthur JR., Boyne R., (1985) Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Activities in Neutrophils from Selenium Deficient and Copper Deficient Cattle. *Life Sciences* 36, 1569-1574.
185. Flohe L., Gunzler W.A., (1984) Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods in Enzymology* 105, pp. 114–121.
186. Aebi H., (1984) Catalase in Methods in Enzymology 105, L. Packer (Ed), Academic Press, Orlando, 121-126.
187. Thomas L., (1998) Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST) *Clinical Laboratory Diagnostics*. (1st ed.) Frankfurt, Boks Verlagsgesellschaft, 55-65.
188. H. Wallhöfer, E.Schmidt, Schmit G., (1974) *Synopsis der Leberkrankheiten* Stuttgart.

189. (1980) International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Committee, J. Clinic Chem., Clinic Biochem.18, 521-534.
190. Özdamar K., (2001) Tıp, Biyoloji, Eczacılık ve Diş Hekimliği Öğrencileri İçin SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Basımevi, 4.Baskı, Eskişehir.
191. Güven N., Maraşlı N., Kaya N., (2003) Changes in the Lipid Peroxide Status of Geese in Chronic Carbon Tetrachloride Poisoning. Indian Veterinary Journal, 80, 508-510.
192. Cluet JL, Boiset M., Boudene C., (1986) Effect of Pretreatment with Cimetidine or Phenobarbital on Lipoperoxidation in Carbon Tetrachloride and Trichloroethylene-Dosed Rats. Toxicology, 38 (1), 91-102.
193. Grizzi F., Franceschini B., Gagliano N., (2003) Mast Cell Density, Hepatic Stellate Cell Activation and TGF- β 1 Transcripts In The Aging Sprague-Dawley Rat During Early Acute Liver Injury. Toxicologic Pathology, vol. 31, 2, 173-178.
194. Yang Y., Ahn T., Lee J., et al., (2007) Protective Effects of Pycnogenol on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Sprague-Dawley Rats. Food and Chemical Toxicology.
195. Rosalki SB, McIntyre N., (1999) Biochemical Investigations in the Management of Liver Disease. J Bircher (Eds), Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Volume 1, (Second ed.), Oxford University Press, 503-521.
196. Friedman LS, Martin P, Munoz SJ., (2003) Laboratory Evaluation of the Patient with Liver Disease. D. Zakim, (Eds). Hepatology, A Textbook of Liver Disease. Volume 1, (Fourth ed), Philadelphia, Saunders, 661-708.

197. Pratt DS., Kaplan MM, (1999) Evaluation of the Liver. Schiff M.F., (Eds), Diseases of the Liver, Volume 1, (Eight ed.) Philadelphia, Lippincott- Raven, 205-244.
198. Kurata M., Suzuki M., Agar N.S., (1993) Antioxidant Systems and Erythrocyte Life Span in Mammals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106 B, 477-487.
199. Wang C., Ma F., Liu J., et al., (2007) Protective Effect of Salvianic Acid A on Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 30 (1), 44-47.
200. M. Cabre, J. Camps, J.L. Paternain, et al., (2000) Time-course of Changes in Hepatic Lipid Peroxidation and Glutathione Metabolism in Rats with Carbon Tetrachloride Induced Cirrhosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27, pp. 694–699.
201. Jordao A., Silveira S., Figueiredo J., (1998) Urinary Excretion and Plasma Vitamin E Levels in Patients with AIDS. *Nutrition*, Volume 14, Issue 5, 423-426.
202. Xu D., Mei X., Chen Y., et al., (2005) Protective Effects of 5,4'-dihydroxy-3',5'-dimethoxy-7-O- β -D-glucopyranosyloxy-flavone on Experimental Hepatic Injury. *World J Gastroenterol* 11 (12), 1764-1768.
203. Yaping Z., Suping Q., Wenli Y., et al., (2002) Antioxidant Activity of Lycopene Extracted from Tomato Paste Towards Trichloromethyl Peroxyl Radical $CCl_3O_2\cdot$. *Food Chemistry* 77, 209-212.
204. Yılmaz E., (2007), Etil Alkol ile Oluşturulan Akut Mide Mukoza Hasarı Üzerinde *Matricaria chamomilla L.*'nin Antiülser ve Antioksidatif Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar,106.

205. Cemek M., Kađa S., ŐimŐek N. ve ark., (2008) Antihyperglycemic and Antioxidative Potential of *Matricaria chamomilla* L. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Journal of Natural Medicine.