

**KARBON TETRAKLORÜR'ÜN KARACİĞERDE MEYDANA
GETİRDİĞİ TOKSİKASYONA KARŞI *LIQUIDAMBAR*
ORIENTALIS'TEN ELDE EDİLEN
EKSTRELERİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ
Mesut AYDINGÖZ
1.DANIŞMAN
Doç. Dr. Sait BULUT
2.DANIŞMAN
Prof. Dr. Muhsin KONUK
BİYOLOJİ
Aralık, 2013

Bu tez çalışması 12. FEN. BİL. 02 numaralı proje ile AKÜ BAP tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**KARBON TETRAKLORÜR'ÜN KARACİĞERDE MEYDANA
GETİRDİĞİ TOKSİKASYONA KARŞI *LİQUİDAMBAR*
ORİENTALİS'TEN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN KORUYUCU
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mesut AYDINGÖZ

1. DANIŞMAN

Doç. Dr. Sait BULUT

2. DANIŞMAN

Prof. Dr. Muhsin KONUK

BİYOLOJİ

Aralık, 2013

TEZ ONAY SAYFASI

Mesut AYDINGÖZ tarafından hazırlanan “Karbon Tetraklorür’ün Karaciğerde Meydana Getirdiği Toksikasyona Karşı *Liquidambar orientalis*’ten Elde Edilen Ekstrelerin Koruyucu Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğini ilgili maddeleri uyarınca/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

1. Danışman : Doç. Dr. Sait BULUT

2. Danışman : Prof. Dr. Muhsin KONUK

Başkan : Prof. Dr. İbrahim EROL İmza

Üye : Prof. Dr. Muhsin KONUK İmza

Üye : Doç. Dr. Sait BULUT İmza

Üye : Doç. Dr. Meltem DİLEK İmza

Üye : Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr. Recep KARA İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun

...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

(Ünvanı, Adı ve Soyadı)

ÖZET
Doktora Tezi

KARBON TETRAKLORÜR'ÜN KARACİĞERDE MEYDANA GETİRDİĞİ
TOKSİKASYONA KARŞI *LIQUIDAMBAR ORIENTALIS*'TEN ELDE EDİLEN
EKSTRELERİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Mesut AYDINGÖZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

1.Danışman: Doç. Dr. Sait BULUT

2.Danışman: Prof. Dr. Muhsin KONUK

Bu çalışmamızda *Liquidambar orientalis*'ten elde edilen ekstrelerin (Sığıla Yağı) ratlarda CCl₄'e maruz bırakılmış karaciğeri koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Deneysel çalışmamız 5 gruptan oluşmuştur. Deney sırasında olası kayıplar da göz önüne alındığında her grup için 10 adet olmak üzere toplam 50 adet rat kullanılmıştır. Çalışma Sprague-Dawley cinsi 3–4 aylık erkek sıçanlarda yapılmıştır. 1.grup, standart yemle beslenmiştir, 2.gruba, zeytinyağında çözdürülmüş 0,8 ml/kg CCl₄, 3.gruba, 0,8 ml/kg CCl₄ ve 50 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi, 4.gruba, 0,8 ml/kg CCl₄ ve 100 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi, 5.gruba, 0,8 ml/kg CCl₄ ve 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi verilmiştir. CCl₄ intraperitoneal olarak uygulanmıştır. *Liquidambar orientalis* ekstreleri gavaj yöntemiyle intragastrik olarak verilmiştir. Çalışmanın 30. gününde hayvanlardan etik kurallara uygun olarak kalp kanı, karaciğer, beyin ve böbrek doku örnekleri alınarak ALT, AST, total protein, hemoglobin düzeyleri, oksidan (MDA, NO), antioksidan (GSH, GP_x, CAT) düzeyleri spektroskopik yöntemlerle ölçülmüştür. Histopatolojik incelemeler ışık mikroskopunda incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, kanda AST ve ALT, MDA düzeylerinin CCl₄ uygulanan tüm gruplarda belirgin derecede artması hasarın oluştuğunu göstermiştir. Tedavi gruplarında AST, ALT ve MDA seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir. Özellikle CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan grupta önemli oranda düşüş gözlenmiştir. GSH, GP_x ve CAT seviyeleri, tüm kan ve dokuların CCl₄ uygulanan

gruplarında anlamlı bir şekilde düşmüştür. Tedavi gruplarında GSH ve GPx seviyesi yükselmişken, karaciğerde GPx'de düşme gözlenmiştir. Beyin ve böbrekteki CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis*'teki CAT düzeylerinin kontrol grubuna yakın olduğu görülmüştür. CCl₄ gruplarındaki NO seviyeleri, kontrol gruplarına göre kan ve tüm dokularda yükselmiştir. Özellikle böbrekteki NO seviyesi çok yüksek bulunmuştur. Tedavi gruplarının tümünde NO seviyesinin CCl₄ gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür. Bu bulgular CCl₄ toksikasyonu sonucunda karaciğer ve diğer dokularda oluşan hasarın azaltılmasında sığla yağının (özellikle 200 mg/kg dozu) yararlı etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

2013, XIV + 152 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Sığla (*Liquidambar orientalis*), CCl₄, Antioksidan, Oksidatif Stres, Rat

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF *LIQUIDAMBAR ORIENTALIS* EXTRACTS ON LIVER TOXICITY INDUCED BY CARBON TETRACHLORIDE

Mesut AYDINGÖZ

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of BIOLOGY

1.Supervisor: Doç. Dr. Sait BULUT

2. Supervisor: Prof. Dr. Muhsin KONUK

The aim of the study is to investigate if the extracts from *Liquidambar orientalis* (Sığla Oil) have any protective effects on the liver after CCl₄ exposure in rats. Our experimental study was based on of five groups of rats. Considering the loses during the experiments, each group was planned to use 10 rats (50 in total). The experiment was carried out by using Sprague-Dawley type, 3 or 4 months old rats. The first group were fed by standard rat food. The second group were given 0,8 ml/kg CCl₄ intraperitoneally that dissolved in olive oil and the third group were given 8ml/kg CCl₄ and 50 mg/kg extract of *Liquidambar orientalis*, the fourth group were given 0.8 ml/kg extract of *Liquidambar orientalis*, and the fifth group were given 8ml/kg CCl₄ and 200 mg/kg extract of *Liquidambar orientalis*. CCl₄ was given intraperitoneally. The *Liquidambar orientalis* extracts were given intragastrically by gavage technique. On the 30th day of the experiment in accordance with the ethical rules, by taking heart blood and liver, kidney and brain tissue samples their ALT and AST, total protein, hemoglobin, oxidant (MDA, NO), antioxidant matter (GSH, GPx, CAT) levels were measured by spectroscopically methods. Histopathological examinations were examined and photographed in light microscope.

According to the results, in the blood AST, ALT and MDA levels were significantly increased in all groups applied to CCl₄ showed that damage. AST, ALT and MDA levels in treatment groups were observed to be decreased. Especially, a significant decrease was observed in the group treated with CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar*

orientalis. GSH, GPx and CAT levels were observed a significant decreasing in all groups applied with CCl₄ of the blood and tissues. While the levels of GSH and GPx were elevated in treatment groups, there was a decreasing in liver GPx. The CAT levels of CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* group in brain and kidney were found to be close to the control group. NO levels in CCl₄ groups were increased in all the tissues and blood compared to control groups. Especially NO levels in the kidney were too high. NO levels in all treatment groups were significantly decreased according to the CCl₄ groups. These datas were shown that it will be usefull effects of sigla oil in reducing of damage formed with result of CCl₄ toxication in liver and other tissues.

2013, XIV + 152 pages

Key Words: Liver, Sigla (*Liquidambar orientalis*), CCl₄, Antioksidant, Oxidative Stress, Rat

TEŞEKKÜR

En başta bu tezin hazırlanmasında her zaman desteğini gördüğüm, bu yorucu maratonda uzun ayrılıklara rağmen, kızlarım Meryem, Melike ve Elif Eda'ya yokluğunu aratmayan sevgili eŐime teŐekkürü bir borç bilirim.

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanlarım Sayın Doç. Dr. Sait BULUT'a ve her konuda öneri ve eleŐtirileriyle yardımlarını gördüğüm çok kıymetli hocam danışmanım Sayın Prof. Dr. Muhsin KONUK'a, araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen kıymetli dostum Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN'a ve bana maddi ve manevi destek veren hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Mesut AYDINGÖZ
AFYONKARAHİSAR, 2013

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 KARACİĞER	4
2.1.1 Karaciğerin makroskopik anatomisi	4
2.1.2 Karaciğerin mikroskopik anatomisi	6
2.1.3 Karaciğerde kan dolaşımı	7
2.1.4 Karaciğer sitolojisi	8
2.2 Karaciğerin fonksiyonları	10
2.2.1. Protein sentezi	11
2.2.2. Safra salgılaması.....	11
2.2.3. Depo fonksiyonu	12
2.2.4. Karbonhidrat metabolizması	12
2.2.5. Lipid metabolizması	13
2.2.6. Safra tuzları sentezi ve salınımı.....	13
2.2.7. Sentez fonksiyonu	14
2.2.8. Detoksifikasyon fonksiyonu	14
2.3. Karaciğer hastalıkları	15
2.3.1. Hepatitler	15
2.3.1.1. Akut viral hepatitler	16
2.3.1.2. Kronik viral hepatitler	17
2.3.1.3. Alkole bağlı karaciğer hastalığı	18
2.3.1.4. Siroz	21
2.3.1.5. Sarılık	22
2.3.1.6. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları.....	22
2.3.1.7. Karaciğer yetmezliği	23
2.3.1.8. Safra fizyolojisi	23

2.3.1.9. Karbontetraklorür'ün karaciğer hasarı oluşturma mekanizması	25
2.4. Karaciğer hücrelerinin oksidatif stresle ilişkisi	26
2.4.1. Hepatositler ve oksidatif stres	26
2.4.2. Endotel hücreleri ve oksidatif stres	27
2.4.3. Kupffer hücreleri ve oksidatif stres	28
2.4.4. Stellat hücreler ve oksidatif stres	29
2.4.5. Safra kanalı epitel hücresi ve oksidatif Stres	30
2.5. Serbest radikaller ve oksidatif stres.....	30
2.5.1 Reaktif oksijen türleri	34
2.5.1.1 Süperoksit radikali (O_2^-)	35
2.5.1.2 Hidrojen peroksit (H_2O_2)	37
2.5.1.3 Hidroksil radikali (OH^\cdot).....	38
2.5.1.4 Singlet oksijen (1O_2).....	40
2.5.2 Nitrik oksit (NO^\cdot) ve Nitrojen dioksit (NO_2^\cdot).....	40
2.5.3 Hipoklorik Asit ($HOCl$)	42
2.5.4 Perhidroksil radikali (OOH^\cdot)-Peroksil radikali (ROO^\cdot).....	42
2.6 Serbest radikal kaynakları	43
2.6.1 Eksojen radikal kaynakları.....	44
2.6.2 Endojen radikal kaynakları	45
2.7 Serbest radikallerin etkileri	48
2.7.1 Lipidler üzerine etkileri	49
2.7.1.1 Malondialdehit (MDA)	52
2.7.2 Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri	53
2.7.3 Karbonhidratlar üzerine etkileri	53
2.7.4 Proteinler üzerine etkileri.....	54
2.8 Vücudun antioksidan savunma mekanizmaları.....	55
2.8.1 Enzimatik antioksidanlar	61
2.8.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD).....	61
2.8.1.2 Katalaz enzimi (CAT)	62
2.8.1.3 Glutasyon Peroksidaz enzimi (GSH-Px)	63
2.8.1.4 Glutasyon Redüktaz enzimi (GSH-Rd).....	65
2.8.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	66
2.8.2.1 Glutasyon (GSH)	66
2.8.2.2 Vitamin E (α - tokoferol)	68
2.8.2.3 Vitamin C (Askorbiksit).....	70
2.8.2.4 Karotenler.....	72

2.8.2.5 Melatonin.....	72
2.8.2.6 Flavonoidler	73
2.8.2.7 Bilirubin.....	73
2.9 Karbontetraklorür (CCl ₄)	73
2.10 Liquidambar orientalis	77
3. MATERYAL ve METOT	84
3.1. Deney hayvanları ve metot	84
3.2. Biyokimyasal analizler	86
3.2.1 Malondialdehit (MDA) tayini	86
3.2.2 Katalaz (CAT) aktivitesi Ölçümü.....	86
3.2.3 Glutasyon (GSH) ölçümü	86
3.2.4 Glutasyon Peroksiaz (GSH-Px) enzimi ölçümü	87
3.2.5 Total protein ölçümü	87
3.2.6 Aspartat Aminotransferaz (AST) - Alanin Aminotransferaz (ALT) Ölçümü	87
3.2.7 Hemoglobin düzeyinin ölçülmesi.....	87
3.2.8 Nitrik oksit (NO) ölçümü	87
3.2.9 Histopatolojik inceleme.....	88
3.2.10 İstatistiksel analiz	88
4. BULGULAR	89
4.1 Rat ağırlıkları	89
4.2 AST-ALT enzim aktivite düzeyleri	90
4.3 MDA düzeyleri	92
4.4 GSH düzeyleri.....	95
4.5 CAT düzeyleri.....	98
4.6 GPx düzeyleri	101
4.7 NO düzeyleri.....	104
4.8 Total protein düzeyleri.....	107
4.9 Hemoglobin (Hb) düzeyleri	110
4.10 Histopatolojik bulgular	111
5. TARTIŞMA	115
6. SONUÇ	130
7. KAYNAKLAR	132
ÖZGEÇMİŞ.....	152

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

CCl ₄	Karbontetraklorür
- CCl ₃ ·	Trikloro Metil Radikali
- Cl ₃ COO·	Trikloro Metil Peroksil Radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
CH ₃ ·	Metil radikali
C ₆ H ₅ N=N·	Fenilhidrazin radikali
L·	Lipit radikali
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
OH·	Hidroksil radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
NO	Nitrik oksit
HO ₂ ·	Hidroperoksil radikali
NO ₂	Azotdioksit
HOCl	Hipoklorik Asit
OOH·	Perhidroksil radikali

Kısaltmalar

ROS	Reaktif oksijen türleri
PS	Portal alan
CV	Santral ven
KYH	Karaciğer yıldızlı hücreler
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoproteinler
AH	Akut hepatit
KH	Kronik hepatit
AVH	Akut viral hepatit
HAV	Hepatit A virüsü
HBV	Hepatit B virüsü
TTV	Transfusion transmitted virus
HCV	Hepatit C virüsü
CMV	Sitomegalo-virüs
FKY	Fulminan karaciğer yetmezliği
EBV	Ebstein-Barrvirüs
ADH	Alkol dehidrogenaz
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit
XO	Ksantin oksidaz
ALDH	Asetaldehit dehidrogenaz
MEOS	Mikrozomal etanol okside edici sistem
ALT	Alanin Aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit

GPx	Glutatyon Peroksidaz
GSH	Glutatyon
R-SH	Tiyol bileşikleri
MDA	Malondialdehit
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TGF	Transforming Growth Factor
IL-6	İnterlökin
CYP2E1	Cytochrome (mitokondriyal monooksijenaz) P450 2E1
NFb	Neurofeedback (Sağkalım faktörü)
NO	Nitrik Oksit
MMPT	Mitochondrial membrane permeability transition
SOD	Süperoksit dismutaz
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
nNOS	Neuronal nitric oxide synthase
PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
MPO	Myeloperoksidaz
ETS	Elektron taşıma sistemi
ADP	Adenozin di fosfat
TBA	Tiyobarbitürik asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
GSH	Glutatyon redüktaz
GST	Glutatyon S-transferaz
G6PDH	Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
LPO	Lipid peroksit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
DTNB	Dithiobis nitrobenzoik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1 Karaciğerin önden ve arkadan görünüşü.....	5
Şekil 2 Normal karaciğerin şematik diyagramı.....	6
Şekil 3 Karaciğerde lobül yapısı	7
Şekil 4 Normal ve karaciğer hasarı sonrası karaciğerin şematik görünümü	15
Şekil 5 Akut hepatit ve kronik hepatitin histopatolojisi	17
Şekil 6 Memeli hücrelerinde reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin meydana gelişimi	33
Şekil 7 Doğal oksijenden türeyen oksidan moleküller	34
Şekil 8 L-Arjininden nitrik oksit üretimi.....	41
Şekil 9 Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri	48
Şekil 10 Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonları	49
Şekil 11 MDA oluşum basamakları	51
Şekil 12 Memeli hücrelerinde antioksidan sistem.....	55
Şekil 13 Katalaz enziminin katalitik (1) ve peroksidatik (2) aktiviteleri	63
Şekil 14 GPx'in katalitik aktivitesi.	65
Şekil 15 Glutatyon redoks döngüsü	66
Şekil 16 Glutatyonun yapısı	66
Şekil 17 Glutatyonun vücuttaki sentezi.....	67
Şekil 18 Vitamin E (α -tokoferol)	68
Şekil 19 Askorbik asidin dehidro askorbik aside dönüşümü	71
Şekil 20 CCl_4 metabolizması.....	75
Şekil 21 <i>Liquidambar orientalis</i>	77
Şekil 22 <i>Liquidambar orientalis</i> 'in Türkiye'deki yayılış alanları	78
Şekil 23 <i>Liquidambar orientalis</i> 'in 5 loblu yaprağı.....	79

Şekil 24	Haftalara göre ratların ağırlık değişimleri.....	90
Şekil 25	AST enzim aktivite düzeyleri.....	91
Şekil 26	ALT enzim aktivite düzeyleri	91
Şekil 27	Kan MDA düzeyleri.....	93
Şekil 28	Beyin MDA düzeyleri	93
Şekil 29	Karaciğer MDA düzeyleri.....	94
Şekil 30	Böbrek MDA düzeyleri.....	94
Şekil 31	Kan GSH düzeyleri	96
Şekil 32	Karaciğer GSH düzeyleri	96
Şekil 33	Beyin GSH düzeyleri	97
Şekil 34	Böbrek GSH düzeyleri	97
Şekil 35	Kan CAT düzeyleri	99
Şekil 36	Karaciğer CAT düzeyleri	99
Şekil 37	Beyin CAT düzeyleri	100
Şekil 38	Böbrek CAT düzeyleri	100
Şekil 39	Kan GPx düzeyleri	102
Şekil 40	Karaciğer GPx düzeyleri	102
Şekil 41	Beyin GPx düzeyleri	103
Şekil 42	Böbrek GPx düzeyleri	103
Şekil 43	Kan NO düzeyleri	105
Şekil 44	Karaciğer NO düzeyleri	105
Şekil 45	Beyin NO düzeyleri.....	106
Şekil 46	Böbrek NO düzeyleri	106
Şekil 47	Kan total protein düzeyleri.....	108
Şekil 48	Karaciğer total protein düzeyleri.....	108
Şekil 49	Beyin total protein düzeyleri	109

Şekil 50 Böbrek total protein düzeyleri.....	109
Şekil 51 Hemoglobin düzeyleri.....	110
Şekil 52 Kontrol grubu.....	112
Şekil 53 CCl ₄ uygulanan grup.....	112
Şekil 54 CCl ₄ +50 mg/kg <i>liquidambar orientalis</i> uygulanan grup.....	113
Şekil 55 CCl ₄ +100 mg/kg <i>liquidambar orientalis</i> uygulanan grup.....	113
Şekil 56 CCl ₄ +200 mg/kg <i>liquidambar orientalis</i> uygulanan grup.....	114

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1 Karaciğerin başlıca fonksiyonları	11
Tablo 2 Reaktif oksijen türleri	35
Tablo 3 Serbest radikal kaynakları	43
Tablo 4 Serbest radikallerin hücredeki bazı zararlı etkileri	49
Tablo 5 Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar	56
Tablo 6 Endojen antioksidanlar ve özellikleri	58
Tablo 7 Başlıca ekzojen (farmakolojik) antioksidanlar ve özellikleri	60
Tablo 8 Sığla ağacının yetiştiği yerler	78
Tablo 9 <i>Liquidambar orientalis miller</i> türünün genel özellikleri	80
Tablo 10 Haftalara göre ratların ağırlık değişimleri	89
Tablo 11 AST ve ALT Enzim Aktivite Düzeyleri	90
Tablo 12 Kan ve dokulardaki MDA düzeyleri	92
Tablo 13 Kan ve dokulardaki GSH düzeyleri	95
Tablo 14 Kan ve dokulardaki CAT düzeyleri	98
Tablo 15 Kan ve dokulardaki GPx düzeyleri	101
Tablo 16 Kan ve dokulardaki NO düzeyleri	104
Tablo 17 Kan ve dokulardaki Tp düzeyleri	107
Tablo 18 Kan Hb düzeyleri	110
Tablo 19 Karaciğerde oluşan lezyonların değerlendirilmesi	111

1. GİRİŞ

Organizma kendi savunma mekanizmaları ile oluşan bozulma ve sorunları bir noktaya kadar çözebilir. Yetersiz kaldığında bunu dışa vurmaya başlar ve zamanla doku ve organlarda hasarlar oluşur.

Canlı organizmalar için hayati öneme sahip biyokimyasal tepkimeler sırasında oksijen indirgenerek, reaktif oksijen türleri (ROS) denilen ve birçok dokuda oksidatif hasara sebep olan ara metabolitleri meydana getirirler. Oluşturdukları oksidatif yıkımdan dolayı oksidan madde olarak isimlendirildiği gibi çoğunluğu radikalik olduğundan serbest radikal olarak da isimlendirilebilirler (Porter 1998). Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan, paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü atom veya moleküllerdir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşmaktadırlar (Cross *et al.* 1987).

Canlı organizmada biyokimyasal tepkimelerin devamlı meydana geldiğini göz önüne alırsak, metabolizmada da devamlı bir oksidan madde üretimi olduğunu söyleyebiliriz. Bu sebeple organizmadaki oksidan madde miktarının belirli bir dengede bulunması gerekmektedir. Denge, ancak fazla miktardaki oksidanın, antioksidan adı verilen oksidan temizleyici maddelerce etkisizleştirilmesi ile sağlanır. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge hücreSEL ve biyolojik etmenlerce bozulabilmektedir (Dündar *et al.* 2000, Montgomery 1996). Bu dengenin bozulması, serbest radikallerin artmasına ve hücre hasarına neden olur (Sies 1993).

Karaciğer, karın boşluğunda, diyaframın altında yer alan ve vücudun en büyük organlarından bir tanesi olup birçok metabolizma faaliyetlerinin cereyan ettiği bir organdır (Guyton 1991). Pek çok önemli fonksiyonu bulunmakla birlikte başlıca görevleri; protein sentezi, safra salgılanması, detoksifikasyon, bazı maddelerin depolanması, metabolizma, glikozun glikojen şeklinde depolanıp insülin denetiminde kana verilmesi, kan pıhtılaşmasında görev alan proteinlerin üretilmesidir (Boll *et al.* 2001).

Karaciğer hasarının değişik şekilleri oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluşmaktadır (Bacon *et al.* 1983, Comporti 1985). Karaciğer anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeni ile birçok toksik madde ve ilaçtan sıkça etkilenen bir organdır. Toksik oksijen ve hidroksijen radikallerin, lipid peroksidasyonu veya diğer yollarla hepatositlerin hücre membranlarını hasara uğrattıkları ve serbest radikallerin hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamlarda proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve DNA'yı hasara uğrattıkları gösterilmiştir (Brattin *et al.* 1985, Hooper 1989).

Karaciğerde toksik hasar oluşturan CCl₄ ksenobiyotik sistem üzerinden hepatotoksik etki gösteren, karaciğere toksik ve koruyucu etkisi olan ilaçlarda sıklıkla kullanılan iyi tanımlanmış bir ajandır. CCl₄ mitokondriyal monooksijenaz sistemde (CYP₄₅₀ 2E1) metabolize olarak aktif metaboliti olan kararsız triklorometil serbest radikallere (CCl₃·, CCl₃O₂·) dönüşür. CCl₃·, CCl₃O₂· hücre proteinlerine kovalent olarak bağlanarak membran lipid peroksidasyonuna ve hücre nekrozuna yol açan bir takım zincirleme reaksiyonu başlatır. Bundan dolayı, karaciğer hasarının engellenmesinde ve tedavisinde serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun ortadan kaldırılması anahtar rol oynamaktadır (Brattin *et al.* 1985, Williams and Burk 1990).

Bütün zararlı biyolojik ve kimyasal maddelerin detoksifikasyonu, vücudumuzun kurtarıcı organlarından karaciğerle birlikte bazı bitkisel ve sentetik (farmakolojik olarak hazırlanan ilaçlar) maddeler tarafından azaltılarak ya da tümüyle yok edilebilmektedir. Bu kurtarıcılardan biri olan bitkisel maddeler, antioksidan olarak karaciğere yardımcı olmak suretiyle zararlı etkilerden büyük ölçüde kurtarmaktadır (Kalaycıoğlu ve Öner 1994).

Bitkilerin tedavide kullanımları çok eski tarihlerde başlar. İnsanoğlu ilk çağlarda, hastalıkları iyileştirebilmek için tabiata, hayvanlara ve özellikle de bitkilere yönelmiştir. Sınama ve yanılma yöntemiyle bazen etkili bitkiler bulunup onlardan istifade edilmiştir (Kalaycıoğlu ve Öner 1994). Bitkisel kaynaklı bu maddeler günümüzde birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkisel maddeler ve diğer maddelere genelde antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidan maddeler, oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmaları veya tümüyle yok etmelerinden dolayı tıp alanlarında farklı isimlerle lanse

edilmeye başlanmış olup zaman içinde son halini almıştır. Bitkisel ilaç kullanılarak yapılan tedaviye “Bitkilerle Tedavi” (fitoterapi) kelimesinin yanında fitofarmakoterapi adı da verilmektedir (Gürün 2004).

Sığla veya günlük ağacı olarak adlandırdığımız *Liquidambar orientalis* Miller ülkemizin relik-endemik en önemli türlerden birisidir. Avrupa'da ve Türkiye'de yapılan paleobotanik ve polinolojik çalışmalar sonucu eosene kadar uzanan bir geçmişe sahip olduğu, tersiyer sonrası buzullaşmalar sırasında daha güneye çekilerek, Anadolu'nun bazı korunaklı yerlerinde günümüze kadar gelebildiği ortaya konmuştur (Acar *et al.* 1993).

Türkiye'ye özgü ağaç türlerinden olan ve dar bir alanda yayılış gösteren sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.) Hamamelideceae familyasının Bucklandioideae alt familyasına mensup *Liquidambar*'ın 6 türünden biridir (Berkel 1955). Tabii yayılışı bakımından sadece Türkiye'de yetişen sığla ağacı, Muğla ilimize bağlı Marmaris, Fethiye, Köyceğiz ve Ula yörelerinde alçak ve deniz seviyesine yakın sulu dereler içerisinde ve sulak kısımlarda, az miktarda Denizli ilimizin Günlük Çayı, Gereniz Çayı, Acıpayam'ın Gölcük Köyü ve Antalya ilimizin Aksu Vadisi çevresinde taban suyunun yüksek olduğu arazilerde yetişmektedir (Acatay 1963, İstek 1994).

Sığla ağacından elde edilen sığla yağı; fiksator olarak parfümeride, sabun sanayinde, eczacılıkta bazı ilaçların hazırlanmasında, ciklet ve tütünlerin kokulandırılmasında, sinamik asit ve sinamik alkol gibi kimyasal maddelerin doğal kaynağı olarak, iyi bir antiseptik ve parazit öldürücü olarak ve dâhilen alındığında astım, bronşit gibi üst solunum hastalıklarında, pomat ve yakı halinde uyuz ve mantar gibi cilt hastalıklarında kullanılmaktadır. Sığla yağından elde edilen uçucu yağ ise birçok doğal esanslı parfümün bileşiminde kullanılmaktadır (Baytop 1980, Hafizoğlu *et al.* 1996).

Bu çalışmada, ratlarda oksidatif stres oluşturan ve kronik kullanımda karaciğere toksik etkisi bilinen CCl₄'e karşı, *Liquidambar orientalis*'ten elde edilen ekstrelerin karaciğeri koruyucu etkisinin olup olmadığı ve varsa ne derece olduğunun araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

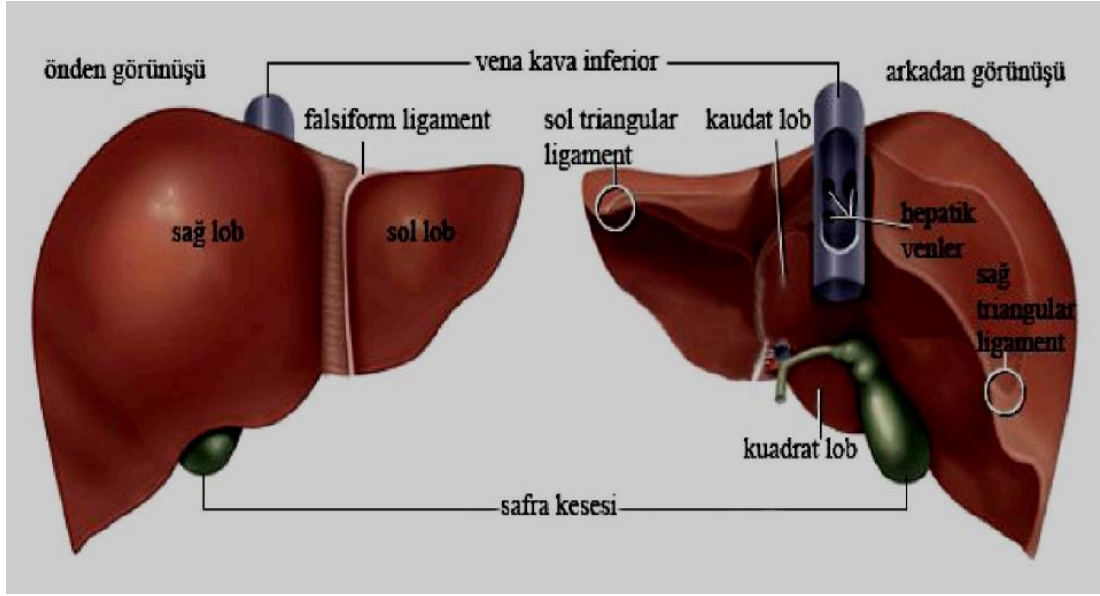
2.1. KARACİĞER

2.1.1 Karaciğerin makroskopik anatomisi

Karaciğer; vücudun deriden sonra en büyük organı ve en büyük bezidir. Yaklaşık 1,5 kg ağırlığında olan karaciğer, diyaframın altında abdominal boşlukta yerleşmiştir (Aytekin ve Solakoğlu 2006). Karaciğer, ön yüzünün küçük bir kısmı hariç kaburga kemikleri tarafından tamamen örtülür ve üst kısmı altıncı kaburgaya ulaşır (Wang *et al.* 2005, MacDonalds-Wicks and Garg 2003). Karaciğerin alt yüzünde sağ böbrek, duodenum, kolon ve mide bulunur. Karaciğer diyaframa, karın duvarına, mide ve duodenuma karaciğer bantları ile yapışır (Dursun 2001).

Histolojik olarak karaciğer, lobüllerden yapılmış olup, organda bir parankima bir de stroma ile ayırt edilir. Karaciğer, hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilum bölgesinde bu kapsül organın içerisine girerek gittikçe incelen trabekulalar oluşturmaktadır. Bu şekilde karaciğer fizyolojik ve morfolojik olarak birbirine eş değerde çok sayıda küçük bölgelere ayrılmış olur. Bu bölgelere “Karaciğer Lobülleri” adı verilir. Bu nedenle karaciğer, lobüler bir bez karakteri göstermektedir. Karaciğer lobüllerinin şekillenmesinde, karaciğer dolaşımının yanı sıra stromasında büyük rolü vardır (Kayalı 1992, Junqueira *et al.*1998).

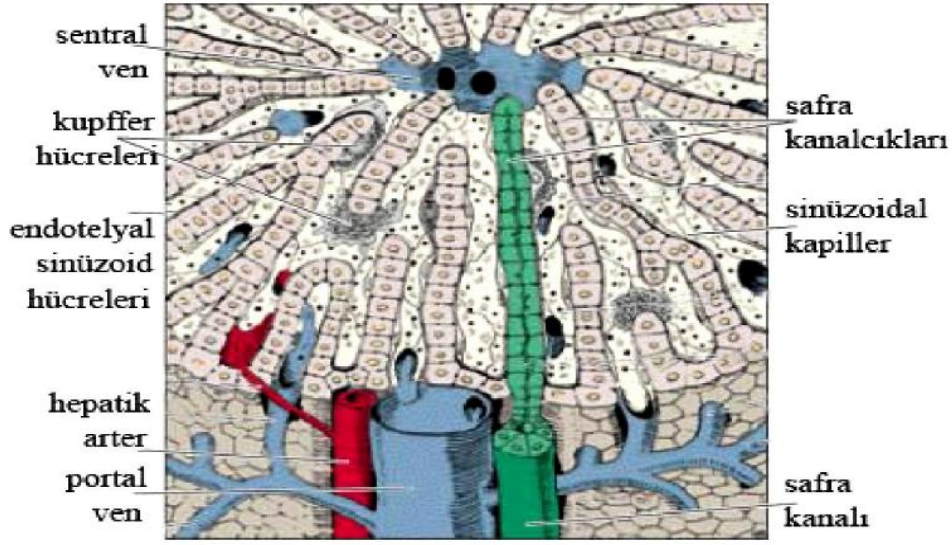
Sağ ve sol olmak üzere iki anatomik loba ayrılmıştır (Şekil 1). Sağ lobun arka yüzeyinde caudate lob ve alt yüzeyinde quadrate lob denilen iki küçük lob daha bulunmaktadır. Karaciğer, hepatic arter ve portal venin sağ ve sol kolları tarafından beslenmektedir. Lobüller arası bağ dokusu, diğer bir deyimle organın stroması, özellikle birkaç lobülün birbirlerine köşeleri aracılığıyla temas ettiği yerlerde fazlaca gelişmiştir. Bunlar üçgen görünümündedir. Bağ dokusunun fazlaca bulunduğu bu bölgelere, Kiernan aralığı, Glisson üçgeni, portal alan, portal aralık veya periportal alan denilmektedir. Burada bir arter (A. hepatica'nın dalı), bir ven (V. porta'nın dalı olan V. interlobularis) ve bir safra kanalcığı (Ductuli biliferi) bulunmaktadır (Tekelioğlu 2002, Junqueira *et al.*1998).



Şekil 1 Karaciğerin önden ve arkadan görünüşü (Sedat 2011)

Hepatik arter karaciğere genel dolaşımdan bol oksijenli kanı taşıırken, portal ven sindirim sisteminin kapiller yatağından besin maddelerince zengin kanı taşır (Şekil 2). Venöz drenaj hepatik venler içine; biliyer drenaj ise sağ ve sol hepatik kanallar içindedir. İnce bir bağ dokusu olan Glisson kapsülü karaciğerin bütün yüzeyini kaplamaktadır. Glisson kapsülü; damar ve sinir kollarıyla karaciğer parankimi için destekleyici bir yapı sağlamakta ve parankimi ikiye ayırmaktadır (Aslan and Tietz 2005).

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, oksijence 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 (Dursun 2001, Aklan 1988).



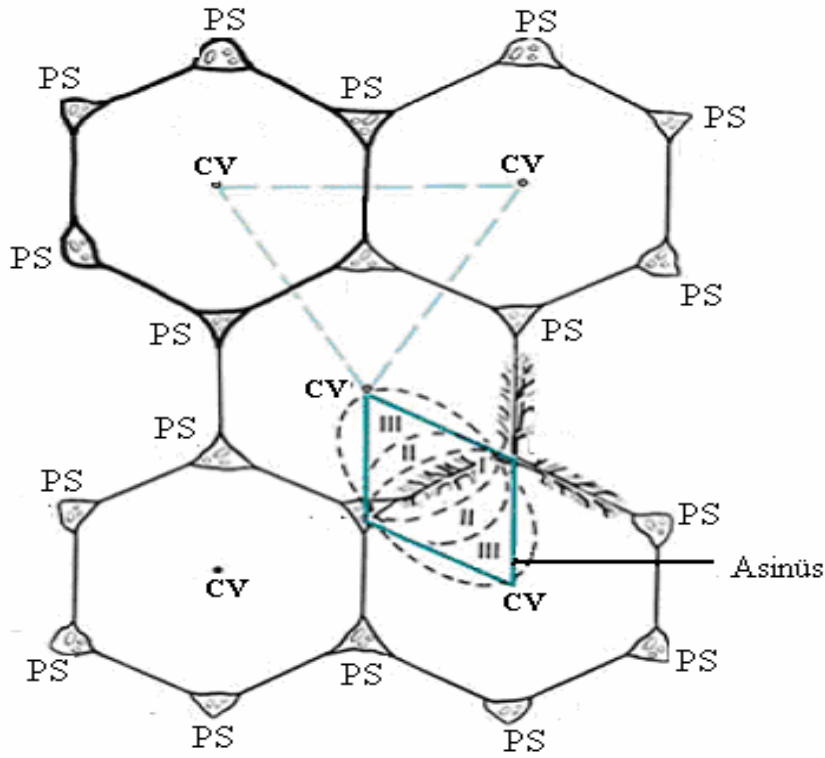
Şekil 2 Normal karaciğerin şematik diyagramı (Sedat 2011)

2.1.2 Karaciğerin mikroskopik anatomisi

Karaciğer, 'lobül' veya 'asinüs' denilen histolojik ünitelerden oluşur. Köşelerinde portal alanların, merkezinde terminal hepatik venülün (santral ven) bulunduğu poligonol 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 (Bissel and Maher 1996, Tulunay 2001).

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 3'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. 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 (Tulunay 2001, Ökten 2001).



Şekil 3 Karaciğerde Lobül Yapısı (Ökten 1998)

(PS: Portal Alan; CV: Santral Ven)

2.1.3 Karaciğerde kan dolaşımı

Karaciğerde biri fonksiyonel, diğeri arteryel olarak nitelendirilen ikili bir dolaşım söz konusudur. Fonksiyonel olan dolaşım vena porta ile başlar ve kanın % 70-80'ı bu yolla gelir. Vena porta abdominal organlardan gelen oksijenden fakir, besinden zengin kanı taşır. Arteryel dolaşım ise hepatik arterle başlar ve kanın geri kalan kısmı bu yolla gelir.

Hepatik arter ise oksijenden zengin kanı karaciğere getirir (Kayalı 1992, Junqueira *et al.* 1998).

Fonksiyonel damar sisteminin karaciğer içindeki dağılımı şu şekildedir (Erbengi 1996):

- 1.Vena interlobaris,
- 2.Vena interlobularis,
- 3.İntra-lobular venoz sinuzoidler,
- 4.Vena centralis,
- 5.Vena sublobularis (V. kolligentes, toplayıcı venler),
- 6.Vena cava inferior.

Besleyici kan dolaşımı da şu şekildedir:

- 1.Arteria hepatica,
- 2.Arteria interlobaris,
- 3.Arteria interlobularis,
- 4.İntralobular venoz sinuzoidler.

Lenf damarlarıyla taşınan kompleks lipidler (silomikronlar) dışında ince bağırsaklardan emilen maddelerin büyük bir kısmı portal ven yoluyla karaciğere gelir. Karaciğer, metabolitlerin toplanması, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin nötralize ve elimine edilmesi işlemlerinin yapıldığı temel organdır (Junqueira *et al.* 1998).

2.1.4 Karaciğer sitolojisi

Karaciğer hilumda kalınlaşan “*Glisson Kapsülü*” olarak adlandırılan ince bir bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür. Hilumda portal ven ve hepatic arter girer, sağ ve sol hepatic kanallar ve lenfatikler çıkar. İnce retiküler lif ağı bu alandan başlayarak hepatositlere ve karaciğer lobüllerinin sinüzoidal endotelial hücrelerine destek sağlar (Ökten 2001).

Karaciğer parenkimi retiküloendotelial hücrelerce çevrelenerek desteklenen yapı içinde sıralanmış hepatosit tabakalarının (*plates of hepatocytes*) organize olması ile meydana gelir. Hepatositlerin tabakaları bir hücre kalınlığındadır. Her bir tabaka birbirinden

sinüzoid (*sinusoid*) olarak adlandırılan damar yapıları ile ayrılır. Bu sinüzoidlerde hepatik arterden ve portal venden gelen kan biribiri ile karışarak santral vene doğru gider. Sinüzoidlerin duvarı endotelial hücre ile kaplıdır. Sinüzoidlerde endotelin lümenine bakan yüzeyinde bulunan özelleşmiş fagositik hücreler kupffer hücresi (*kupffer cell*) olarak adlandırılır. Kupffer hücreleri tipik yerel makrofajlardır ve başlıca fonksiyonları; yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini ve immunolojik olaylarla ilgili proteinleri sindirmektir. Disse aralığına yerleşmiş yıldızimsı ve yağ depolayıcı hücrelerdir. Bu hücrelere aynı zamanda “ito hücreleri” de denilmektedir. Bu hücrelerin sitoplazmasında çok miktarda yağ damlacıkları bulunmaktadır. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptirler. Yağda eriyen A vitamini bu hücrelerde birikir. Hepatositler ve endotelial hücreler arasında yerleşen vitamin A metabolizmasında rol alan yağ depolayıcı hücreler; KYH veya Lipositler (*Lipocytes*) olarak adlandırılırlar. Karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık %30’u retikuloendotelial hücrelerden oluşur, bunların 1/3’i Kupffer hücreleridir. Retikuloendotelial hücreler hepatositlere çevreleyen ve destekleyen hücreler olduğu gibi fagositoz ve sitokinlerin salınımı gibi daha özel işlevlere de sahiptir (Junqueira and Carneiro 2003, Tezel *et al.* 2002, Burtis and Ashwood 1999).

Karaciğerdeki hücrelerin % 65’ini, karaciğer hacminin % 80-88’ini hepatositler oluşturur. Hepatositler, altı veya daha fazla yüzeye sahip, 20-30 µm çapındadır ve karaciğer lobülü içinde santral ven çevresinden periferine doğru dizilmişlerdir. Hepatositler bir veya iki hücre kalınlığında tabakalar oluştururlar. Bu tabakalar arasında sinüzoid adı verilen endotel hücreleriyle döşeli kan akımının sağlandığı boşluklar bulunur. Hepatositler granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulumlar açısından oldukça zengindirler. Elektron mikroskopuyla alınan kesitlerde, granüllü endoplazmik retikulum sisternalarında yerleşmiş çok sayıda poliribozom görülmüştür. Granüllü endoplazmik retikulum üzerindeki poliribozomlarda, hem karaciğerin kendisi hemde plazma lipoproteinleri (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) için protein sentezi yapılır (Junqueira and Carneiro 2003, Ross and Romrell 1995).

Hepatositler, organizmada yağ metabolizmasının merkezi konumundadırlar. Sentezledikleri safra tuzları bağırsak lümeninde misel oluşumunu sağlar. Emilen yağ asitleri ya silomikronlar içerisinde ya da albumine bağlı olarak kan dolaşımında taşınırlar. Endotel hücreleri sinuzoidleri disse aralığından ayıran, aralarında geniş porları olan bazal membran ve intersellüler birleşmeler içermeyen hücrelerdir. Endotel hücreleri ince sitoplâzmasında çok sayıda por bulunur. Kan ile gelen oksijen ve metabolik maddeler kapillerden disse aralığını geçerek hepatositlere belirgin bir engelle karşılaşmadan kolayca ulaşırlar (Şentürk 2004, Burtis and Ashwood 1999).

Hepatosit arasındaki safra kanalcığından başlayan safra kanalları, safrayı kanın ters yönünde, yani klasik lobülün merkezinden periferine doğru taşırlar. Hepatositlerle çevrili olan safra kanalcıklarını safra kanalı epitel hücreleri ile çevrili kanallarla birleştiren yapılara herring kanalı denir. Bu bölge hepatosit kök hücrelerine ev sahipliği yaptığı için stratejik öneme sahiptir (Şentürk 2004, Burtis and Ashwood 1999).

2.2 Karaciğerin fonksiyonları

Karaciğerin hem endokrin hem de ekzokrin birçok fonksiyonu vardır (Junqueira *et al.* 1998). Günde yaklaşık 4 su bardağı (1 L) safra salgılar, yağ protein ve karbonhidrat metabolizmasını düzenler. Serum proteinlerin sentezi, vücudun ihtiyacı olan vitaminleri, yağ, şeker ve kan yapımı için gerekli olan maddeleri depolar, kan miktarını ayarlar (kan hücrelerinin yapımı), hormonların görevleri üzerinde etkili olur. Üre sentezi, boşaltım işlevi, zehirsizleştirme işlevi ile endojen atık ürünlerin ve zararlı ksenobiyotiklerin, safra ile atılmasını sağlar (Tablo 1) (Saidani *et al.* 2009).

Tablo 1 Karaciğerin başlıca fonksiyonları (Saidani *et al.* 2009)

Metabolizma	Karbonhidrat Lipit Aminoasitler ve proteinler Bilirubin Hormonlar
Salgı	Safra asidi Kolesterol Bilirubin
Hematoloji	Pıhtılaşma faktörlerinin üretimi Fetüstaki kırmızı kan hücrelerinin üretimi
Detoksifikasyon	Amonyak Bilirubin Alkol İlaçlar
Depolama	Glikojen Lipitler Amino asitler ve proteinler İyonlar Vitaminler Bakır
İmmünoloji	Bakteriler ve diğer yabancı maddelerin patolojik olarak temizlenmesi

2.2.1. Protein sentezi

Hepatosit, kendisi için gerekli proteinlere ek olarak, salgılamak üzere çeşitli plazma proteinleri (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) de sentezler. Bu proteinlerin sentezi endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Genellikle hepatositler proteinleri salgı granülleri halinde stoplazmasında depolamaz, sürekli olarak kan dolaşımına verir. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin yaklaşık %5'i makrofaj sisteminin hücreleri (Kupffer hücreleri) tarafından üretilir, geri kalan bölüm hepatositlerde sentezlenir (Ricci *et al.* 2006).

2.2.2. Safra salgılaması

Safra salgılanması, hepatositlerin kandaki maddeleri alıp dönüştürerek safra kanalcıkları

içine salgılamaları nedeniyle bir anlamda ekzokrin bir fonksiyondur. Safra, su ve elektrolitlere ek olarak birkaç ana bileşene daha sahiptir. Bunlar; safra asitleri, fosfolipitler, kolesterol ve bilirubindir. Bu maddelerin yaklaşık %90'ı uzak barsak epitelinden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığıyla kandan safra kanalcıklarına taşınır. Safra asitleri sindirim sisteminde lipitlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir işlev görerek, bunların lipaz ile sindirilmesini ve ardından emilmesini kolaylaştırır. Karaciğer tarafından sürekli olarak salgılanan safra normalde duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depolanır (Saidani *et al.* 2009).

2.2.3. Depo fonksiyonu

Lipitler ve karbonhidratlar, karaciğerde trigliserid ve glikojen şeklinde depolanır. Bu metabolit depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemlidir. Karaciğer sadece karbonhidratların değil bunun dışında, demir, yağda çözünen vitaminler (A, D, E, K), vitamin B12, folik asit, demir ve bakırı da depolar. Bu maddelerin eksikliklerinde depolandıkları yerden salınarak kullanılırlar. Ancak bakır gibi bazı maddelerin fazlaca depolanması sağlığı tehdit edebilir (Guyton 1991). Vücutta, kandaki hemoglobinde bulunan demir dışındaki, demirin en büyük bölümü karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Ayrıca karaciğer, kan hacmi aşırı şekilde arttığında kan deposu olarak görev yapabilen ve kan hacmi azaldığında ise ekstra kan sağlama yeteneği olan bir organdır (Saidani *et al.* 2009).

2.2.4. Karbonhidrat metabolizması

Karaciğer özellikle kandaki glukoz konsantrasyonunun devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynar. Karbonhidratça zengin öğünlerden sonra dolaşımdaki fazla glukozu ve monosakkaritleri alır. Glukoz dışındaki monosakkaritleri de glukozla çevirdikten sonra glikojen şeklinde depolar. Kan glukozunda düşme olduğunda, öncelikle depoda bulunan glikojen, glukozla dönüştürülür. Eğer depoda glikojen tükenmişse, glukoneogenez yoluyla laktat, gliserol veya amino asitlerden glukoz sentezlenir ve kan glukoz dengesi korunur. Karaciğer karbonhidrat ve proteinin fazlasını yağ asidi ve trigliseride dönüştürerek depolanmak üzere yağ dokusuna gönderir (Kaplan *et al.* 2003, Guyton 1991).

Karaciğerin karbonhidrat metabolizması ile ilgili fonksiyonları, glikojenin depo edilmesi ve parçalanması, glukoneojenez, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı, galaktoz ve fruktozun dönüştürülmesi, glukozun diğer monosakkaritlere ve lipitlere dönüştürülmesi olarak özetlenebilir (Robbins *et al.* 2000).

2.2.4. Lipid Metabolizması

Karaciğerin lipid metabolizması ile ilgili fonksiyonları, yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, fosfolipid sentezi, lipoproteinlerin sentezi, keton cisimlerinin sentezi, kolesterol biyosentezi, safra asitlerinin ve safranin oluşturulmasıdır (Robbins *et al.* 2000).

Karaciğer, yağ asitlerini asetat ünitelerinden yeniden sentezlemesinin yanı sıra yağ asitlerini plazmadan alarak yağların ve fosfolipitlerin sentezi için kullanır. Sonrasında bu molekülleri proteinlerle kompleks hale getirerek, lipoproteinler şeklinde kana verir. Hepatositler yağ asitlerini keton cisimlerine dönüştürebilen hücrelerdir ve uzun süreli açlıktan sonra sinir dokusu keton cisimlerini enerji kaynağı olarak kullanmaya başlar. Ancak keton cisimleri miktarı çok arttığında, plazma pH değeri belirgin şekilde düşer ve şiddetli ketoasidoza yol açarak hızlı elektrolit değişimleri ve bilinç kaybına neden olur. Karaciğer kolesterol sentezinin %80'ninin gerçekleştiği organdır. Kolesterol, hücre membranı, safra asitleri ve steroid hormonların sentezi için kullanılır. Ayrıca kolesterol şeklinde depolanır. Kolesterolün geri kalan önemli bir kısmı serbest ya da esterleşmiş formda "çok düşük dansiteli lipoproteinler" (VLDL) yapısına katılır, bunlar da diğer dokularda kullanılmak üzere kana verilirler. Ayrıca karaciğer, kolesterol ve kolesterol esterleri içeren lipoprotein komplekslerini kandan alır ve yıkıma uğratar (Guyton 1991, Ökten 2001).

2.2.5. Safra tuzları sentezi ve salınımı

Safra tuzlarının tek salınım yeri karaciğerdir. Biyosentezleri kolesterole hidroksil gruplarının katılmasıyla başlar. Karaciğerden salgılanan safranin %65'i safra asidi, %20'si fosfolipid, %4'ü kolesterol, %5'i protein, %0,3'ü ise bilirubin ve safra

pigmentidir. Safra asitleri yağ sindiriminde ve emiliminde önemli olduklarından, yağda çözünen tüm vitaminlerin emilimi safra yardımıyla olur. Safra salınımındaki aksaklık K vitamini eksikliğine ve dolayısıyla pıhtılaşma faktörlerinin sentezinde bozulmaya yol açar (Guyton 1991, Ökten 2001).

2.2.6. Sentez fonksiyonu

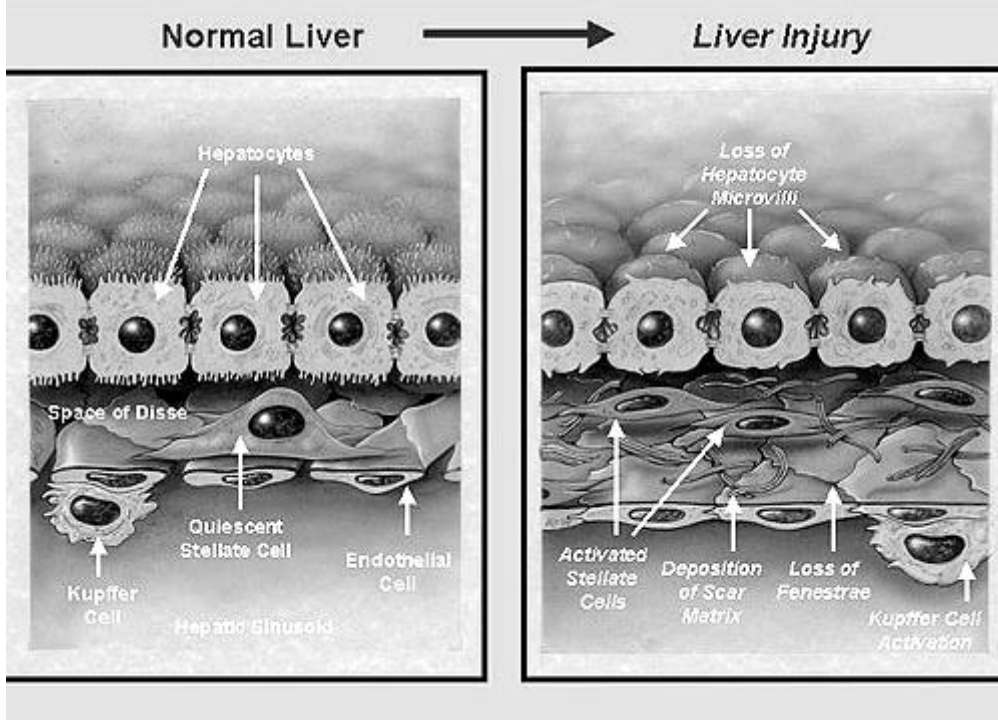
Karaciğerde trigliserid, yağ asidi, kolesterol ve safra asidi sentezinin yanısıra birçok protein sentezi de gerçekleşir. Sentezlenen proteinlerden bazıları; albumin, prealbumin, seruloplazmin, α -1 antitripsin, haptoglobin, β_2 -mikroglobulin, transferrin, α -etoprotein, transkobalamin, apoferritin ve çeşitli koagülasyon proteinleridir (Guyton 1991).

2.2.7. 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 ve retikuloendotelial sistemde sentezlenen bilirubin de karaciğerde glukronik asitle konjuge edilerek suda erir hale getirildikten sonra safra yolu ile vücut dışına atılır. Alkol ve ilaç bağımlılığı gibi durumlarda karaciğerin sürekli toksik maddelere maruz kalması, zamanla detoksifikasyon işlevinin bozulmasına neden olmaktadır. Özellikle günümüzde alkol kullanımının yaygın olması, buna bağlı sorunların daha sık karşımıza çıkmasına neden olmaktadır (Kaplan *et al.* 2003, Guyton 1991).

2.3. Karaciğer hastalıkları

Viral enfeksiyonlar, ilaçlar ve toksinler, safra yolu lezyonları, metabolizma bozuklukları, hipoksi ve tümör gibi pek çok etken karaciğer hastalıklarına (Şekil 4) neden olabilmektedir (Moreira 2007).



Şekil 4 Normal ve karaciğer hasarı sonrası karaciğerin şematik görünümü

Bunların en önemlileri; hepatitler (A, B ve C), karaciğer yetmezliği, karaciğer sirozu, sarılık, safra kesesi iltihabı ve safra kesesi taşıdır (Junqueira and Carneiro 2003).

2.3.1. Hepatitler

Karaciğerdeki herhangi bir nedene bağlı inflamasyona hepatit denir. Akut veya kronik olabilir. Hepatitlerin otoimmün, metabolik, konjenital, viral, toksik, ilaca bağlı pekçok nedeni vardır. Bunların en önemlilerinden birisi de viral hepatitlerdir. Akut hepatit (AH) altı aydan kısa bir süre devam eder, kronik hepatit (KH) altı aydan uzun süren durumu tanımlar (Mahoney 1999, Chisari 1997).

Klinik önemi olan 5 viral hepatit etkeni bilinmektedir. Bunlar A, B, C, E ve D hepatitleridir. Kronik hepatit tablosuna neden olan etkenler B, C ve D hepatitleridir. Bir viral hepatit tablosunun 6 aydan fazla sürmesi kronik hepatit olarak değerlendirilir. Kronik hepatitler patolojik olarak hafif periportal lenfositik inflamasyondan nekroza ve karaciğer mimarisinin bozulması demek olan siroza kadar bir tabloyu ifade eder. Kronik viral hepatitlerde karaciğer dokusunda kronik inflamasyon vardır. Bunun sonucu olarak

fibrozis gelişir ve daha ileri aşama ise sirozdur. Siroz ile kronik hepatit arasındaki en önemli fark sirozda ileri derecede fibroz doku artışı ve buna bağlı olarak karaciğer mimarisi ve fonksiyonlarının bozulmaya başlamasıdır (Özdil 2008).

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 dışkının 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 (Şentürk 1996). 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 (O'Grady *et al.* 1993, Riordan and Williams 1999).

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'inde etyolojik ajan belirlenebilmekte, ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise toksin ve ilaçlar oluşturmaktadır. Paramiksovirüs, CMV ve EBV gibi hepatotrop olmayan virüslerde karaciğer yetmezliğine 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 (Williams 1998, Sterling and Shiftman 1999).

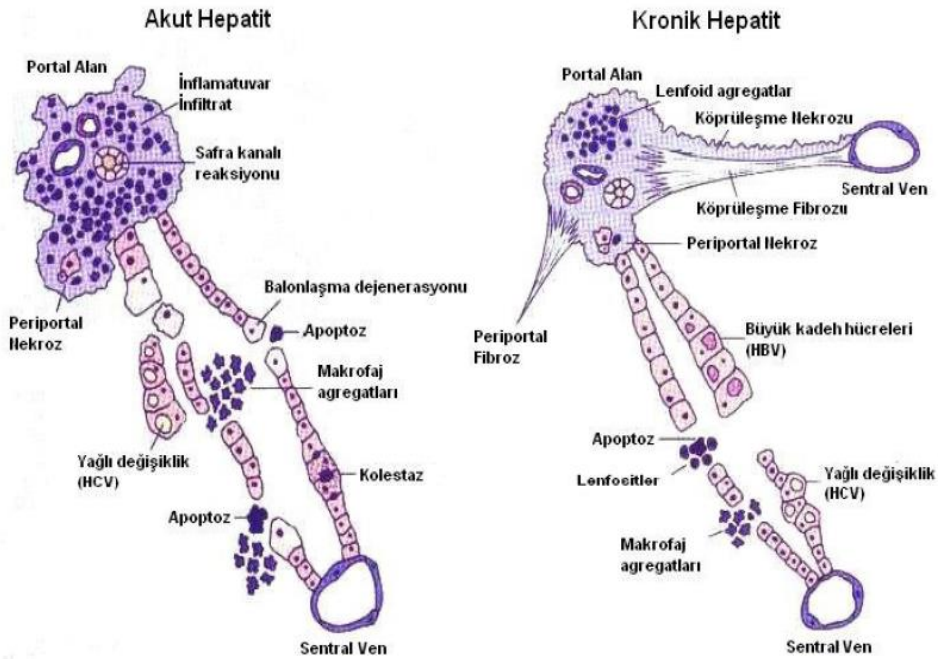
2.3.1.2. Kronik viral hepatitler

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

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) (Şentürk 1996, Sherlock and Dooley 1997, Çakaloğlu 2001).

Akut ve kronik hepatitin histopatolojisi Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5 Akut hepatit ve kronik hepatitin histopatolojisi (Demirci 2006)

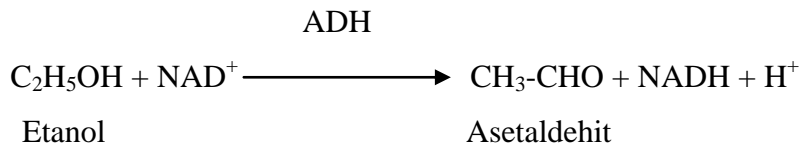
2.3.1.3. Alkole bağlı karaciğer hastalığı

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. Yatkinlığı olan şahıslardaki hazırlayıcı faktörler kesin belli olmamakla birlikte, içilen alkolün miktarı ve süresi en önemli sebeptir (Dolar 2002, You and Crabb 2004).

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;

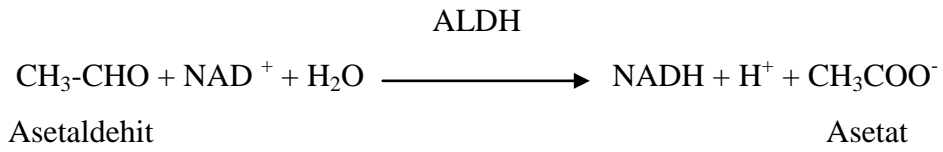
1. Sitozolda yer alan alkol dehidrogenaz (ADH)
2. Endoplazmik retikulumda lokalize olan mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS)
3. Peroksizomlarda lokalize olan katalaz (You and Crabb 2004).

Stoplazmik bir enzim olan ADH, alkolün karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalize eder ve alkolün parçalanmasında en etkin rolü oynar (Dolar 2002).



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 hiperürisemiyeye neden olur. Alkol tarafından indüklenmiş ketoz ve artmış pürin yıkımı da hiperürisemiyeyi arttırabilir (Montgomery 1996). Artan pürin indirgenmesinin

diğer bir olası sonucu, ksantin oksidaz (XO) tarafından ROS'ların üretimidir (You and Crabb 2004, Janssen *et al.* 1993). 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 (Montgomery 1996). 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 (Hoerner *et al.* 1986).



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 (You and Crabb 2004, Hoerner *et al.* 1986). 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 (Tuma 2002, Albano 2002).

Alkol metabolizmasında rol alan diğer bir enzim sistemi MEOS, etanolü mikrozomal sitokrom p450 2E1 enzimi tarafından oksidasyona uğratar (Dolar 2002, Montgomery 1996).



Reaksiyon sonucu bir reaktif oksijen radikali olan H_2O_2 oluşur (Montgomery 1996). Bu molekül glutasyon 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 (Dolar 2002, Jaeschke *et al.* 2002).

MEOS'nin 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 (Dolar 2002). Hücresel asetaldehit artışı sonucu bu yan ürünün albumin, kollajen ve lipoproteinlerce alkilasyonu hızlanır. Bu yeni kombinasyonlar, neoantijen olarak etki göstererek immün cevaba yol açar ve sonuçta inflamatuvar mekanizmaları başlatır (Lumeng and Crabb 1994). 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 direk etkisindeven ileri gelebilir (Lindi *et al.* 1998, Schauer *et al.* 2003).

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 (Dolar 2002, You and Crabb 2004). Non-parenkimal hücreler, örneğin kupffer hücreleri, endotel ve yağ depolayan stellat hücreleri toksik süreçte ve fibrosiz gelişiminde devreye girerler. 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 fibrozis 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 yandan da stellat hücrelerini aktive eder. Sonuçta hücresel

toksisite, fibrozis ve alkolik hepatit tablosu yani inflamasyon oluşur (Dolar 2002, Lieber 2004, Lieber 1995).

2.3.1.4. Siroz

Karaciğer sirozu, karaciğer yapısının yaygın olarak hepatoselüler nekroz, rejenerasyon ile bozularak değişmesi sonucu meydana gelen ilerleyici geri dönüşümsüz bir hastalıktır (Kasper *et al.* 2004, Memik ve Dolar 2005). 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 idiyopattir yani sebebi bilinmemektedir. Ülkemizde karaciğer sirozunun başlıca nedeni viral hepatitlerdir. 1994-1997 yıllarını kapsayan 4 yıllık dönemde, 393 vakalılık karaciğer sirozu serisinde, viral hepatitlerin %60, alkolün %11, alkol+viral hepatitin %4, diğer nedenlerin (Otoimmün hepatit, biliyer sirozlar, metabolik nedenler vb.) %9 oranında rol oynadığı saptanmış ve %16'sında herhangi bir neden bulunamamıştır. Viral hepatitlerden HBV'nun katkısı %42.6, HCV'nun katkısı %34.5 ve HDV'nun katkısı ise %15.7 bulunmuştur (Memik ve Dolar 2005, Ökten 1998).

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 (Kumar *et al.*1994).

2.3.1.6. Sarılık

Hem konjuge olmamış bilirubin, hem de bilirubin glukuronidler sistemik olarak dokularda depolanabilir ve sarılığa sebep olurlar. Bu özellikle skleralarda (göz küresinin fibröz ve dirençli fibröz dış membranının opak arka kısmı) sararma şeklinde gözlenir. Safranın normal yollardan atılmaması ve safra ile atılması gereken bilirubin, kolesterol ve safra asitleri gibi maddelerin karaciğerde birikmelerine "kolestaz" denir. Bu birikim, kana da yansır ve söz konusu maddelerin kan düzeyleri de yükselir. Bilirubinün kan düzeyi 2-2.5 mg/dl'nin üzerine çıktığında, klinik olarak fark edilebilen sarılık izlenir. Konjuge olmayan bilirubin suda erimediği için, albumine sıkıca bağlanır, kan düzeyi yükselse bile idrarda saptanmaz. Bu tür hiperbilirubinemiler yeni doğanda (ilk 2 haftada kan-beyin bariyeri tam oluşmadığı için) beyinde ağır nöronal zedelenme (kernicterus) yapabilir (Palomino *et al.* 2000).

2.3.1.7. İlaçlarla oluşan karaciğer hasarları

Karaciğer ilaç ve toksinlerin biyotransformasyonunda önemli bir rol oynar. Bu nedenle ilaçlarla oluşan hasarların ana hedefidir. Karaciğer hastalığının bu tipini tanımak zor olmasına rağmen klinisyenler ve patologlar açısından önem taşır. Karaciğer hasarına yol açan ve hemen hemen her tür karaciğer hastalığı tablosuyla sonuçlanabilen 600'den fazla farklı ilaç vardır. Gerçek nedeni belirlemek tedavi açısından çok önemlidir. Uygulanan tedavi ortadan kaldırıldığında ilaç reaksiyonlarına bağlı hasarın çoğu iyileşir. Eğer tedaviye devam edilirse hasar genellikle daha da ilerler ve şiddetlenir. İlaçla oluşan karaciğer hasarı nadir bir durum olmayıp hastaneye yatan hastaların %2'sinde, fulminan hepatit ve karaciğer yetersizliği olanların %25'inde ve patoloji laboratuvarına gönderilen tüm karaciğer biyopsilerinin %5-10'unda ilaçların rolü olduğu belirlenmiştir (Jick *et al.* 1981, Lee *et al.* 1989).

İlaçla oluşan karaciğer hasarının mekanizması konusunda bilgiler sınırlıdır. Geleneksel olarak, tahmin edilebilen ve idiosenkratik olmak üzere iki patogenetik grup tanımlanmıştır (Zimmerman 1978). Tahmin edilebilen hasar doza, ilacın intrinsek toksisitesine veya onun metabolitlerinden birine bağlıdır. Serbest radikaller ve elektrofillerden oluşan bu metabolitler, özellikle sitokrom P-450 sistemi tarafından

yapılırlar. İdiosenkreatik hasar önceden tahmin edilemez, doza bağılı değildir ve hayvan modellerine uygulanamaz. Döküntü, ateş, artralji ve eozinofili gibi bulgular sıklıkla birlikte görüldüğünden patogeneizde hipersensitivite sıklıkla düşünölmüştür (Kaplowitz *et al* 1986). İlaçla oluşarı karaciğer hasarları geniş bir morfolojik spektrumu kapsar ve karaciğer hastalığının hemen hemen tüm histolojik paternleri görölebilir. Bu paternler: hepatit (akut, kronik), konfluent nekroz (zonal, multiloböler), kolestaz (akut, kronik), yağlı değişiklik (makroveziköler, mikroveziköler), granölomlar, fibrozis, siroz, vasköler bozukluklar (Budd-Chiari sendromu, hepatoportall skleroz, peliosis hepatit, sinuzodal dilatasyon, venookluziv hastalık) ve neoplazmlardır (hepatosellöler adenom, hepatosellöler karsinom, kolanjiokarsinom, anjiosarkom) (Foulis 1988, Stricker 1992).

2.3.1.8. Karaciğer yetmezliği

Karaciğer hastalığının en ağır klinik sonucu, karaciğer yetmezliğidir. Bu ani masif hepatik hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkar. Daha sık olarak, progresif karaciğer harabiyetinin son noktasıdır. Progresif karaciğer harabiyeti, ya hepatositlerin sinsi ve yavaş olarak hasara uğraması ya da tekrarlayıcı belirgin parankimal hasar atakları sonucu meydana gelir. Şekli ne olursa olsun, karaciğer yetmezliğinin oluşması için hepatik fonksiyonel kapasitenin %80-90'nın zarar görmesi gereklidir. Karaciğer yetmezliği ile sonuçlanan morfolojik değişiklikleri, masif hepatik nekroz, kronik karaciğer hastalığı, belirgin nekroz olmadan meydana gelen hepatik fonksiyon bozukluğu izler (Morris and Cawthon 1982).

2.3.1.9. Safra fizyolojisi

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından biri de günlük 600-1200 mL safra salgılamaktır. Safranın iki önemli işlevi vardır. Bunlardan birincisi, yağların sindirim ve emilimindeki işlevidir. Safra asitleri yağların pankreas lipazı tarafından parçalanabilecek küçük parçalara ayrılmasını sağlarlar. Ayrıca yağların sindirim ürünlerinin barsak mukozasından emilim ve taşınmasına yardım ederler. Safranın ikinci işlevi ise kolesterol ve bilirubin gibi yıkılım ürünlerinin atılmasını sağlamaktır (Guyton 1991).

Karaciğerden safra salgılanması iki aşamada gerçekleşir. Birincisi hepatositler

tarafından safranin üretilmesidir. Bu ilk salgıda safra asitleri, kolesterol ve diğer organik maddeler bulunur. İkinci aşama ise üretilen safranin interlobüler septomlara ve buradan da safra kanallarına akışıdır. Safra kanallarından geçerken bu salgyya sodyum ve bikarbonat iyonları da eklenir. Büyük safra kanallarına geçen safra salgısı ya duodenuma dökülür ya da safra kesesinde depolanır. Safra salgısı duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depo edilir. Safra kesesinin hacmi 50 mL kadardır (Guyton 1991, Andreoli *et al.* 1995). Safranin bileşiminde safra tuzları, bilirubin, kolesterol, lesitin ve normal plazma elektrolitleri bulunur. Safra kesesinde konsantre edilme aşamasında kalsiyum iyonları hariç su ve elektrolitlerin büyük kısmı safra kesesi mukozası tarafından emilir. Safra tuzlarının diğer bileşenleri, kolesterol ve lesitin reabsorbe edilmez. Böylece safra kesesinde safra ileri derecede konsantre edilmiş olur. Yemeklerden yaklaşık 30 dakika sonra yağ içeren besinlerin duodenuma geçmesiyle kese duvarında ritmik kontraksiyonlar başlar ve safra duodenuma boşalır. Aynı anda ortak safra kanalında da bir kontraksiyon ve oddi sfinkterinde ise gevşeme olur. Safra kesesinde kontraksiyonları başlatan en güçlü uyarıcı *kolesistokinin* hormonudur. Bunun dışında safra kesesi vagus ve enterik sinir sistemindeki asetilkolin salgılayan sinir lifleri tarafından da uyarılır. Safra kesesinin etkili boşalabilmesi için hem safra kesesinde kontraksiyon olmalı hem de oddi sfinkterinde gevşeme olmalıdır. Buna yardım eden üç faktör vardır:

1-Kolesistokininin oddi sfinkterinde gevşetici etkiye sahiptir.

2-Safra kesesinde başlayan peristaltik dalgalar distale doğru ilerleyerek oddi sfinkterinde gevşemeye yardım eder.

3-Peristaltik dalganın duodenum duvarına ilerlemesi hem oddi sfinkterinde hem de duodenumda gevşemeye neden olur. Sonuç olarak safra duodenumdaki peristaltik dalgaların gevşeme fazı ile senkron olacak şekilde duodenuma dökülür (Guyton 1991).

Karaciğer hücreleri her gün yaklaşık 0,6 g safra tuzu sentezler. Safra tuzlarının ön maddesi daha sonra kolik ve kenodeoksikolik asite dönüşen kolesteroldür. Bu asitler de daha sonra glisin ve taurin ile birleşerek gliko ve tauro konjuge safra asitlerini oluştururlar. Safra tuzlarının barsak lümeninde iki önemli etkileri vardır. Bunlardan birincisi emülsifiye edici (deterjan edici) fonksiyonlarıdır. Bu etki ile partiküllerin yüzey gerilimini azaltarak yağların küçük parçalara ayrılması ve karıştırılması sağlanır.

İkinci etkileri ise yağ asitlerinin, monogliseritlerin, kolesterol ve diğer lipitlerin barsak kanalından emilimine yardım eder. Bunu lipidlerle miçel denilen kompleksler oluşturarak yaparlar. Miçeller safra tuzlarının elektriksel yükleri nedeniyle ileri derecede çözünür maddelerdir. Lipidler bu yapı içinde mukozadan geçebilme özelliği kazanarak absorbe olurlar. Bağırsağa geçmiş olan safra tuzlarının yaklaşık %94 kadarı, distal ileumdan aktif transportla geri emilir. Portal kana geçen safra tuzları böylece tekrar karaciğere geçer. Safra tuzlarının bu dolaşımına entero hepatic dolaşım denir (Guyton 1991).

2.3.1.10. Karbontetraklorür'ün Karaciğer hasarı oluşturma mekanizması

Karbontetraklorürün hayvanlarda oluşturduğu toksik etkinin nasıl şekillendiğini gösteren bir hayli in vitro ve in vivo çalışma mevcuttur (Manibusan *et al.* 2007, Recknagel *et al.* 1989). Bu çalışmalar, CCl₄'e bağlı oluşan karaciğer hasarının aşağıdaki anahtar noktalarının ortaya konmasını sağlamıştır. CCl₄;

1. CYP2E1 aracılığı ile triklormetil metabolizmasında rol alır, böylece triklormetil peroksi radikal oluşumuna,
2. Triklormetil preoksi radikal hücre membranında hasara yol açarak otokatalitik lipid peroksidasyonuna,
3. Sitotoksik etki ve enzim indirgenmesi neticesinde kalsiyum homeostazının bozulmasına,
4. Hepatotoksik etki sonucu karaciğerde kalıcı rejeneratif ve proliferatif değişikliklere yol açar (Manibusan *et al.* 2007).

Bu özelliklerinden dolayı, CCl₄ deneysel karaciğer fibrozu ve siroz oluşumunda sıklıkla kullanılan bir hepatotoksindir (Tamayo 1983). CCl₄ ile gastrik lavaj, intraperitoneal ve subkutan uygulamalarla değişken sürelerde (6-12 hafta) karaciğer fibrozu ve sirozu oluşturulabildiği gibi (Proctor and Chatamra 1982), CCl₄'e akut olarak maruz kalmanın (1-6 gün) neticesinde şiddetli hepatic nekroz ve renal hasar gelişebilmektedir. Toksik hepatit, nekroz ve sirozun, kronik olarak yüksek oranda CCl₄'e maruz kalınmasından sonra geliştiği bildirilmiştir (Pope and Rall 1995). Bu şekliyle CCl₄ ile oluşturulan deneysel karaciğer sirozu ile insanlarda gözlenen karaciğer sirozu arasında büyük benzerlikler olduğu bildirilmiştir (Tamayo 1983). CCl₄, deneysel amaçlı olarak

karaciğer fibrozisi geliştirmesi bakımından literatürde çok sık kullanılmaktadır (Bahçecioğlu *et al.* 1999, Jeon *et al.* 2003, Muriel *et al.* 2003, Wang *et al.* 2005, Jeong *et al.* 1996, Cemek *et al.* 2012, Erdoğan *et al.* 2004).

2.4. Karaciğer hücrelerinin oksidatif stresle ilişkisi

2.4.1. Hepatositler ve oksidatif stres

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 depolanmaktadırlar. 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 insülidir. Çünkü insülin bir yandan karbonhidratların kas dokusunda metabolize edilmesini ve karaciğerde glukozun glikojen olarak depolanmasını sağlarken öte yandan hepatositte yağların β -oksidasyon sürecini ve VLDL oluşumunu baskılamakta ve yağ asitlerinin trigliserid olarak depolanmasını arttırmaktadır (Gochee *et al.* 2003).

Karaciğer, yağ asitlerinin β -oksidasyonunu gerçekteştiren 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 H₂O 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 tamamlanmaya kadar sıkı bir şekilde tutulmaktadır (Gochee *et al.* 2003).

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 (Aboutwerat *et al.* 2003). Hepatositteki, serbest oksijen radikallerin (ROS) tek kaynağı mitokondriler değildir. Sitozolde 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, immünolojik 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 (Gochee *et al.* 2003, Aboutwerat *et al.* 2003).

2.4.2. Endotel hücreleri ve oksidatif stres

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 (Aboutwerat *et al.* 2003).

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 (endotelial nitrik oksid sentetaz) ve kupffer hücresinde iNOS (inducible nitrik oksit sentetaz) tarafından üretilen NO karaciğer mikrosirkülasyonunun 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 immun 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 (Aboutwerat *et al.* 2003).

2.4. 3. Kupffer hücreleri ve oksidatif stres

Kupffer hücreleri sinüsoidal 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 hücresini uyararak TNF- α oluşumuna yol açmaktadır. Tek uyarıcı 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) fenomenide 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 takdirde tablo ağırlaşmaktadır. Kupffer hücreleri bunun yanında antijen sunan hücre olarak da görev yapmaktadırlar ve hücrel immunitiyi aktive etmektedirler (Muriel and Escobar, 2003, Videla *et al.* 2003, Liu *et al.* 2003).

2.4. 4. Stellat hücreler

Bir denizyıldızı 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. TGF- α fibroza yol açmaktadır. Hedef hücresi stellat hücredir. Kupffer hücrelerinin, örneğin oksidatif stres ile uyarılmalarıyla ortaya çıkan TGF- α stellat hücrelerini 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 (Şentürk 2004).

2.4. 5. Safra kanalı epitel hücreleri ve oksidatif stres

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 (Junqueira and Carneiro 2003).

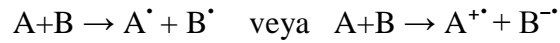
2.5. Serbest radikaller ve oksidatif stres

Bir veya daha fazla orbitalinde eşlenmemiş elektron bulunduran ve bu sebeple oldukça reaktif ve toksik olan atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanır (Halliwell 1991, Akkuş 1995). Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler, etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek elektron almaya çalışır ve bir an önce kararlı hale ulaşmak ister (Kurt *et al.* 2005, Rikans *et al.* 1994, Halliwell and Gutteridge 2001). Kısa ömürlü olmalarına rağmen, bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikeli olan serbest radikaller, ortaklanmamış elektronun belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (X[•]) ile gösterilirler (Akkuş 1995). En fazla redoks reaksiyonları sonucu oluşurlar. Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺ ve Mo⁵⁺ gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Halliwell 1991).

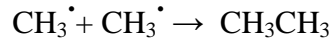
Serbest radikaller, hücre metabolizması esnasında biyokimyasal reaksiyonlarla ortaya çıkan, en dış tabakasında bir süre için bile olsa eşleşmemiş elektron taşıyan atom olarak tanımlanmaktadır (Warner *et al.* 2004, Scheibmeir *et al.* 2005). Radikal kelimesi latince kök anlamına gelen *radix* kelimesinden türetilmiştir. 1969 yılında Mc Cord ve Fridowich, oksijen ile yaşayan tüm canlılarda normal metabolik işlemler sırasında serbest oksijen radikallerinin üretildiğini ve bunun biyolojik bir bozukluk olmadığını belirtmişlerdir (Halliwell and Gutteridge 2001).

Serbest radikal ve oksidatif stres teorisinin kökeni, 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. H.J.H. Fenton'un 1876 yılında, hidrojen peroksit ile Fe⁺² iyonlarının varlığında tartarik asitin oksidasyonunu keşfi bu yolda atılan ilk adımdır (Fenton 1876). Fenton 1894 yılında yayımlanan makalesinde, demirin bu reaksiyonda katalizör görevini üstlendiğini bildirmiştir (Fenton 1894). Reaksiyon ürünü olan dihidroksimaleik asitin, araştırmacılar tarafından saptanması ise ancak yirmi yıl sonra 1896 yılında gerçekleşmiştir (Fenton 1896).

Radikaller, pozitif, negatif ya da nötr olabilirler. Serbest radikal kabul edilen atom ve moleküller, elektron konfigürasyonları, lokal kinetik reaktiviteleri ve termodinamik yapıları göz önünde bulundurularak değerlendirilirler (Valko *et al.* 2007, Gutteridge 1995). Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabuklar alt kabuklardan, alt kabuklar da elektron içeren orbitallerden oluşur. Orbitallerde, her biri diğerinin fizikokimyasal reaksiyonlara girmesini engelleyen, zıt spinlerde ($\downarrow\uparrow$) hareket eden elektron çiftleri vardır (Murray *et al.* 2004). Bir elektronun bir molekülden diğerine transferi ve homolitik bağ ayrılması gibi mekanizmalar serbest radikal oluşumuna neden olurlar (Valko *et al.* 2007, Akkuş 1995).



Serbest radikalde bulunan eşlenmemiş elektron, kimyasal bağ içinde bir başka elektronla spin paylaşmadığından, ekstra elektronları başka atomlara lokalize oluncaya ya da elektron alıncaya dek oldukça reaktiftir. Aşırı reaktif bu maddeler, diğer atom ve moleküllerin kimyasal yapılarını birkaç farklı mekanizma yoluyla değiştirerek, onları kararsız formda yapılar haline getirirler (Valko *et al.* 2007).



Radikallerle, diğer nötral atom ya da moleküllerin reaksiyonlarında görülen en yaygın yol, bir atomun alınması ya da eklenmesidir (Valko *et al.* 2007, Gutteridge 1995). Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan serbest radikaller, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemek eğiliminde olduklarından oldukça kararsız yapıdadırlar (Valko *et al.* 2007, Murray *et al.* 2004).

Oksidatif stres, pro-oksidan (reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri) maddeler ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kaymasıdır. Miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabet, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stresle ilişkisi gösterilmiştir (Engin 2005, Yardım-Akaydın *et al.* 2004, Yılmaz ve Bahçecioğlu 2000). Antioksidan savunma mekanizmaları ile serbest radikal oluşumunu hızlandıran etmenler arasındaki denge bozulduğunda oksidatif veya oksidan stres ortaya çıkar. Beyin geniş oranda oksijen tüketir ve oksidatif hasara hassastır. Mitokondrial elektron taşıma sisteminde norepinefrin, dopamin gibi bazı nörotransmitterlerin otooksidasyonu hipoksi ve iskemi sırasında oksidan yapılanmayla ve doku hasarıyla sonuçlanır. Süperoksit ve nitrik oksitin birleşmesiyle oksidatif hasar gelişir. Her iki molekül kan akımı regülasyonu ve nörotransmisyonunda önemli görevler görür. Bu moleküllerin metabolizması veya üretilmesindeki bozulma patolojik sonuçları ortaya çıkarabilir (Gutteridge 1995). Serbest radikallerin oksidatif stres veya oksidatif hasar nedeniyle birçok hastalıkla ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Örneğin Alzheimer hastalarının beyinlerindeki majör biyomoleküllerin oksidatif hasarı artırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (Güzel 1996).

Memeli hücrelerinde reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin meydana gelişi Şekil 6'da gösterilmiştir (Fang *et al.* 2002).

Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metallere 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.

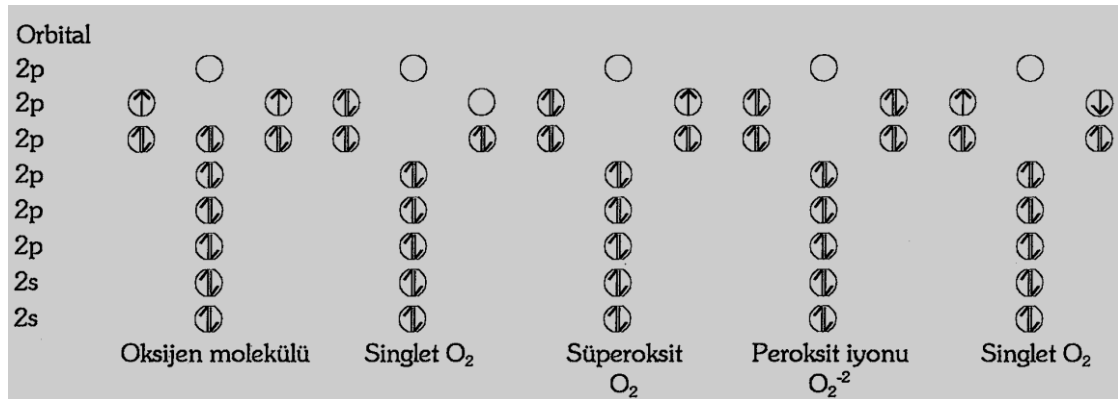
2.5.1 Reaktif oksijen türleri

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 (Bulky 1993).

Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde, farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" oluşur. Orbitalden birine ters dönüşlü bir elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse "oksijen radikali" elde edilir. Reaksiyon oluşumu aşağıda gösterilmektedir.



Doğal oksijenden türeyen oksidan moleküller Şekil 7'de verilmiştir (Halliwell 1991, Halliwell ve Gutteridge 2001).



Şekil 7 Doğal oksijenden türeyen oksidan moleküller

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri iki ana başlık altında incelenmektedir (Tablo 2) (Halliwell and Gutteridge 2001, McCord, 1985).

Tablo 2 Reaktif oksijen türleri

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksit radikali	OH^{\cdot}	Lipid Hidroksiperoksit	LOOH
Peroksil radikali	ROO^{\cdot}	Hipohaloz Asit	HOX
Alkoksil radikali	RO^{\cdot}	N Halojenli Aminler	R-NH-X
Semikinon radikali	HQ^{\cdot}	Singlet Oksijen	O_2
		Ozon	O_3
		Azot Dioksit	NO_2

Moleküler oksijen elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu yol 4 elektron gerektirir ve bu yolda reaktif ara moleküller oluşur ki bunlar süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksi radikalleridir. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır (Fridovich 2001, Nordberg and Arner 2001).

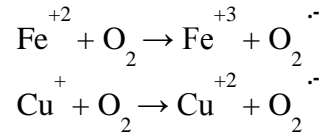
2.5.1.1 Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$)

Serbest radikal denildiğinde ilk olarak akla gelen biyolojik ortamlarda bulunan serbest oksijen radikalleridir. Oksijen molekülüne bir elektronun transfer edilmesi yoluyla oksijenin indirgenmesi ile süperoksit serbest radikal anyonu ($O_2^{\cdot -}$) oluşmaktadır (Hajieva and Behl 2006).

Süperoksit molekülü, serbest radikal olarak bilinmesine rağmen, biyolojik dokularda fazla hasar oluşturmaz. Bu molekülün önemli olan yönü, bir hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarını indirgeyici özelliğinin bulunmasıdır (Hajieva and Behl 2006, Scheibmeir *et al.* 2005). Aynı zamanda $O_2^{\cdot -}$, NO ile reaksiyona girerek

peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturmaktadır. Süperoksit radikali, ortam pH'sının düşük olduğu durumlarda bir proton alarak daha reaktif olan hidroperoksil radikaline (HO₂[·]) dönüşür. Fakat ortam pH'sı fizyolojik sınırlarda iken oluşan hidroperoksil formu %1'in altındadır (Scheibmeir *et al.* 2005).

Süperoksit anyonu hem indirgeyici hem yükseltgeyici özelliğe sahiptir. Adrenalin, dopamin, askorbat ve hidrosilamini oksitler nitrobluetetrazolium ve sitokrom c'yi indirger. Redükta olarak görev yaptığında ferrisitokrom c'nin redüksiyonunda bir elektron kaybeder ve oksijene okside olur. Oksidan olarak görev yaptığında ise epinefrinin oksidayonunda bir elektron alır ve hidrojen peroksite indirgenir (Akkuş 1995). Diğer taraftan geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olup serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasında çok büyük öneme sahiptir (Aust *et al.* 1985).



Süperoksit radikali serbest radikal olmasına karşın reaktivliği yüksek değildir. Kendiliğinden, özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte oluşur. Süperoksit ayrıca iskemi-reperfüsyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit oluşturan enzimlerdir (Zimmerman and Granger 1994, Kontos *etal.* 1985, McIntyre *et al.* 1999).

Süperoksit kimyası çözelti ortamına bağlı olarak farklılıklar gösterir. Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bunun yanında süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom c ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir komplekslerini indirgeyebilir (Vander and Bast 1992). Süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijenin olduğu dismutasyon tepkimesinden dolayı sulu ortamda hızlıca kaybolur. Diğer taraftan SOD enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan 109 kat daha hızlıdır (Yoshikawa *et al.* 1993).

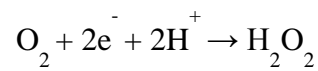
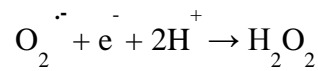
Süperoksit radikalinin başlıca kaynakları aşağıda verilmiştir (Nordberg *et al.* 2001):

1. Elektron transport zincirinden elektron sızıntıları,
2. Aktive fagositleri,
3. Ksantin ve hipoksantin oksidaz tarafından oksidasyonu,
4. NADPH'nin NADPH oksidaz tarafından oksidasyonu,
5. Dopamin, epinefrin, norepinefrin gibi biyolojik aminlerin otooksidasyonu,
6. Sitokrom p450 tarafından O₂'nin bir elektron alarak indirgenmesi,
7. Arjinin ve tetrahidrobiopterin bulunduğu zaman eNOS ve nNOS tarafından O₂'nin bir elektron alarak indirgenmesi,
8. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da O₂^{•-} meydana getirilebilir.

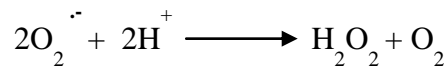
2.5.1.2 Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır (Nordberg and Arner 2001).

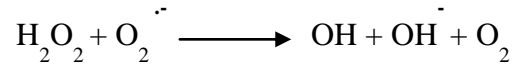
Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksit'in bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir (Gutteridge 1995).



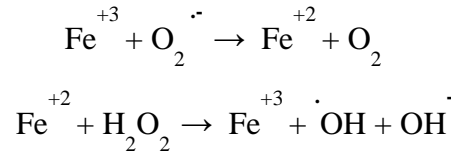
Biyolojik sistemlerdeki hidrojen peroksitin asıl kaynağı herhangi bir sistem tarafından üretilen süperoksit radikalinin dismutasyon reaksiyonudur. Ayrıca urat oksidaz, glukoz oksidaz, ve D-aminoasit oksidaz gibi enzimler iki elektronunu oksijene vererek H₂O₂ oluştururlar.



Hidrojen peroksit kendi başına çok zayıf oksidant özelliği gösterir. Çünkü ortaklanmamış bir elektron içermemektedir. Hidrojen peroksit gerektiğinde hücreler tarafından selenyum içeren glutation peroksidaz, katalaz ve belirli peroksidazlar tarafından ortadan kaldırılabilir. H_2O_2 serbest bir radikal olmadığı halde, ROS içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz olarak meydana gelebilir. Ancak katalizör olmadığı zaman çok yavaş ilerler. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}) süperoksit tarafından ferro demir'e (Fe^{+2}) indirgenir. Daha sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten, OH^{\cdot} ve $OH^{\cdot -}$ üretilir reaksiyonun mekanizması aşağıdaki şekildedir (Afanas'ev 2007, Gutteridge 1995).



2.5.1.3 Hidroksil radikali (OH^{\cdot})

En reaktif biyolojik serbest radikaldir. Bu radikal çok çeşitli reaksiyonlarda üretilebilmektedir, ancak en önemli kaynağı "Fenton Reaksiyonu"dur. H_2O_2 'in ultraviyole ışıkla indüklenen homolitik fizyonu, iyonizan radyasyon etkisiyle, hipokloröz asitin süperoksitle reaksiyona girmesiyle, ultrasound ile suyun homolitik fizyonu, litotripsi işlemi sırasındaki şok dalgalarının yüksek enerjisiyle, N-hidroksi-2-tiyopridonunu dekompozisyonuyla, kurutma, dondurma liyofilizasyon işlemleri ile OH^{\cdot} radikali ortaya çıkmaktadır. OH^{\cdot} radikalinin katıldığı tepkimeler temel olarak 3'e ayrılabilir. Bu reaksiyonlar, H çıkarılması, OH^{\cdot} eklenmesi ve elektron transferi olarak kısaca adlandırılabilir.

2.5.1.4 Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur. Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, aynı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir (Halliwell and Gutteridge 2001, Ames *et al.* 1993).

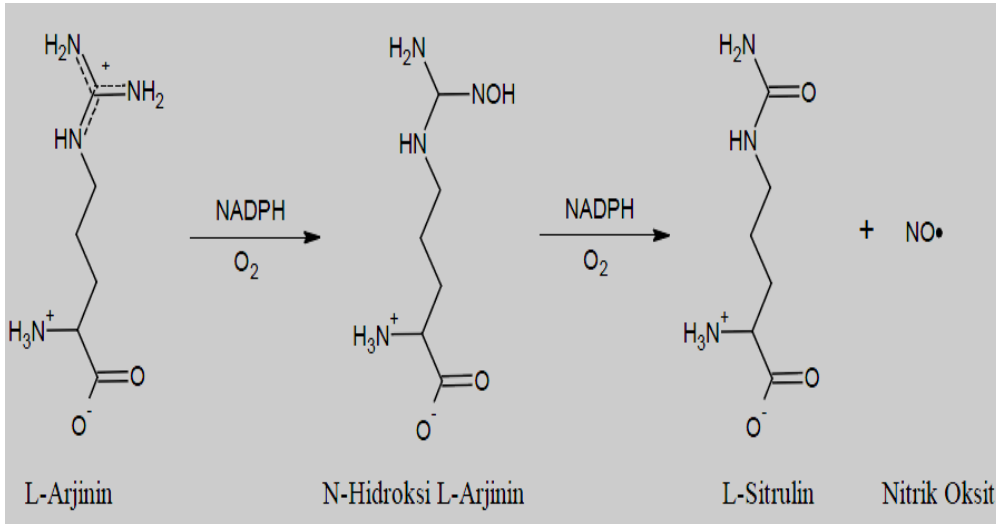
Oksijenin enerjetik olarak uyarılan bu formunda spin kısıtlamasının kaldırılmış olması sebebiyle reaktivite çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip oksijene geri dönebilir. Diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır.

Singlet oksijen *in vivo* ortamda sitokrom P-450, endoperoksit sentetaz ve myelo peroksidaz reaksiyonları ile oluştuğu gibi iyonize radyasyonla da oluşabilir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (Kılınç ve Kılınç 2002).

2.5.2 Nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2)

Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO_2 oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır. Oksijen redüksiyonu sırasında NO_2 'ye maruz kalması durumunda araşidronik asit metabolizmasının NO_2 konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Düşük miktarda NO_2 'nin araşidronik asit metabolizmasını büyük oranda artırdığı gözlenmiştir (Robison *et al.* 1993, Aslan ve Dündar 1998).

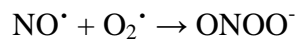
Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden in vivo olarak üretilmektedir (Şekil 8). Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin hem demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO[•], aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO[•], oluşmuş olan ROS'lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOO⁻) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonu ile [•]OH radikali oluşumuna yol açmaktadır (Southorn *et al.* 1988).

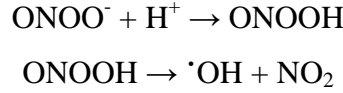


Şekil 8 L-Arjininden nitrik oksit üretimi

NO kokusuz, renksiz ve az indirgenebilen oksidan bir gazdır. Son yıllarda radikal olan nitrik oksit üzerinde oldukça fazla durulmaya başlanmıştır. Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiyol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diyabet, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik hasar oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (Aslan ve Dünder 1998, Gutteridge 1995).

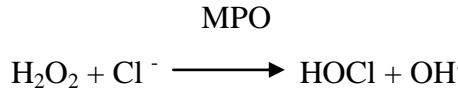
Yüksek miktarlarda O₂^{•-} yapımı NO[•] ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek [•]OH ve [•]NO₂ oluşumuna neden olurlar. Tepkime sırasında ise peroksinitrit (ONOO⁻) ve peroksinitroz asit (ONOOH) ara ürünleri oluşur (Nordberg *et al.* 2001).





2.5.3 Hipoklorik Asit (HOCl)

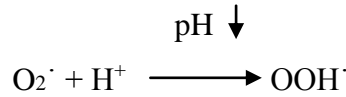
Nötrofiller, sitoplâzmadaki bulunan myeloperoksidaz (MPO) enziminin katalizlediği reaksiyonla güçlü oksidatif bir yapı olan hipokloridi oluştururlar (Hawkins *et al.* 2003).



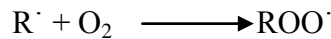
Enzimatik olarak nötrofiller tarafından üretilir, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller süperoksit üretirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile süperoksitin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti, klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan hipokloroz asit (HOCl)'e dönüştürür (Southorn 1988). Solunum patlaması, vücuda giren bakterilerin makrofaj, nötrofil ve eozinofil gibi hücreler tarafından fagosite edilmesi ve bu hücrelerce üretilen ROS'lar tarafından yok edilmesi olayıdır. Solunum patlaması sırasında görev alan ROS'lerden biri de hipokloroz asitir (Akkuş 1995).

2.5.4 Perhidroksil radikali (OOH[·])-Peroksil radikali (ROO[·])

O₂[·] radikali asidik ortamda daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan OOH[·] radikalini oluşturur.



R[·] radikalleri hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek ROO[·]'yi oluştururlar. ROO[·], lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup çok uzun ömürlüdür (Cheeseman and Slater 1993).



2.6 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller normal hücrel metabolizma ürünleri olarak üretilebildiği gibi ısı, ışık, radyasyon, enfeksiyon, inflamasyon, ilaçlar ve daha birçok dış kaynakların etkisi ile de oluşabilir. Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROS oluşur. Tablo 3'de serbest radikallerin in vivo ortamda kaynakları görülmektedir (Çavdar *et al.* 1997). İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve reaktif oksijen düzeyleri artar. ROS düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır (Çavdar *et al.* 1997).

Tablo 3 Serbest radikal kaynakları (Çavdar *et al.* 1997).

Normal Biyolojik İşlemler	Oksidatif Stres Yapıcı durumlar	Yaşlanma süreci
1-Oksijenli Solunum	1-İskemi, hemoraji, travma, radyoaktivite, intoksikasyon	
	2-Ksenobiotik maddelerin etkisi a) İnhale edilenler b) Alışkanlık yapan maddeler c) İlaçlar	
2-Katabolik ve anabolik işlemler	3- Oksidan enzimler a) Ksantin oksidaz b) İndolamindioksigenaz c) Triptofan dioksigenaz d) Galaktoz oksidaz e) Siklooksigenaz f) Lipooksigenaz g) Monoamino oksidaz	
	4-Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu	
	5-Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)	
	6-Uzun süreli metabolik hastalıklar	

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamını sürdürmesi için gerekli olan metabolik faaliyetlerini devam ettirmesi için gerekli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi stress ve radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen radikal kaynakları olmak üzere ikiye ayrılır (Çavdar *et al.* 1997).

2.6.1 Eksojen radikal kaynakları

İlaçlar, çevresel etmenler (radyasyon v.s.) ve diyetel etmenler olarak 3 gruba alınabilir. Uzun süreli alkol alımı, deneysel olarak kullanılan kimyasallar (karbon tetraklorür, fosfor, kloroform v.s.) organizmanın önemli organlarında (karaciğer, kalp, mide, bağırsaklar v.s.) dejenerasyona neden olur. Ekzojen kaynaklı serbest radikaller canlının geri dönüşümü olmayan harabiyetler (siroz, tümör, kanser v.s.) oluşumuna hatta canlının ölümüne bile sebebiyet vermektedir. Antineoplastik ajanlar (Nitrofurantoin, bleomisin, doxorubicin, adriyamisin), uyuşturucu, radyasyon, alkol, aktive olmuş fagositler, hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar ve strete artan katekolaminlerin oksidasyonu serbest radikal kaynağıdır (Akkuş 1995).

Karbontetraklorür ile deneysel olarak oluşturulan intoksikasyondan ve sirozdaki pek çok organ (karaciğer, dalak, pankreas, timus, lenf düğümleri, akciğerler, kalp) ile sistem doğrudan veya dolaylı bir şekilde etkilenmektedir. Bu sistemlerin başında ise kan-dolaşım sistemi, solunum sistemi, boşaltım sistemi, sinir sistemi gelmektedir (Vural 1994, Guyton 1991, Özeki *et al.* 1985).

Ekzojen kaynaklı etmenler arasında karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, çeşitli solventler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriyamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Masaiki *et al.* 1988, Sinclair *et al.* 1990).

2.6.2 Endojen radikal kaynakları

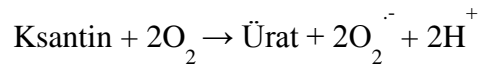
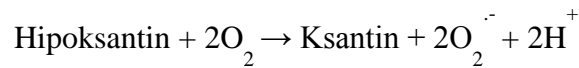
a. Küçük moleküllerin otooksidasyonu:

Normal ortamda tiyoller, hidrokinoonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur (Freeman and Crapo 1982).

b. Enzimler ve proteinler:

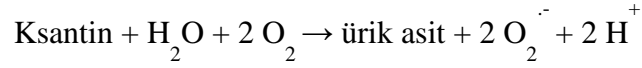
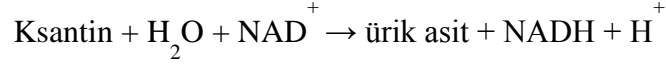
Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar (Çavdar *et al.* 1997).

Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal üretimine sebep olmaz. Fakat, *in vivo* olarak oluşturulan iskemi, enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksit radikalinin üretimine sebep olur. Ksantin oksidaz enzimi oksijen varlığında hipoksantini ksantine veya ksantini ürat'a oksitler. Bu reaksiyonda elektron alıcısı moleküler oksijendir (Seifried *et al.* 2004).



Hipoksantin-ksantin arasındaki bu tepkime sonucu oluşan süperoksitin yarattığı en büyük hasar vasküler sistemdedir. Ksantin oksidaz normalde NAD bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikal oluşumuna neden olmaz. Ancak ilk iskemi atağından sonra hücre membranı sahte sodyum-kalsiyum pompası oluşturma eğilimine girer. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması proteazların miktarı artsa bile devam eder. Bu sırada hücre ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümüne izin verir. Bu oluşan hücre içi olayların sonunda ksantin dehidrogenaz enzimi dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşür ve süperoksit radikalinin üretimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri hızlı bir şekilde hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit güçlü bir radikal olmasa da, Fe^{+2} varlığında fenton

reaksiyonu oluşturarak güçlü bir radikal olan hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur (McCord 1985).



Aldehit oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğunu da aynı şekilde kullanarak süperoksit radikali üretirler.

c. Mitokondriyal elektron taşınması:

Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS'den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADH)-dehidrogenaz basamağında, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O_2 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi, oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin %1-3'ü, elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini artırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adozin difosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretimine etki eder (Hung-Hai *et al.* 1993).

d. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri:

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b_5 , doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler (Akkuş 1995).

e. Peroksizomlar:

Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-

aminoasit oksidaz, ürat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir (Akkuş 1995).

f. Plazma membranı:

Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden çabuk etkilenirler. Lipid peroksidasyonu veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir (Ersoy ve Dilek 1999).

Hidrojen peroksit membranları neredeyse su kadar kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu nedenle proteinlerin ve lipidlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi plazma membranıyla bağlantılı enzimler ile mikrozomlar tarafından serbest radikal üretimi, bu enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asit metabolizması ile ilişkili pek çok yeni buluş ve biyolojik açıdan önemli ürünlerin meydana gelmesinden dolayı ilginçtir. Bu ürünler PG'leri, tromboksanları, lökotrienleri ve anafleksinin slow-reakting substratını içerir. Son zamanlarda araşidonik asit metabolizmasında yer alan bu enzimatik proseslerin otokatalitik LPO'na öncülük etmesi bu konuya olan ilgiyi artırmıştır (Comporti 1985, Akkuş 1995).

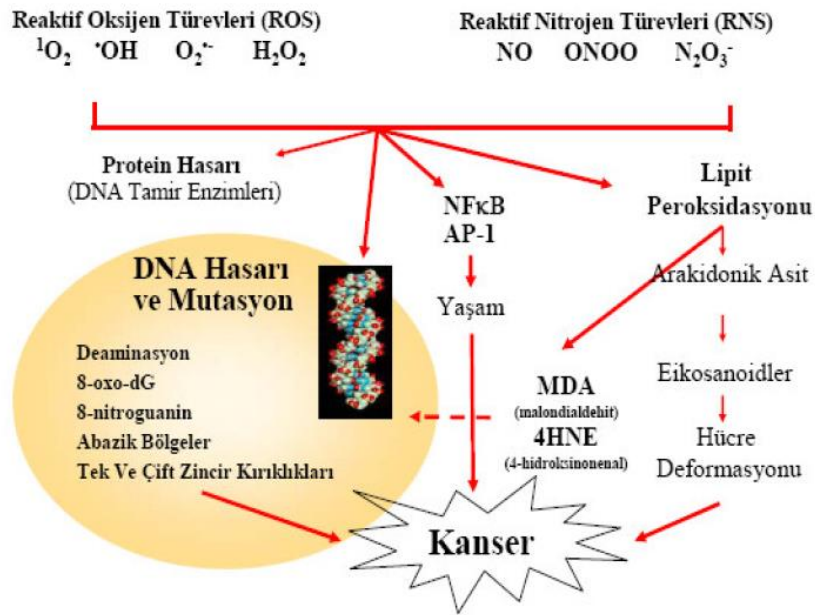
Serbest radikal üretimini bazı toksik maddeler artırabilir. Bu maddeler dört gruba ayrılır (Comporti 1985, Akkuş 1995).

1. Toksinin kendisi bir serbest radikaldir.
2. Toksin bir serbest radikale metabolize olabilir. Örneğin toksik bir madde olan karbontetraklorür (CCl_4) karaciğerde sitokrom P-450 tarafından triklorometil (CCl_3)

- serbest radikale dönüştürülür. Bu radikalin oksijenle reaksiyona girmesi neticesinde meydana gelen peroksil radikali güçlü lipid peroksidasyonu başlatıcıdır.
3. Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Bunun en basit örneği paraguattır.
 4. Toksin antioksidan aktiviteyi düşürebilir. Parasetamol karaciğerde sitokrom P-450 tarafından GSH ile reaksiyona girip miktarını azaltan bir ürün oluşturur (Comporti 1985, Akkuş 1995).

2.7 Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, yağlar ve proteinler saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbeset radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA'ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına (Şekil 9) neden olduğu düşünülmektedir (Halliwell 1991, Wiseman and Halliwell 1996).



Şekil 9 Serbest radikallerin biyomoleküller üzerine etkileri (Halliwell 1991)

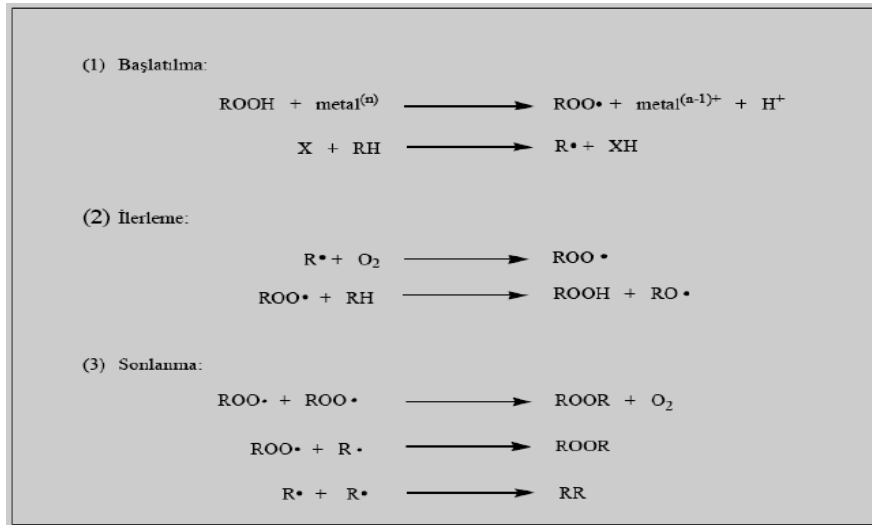
Serbest radikallerin hücredeki bazı zararlı etkileri Tablo 4'de kısaca özetlenmiştir (Akkuş 1995).

Tablo 4 Serbest radikallerin hücredeki bazı zararlı etkileri (Akkuş 1995).

Doymamış yağ asitleri	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon Lipidlerde çapraz bağlanmalar Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	Hidroksilasyonlar Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Kükürtlü amino asitler	Protein denatürasyonu ve çaprazlanma Enzimlerde inhibisyon
Proteinler	Peptid zincirlerinde kopma Denatürasyon
Nükleik asitler	Tek ve çift iplikçik kırılmaları Proteinlerde çapraz bağlar Baz içermeyen bölgeler
Hyaluronik asit	Sinovyal sıvı akışkanlığında değişme

2.7.1 Lipidler üzerine etkileri

Lipid peroksidasyonu, zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece zar lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. Lipid peroksidasyonu kimyasal bir süreç olup serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlar. Lipid peroksidasyonu bir zincir tepkimesi şeklinde başlayıp, daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için kesintisiz bir kaynak oluşturur (Şekil 10). Kendi kendini devam ettiren bu zincir reaksiyonlarının hücre membranına verdiği hasar geri dönüşümsüzdür (Shibamoto 2006, Halliwell 1991).

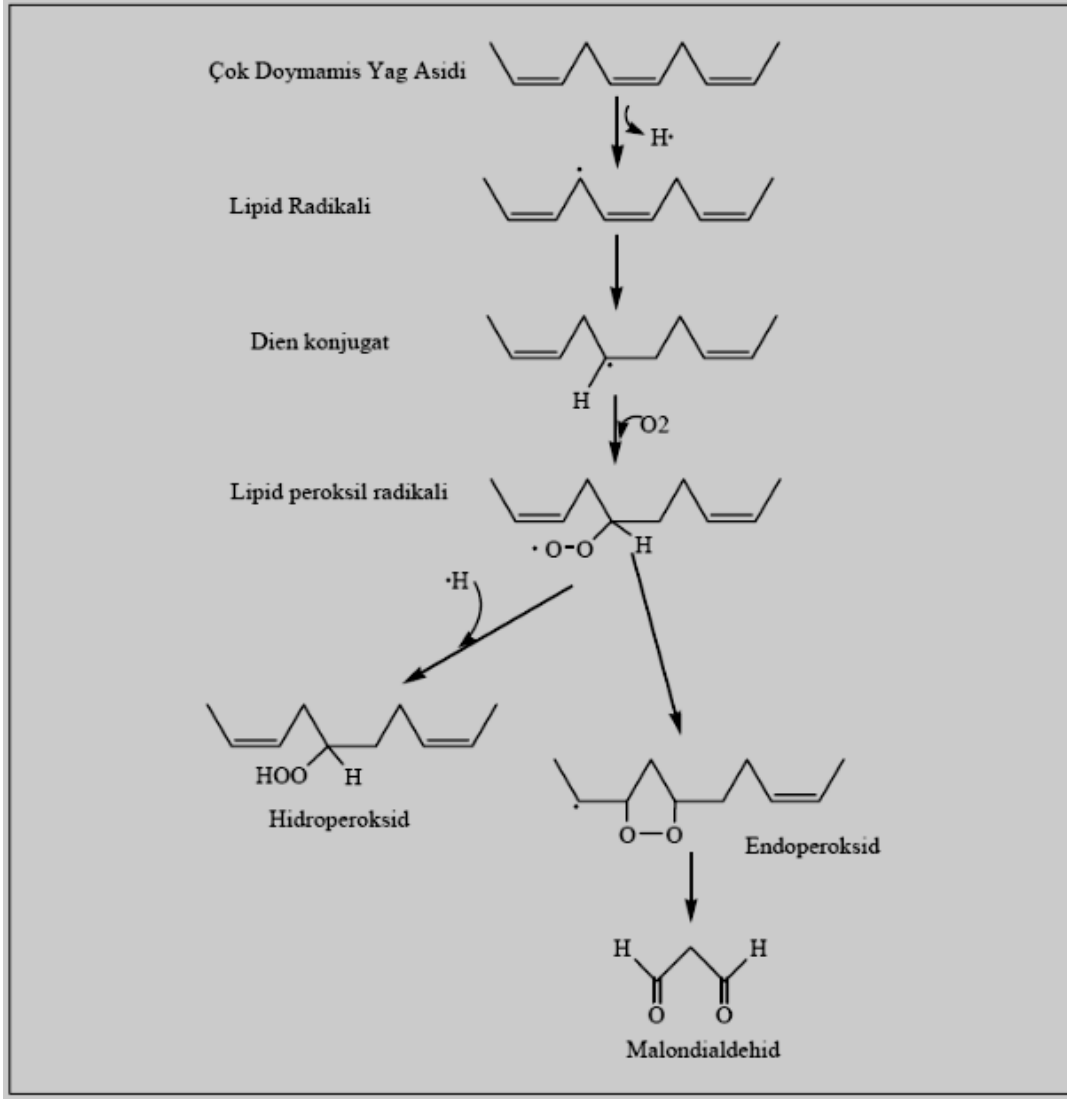


Şekil 10 Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonları (Gutteridge 1995).

Çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyona kolaylıkla maruz kalabilen yapılardır. Lipid peroksidasyonu tepkimeleri serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asiti zincirinin alfa-metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaştırması ile başlamaktadır. Uzaklaşan hidrojen atomu sebebiyle karbon atomu üzerinde ortaklaşmamış bir adet elektron kalır ki bu da yağ asit zincirinin radikal olmasına neden olur. Oluşan lipid radikali kararsız bir bileşiktir. Molekül stabil duruma gelebilmek için molekül içi bağlarını tekrar düzenler ve konjuge dien yapısına dönüşür. Reaksiyon moleküler oksijenin lipid radikali ile etkileşmesi ve lipid peroksi radikalinin oluşmasıyla devam eder (Memişogulları 2005).

Lipidperoksi radikali, membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asidi zincirlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açarken, kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksite dönüşmüş olur. Böylece tek bir substrat radikal diğer yağ asitlerini tetikleyerek birden çok lipid hidroperoksit oluşmasına sebebiyet verir. Bu tetikleme olayının ne zaman sona ereceği ortamda bulunan oksijen ve antioksidan miktarına bağlıdır. Hidroperoksitler oldukça stabil moleküller olup yapıları ancak yüksek sıcaklıkla veya demir, bakır gibi geçiş metallerine maruz kalmakla bozulabilir (Halliwell 1991, Gutteridge 1995).

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 MDA molekülüdür (Şekil 11) (Halliwell 1991, Shibamoto 2006).



Şekil 11 MDA oluşum basamakları (Gutteridge 1995).

Lipid peroksidasyonu tepkimeleri sonucunda başta aldehitler olmak üzere çok sayıda ürün oluşmaktadır. Oluşan bu aldehitler oksidatif hasarı artırmaktadırlar. Lipid peroksidasyonunun başlıca ürünü olan MDA uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra membran akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve Ca^{+2} iyonlarının membran geçişlerinin artmasına neden olmaktadır. Dokularda MDA seviyesinin artması koroner arter hastalığına, akciğer kanseri ile diğer akciğer hastalıklarına, DNA'ya bağlanarak mutasyonlara ve inflamasyona yol açtığı bildirilmektedir (Gutteridge 1995, Rio *et al.* 2005).

2.7.1.1 Malondialdehit (MDA)

Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırıldığından, herhangi bir sitotoksosite 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 uyararla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biyosentetik ve biyokimyasal yıkım olaylarıdır. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkım 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, ROS'nin seviyesinin tespitinde kullanılan önemli bir göstergedir. Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksidin parçalanması sonucu oluşur. MDA, proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir. Lipid hidroperoksitler doğrudan DNA zincirini kırabilir ve lipid peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da oksidasyona sebep olabilirler. Okzoaldehidler 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 (Yılmaz ve Temizer 2003, Akkuş 1995).

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 (TBA) pembe renkli kromojenler oluşturdukları için, lipid peroksitlerin ölçümünde bu özellikten yararlanır. Bu bileşiklerin tümüne birden “tiyobarbitürik asit reaktif maddeler” denilir (Jain *et al.* 1989).

2.7.2 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 sitotoksisite ile sonuçlanır (Halliwell 1991).

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 katılma 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. 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 yaşlanmada önemlidir (Akkuş 1995, Halliwell 1991).

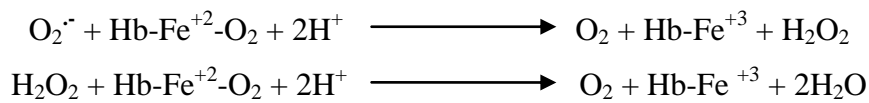
2.7.3 Karbonhidratlar üzerine etkileri

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. Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diyabet ve diyabete 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. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Glukozaminoglikan olan ve sinovyal sıvının viskositesinde 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. Bu da oksidatif hasarla katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Yanbeyi 1999, Cross *et al.* 1987, Halliwell 1991).

2.7.4 Proteinler Üzerine Etkileri

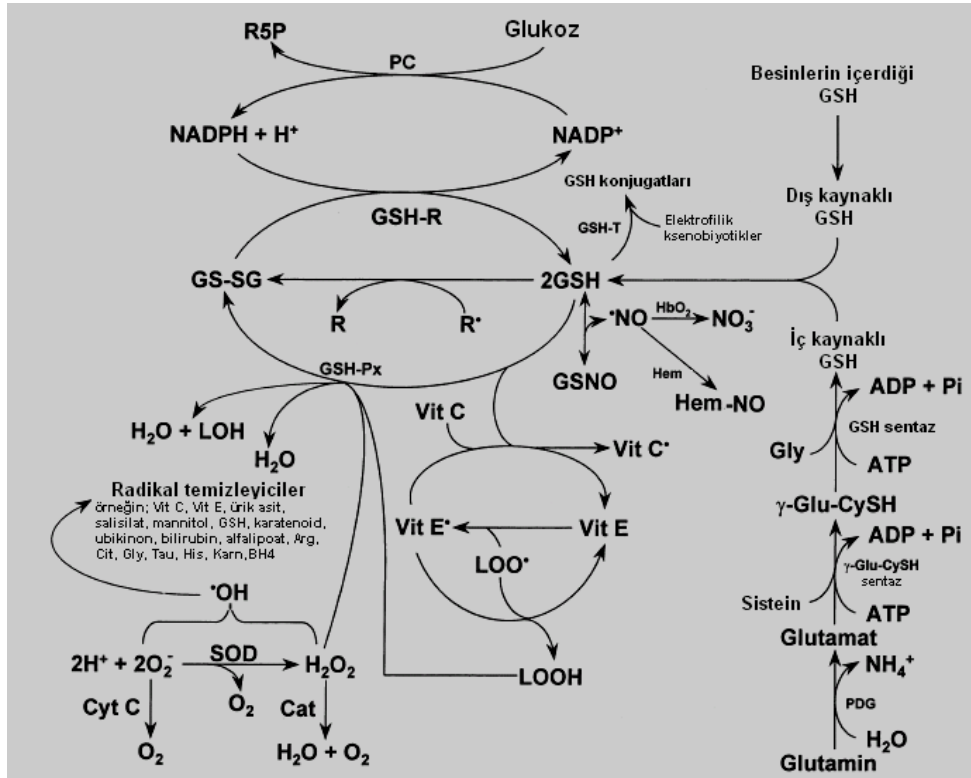
Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden 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 fragmantasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hemoglobin proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin, $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (Richardson 1991, Ripine and Bast 1997).



2.8 Vücutun antioksidan savunma mekanizmaları

Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı geciktirmek ya da önlemek için geliştirilen savunma sistemleri, antioksidanlar olarak bilinir. Antioksidanlar endojen (organizma tarafından sentezlenen) ve eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilir gibi, serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek savunma mekanizmasında rol oynayan antioksidanlar, enzimatik yapıda olabilecekleri gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler (Halliwell 1991, Jerry *et al.* 2000).

Hücre dışı savunma, albumin, bilirubin, seruloplazmin, ürik asit gibi molekülleri içermektedir. Asıl antioksidan savunmayı hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon-S transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon reduktaz ve katalazdır (Şekil 12). Bu enzimlerin fonksiyonları için bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler gereklidir (Halliwell 1996, Fang *et al.* 2002).



Şekil 12 Memeli Hücrelerinde Antioksidan Sistem (Halliwell 1996)

Tablo 5’de enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar toplu olarak gösterilmiştir (Groot 1994, Akkuş 1995).

Tablo 5 Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar

Endojen Antioksidanlar

1-) Enzimatik antioksidanlar

- Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz Sistemi
- Süperoksit dismutaz(SOD)
- Katalaz (CAT)
- Glutasyon peroksidaz(GSH-Px)
- Glutasyon redüktaz (GR)
- Glutasyon S-transferaz (GST)
- Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH)

2-) Nonenzimatik antioksidanlar

- Yağda çözünen radikal tutucuları: α -tokoferol (E vitamini), β -karoten, Bilirubin, Ubikinol.
 - Suda çözünen radikal tutucuları: Glutasyon, Askorbik asit (C vitamini) ürik asit.
 - Metal iyonlarını bağlayan proteinler: Ferritin, transferrin, haptogloblin, seruloplazmin, albumin.
 - NADPH oksidaz inhibitörleri: Adenozin, Ca^{+2} kanal blokörleri, lokal anestezipler
 - Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopurinol, oksipurinol, folik asit, tungsten
 - Fe redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferoksamin, seruloplazmin
 - Sitokinler: TNF ve IL-1
 - Nötrofil adezyon inhibitörleri
 - Barbituratlar
 - Stobadin
-

Antioksidanların, oksidatif hasardan koruma mekanizmaları şu şekilde özetlenebilir (Groot 1994, Akkuş 1995);

- Enzim aktivitesi üzerinden veya doğrudan kimyasal reaksiyonlar yoluyla,
- Oksijenden türeyen moleküllerin oluşumunu en az düzeye indirerek,
- Radikallerle doğrudan kimyasal yolla temasa geçerek,
- Reaktif metabolitlerin temizlenmesini veya bu radikallerin daha az aktif ve toksik olmayan ürünlere dönüşümünü sağlayarak,

- Zayıf reaktif türlerin daha zararlı türlere dönüşümü için gereksinim duyulan metal iyonlarını bağlayarak,
- Hedef molekülde oluşan hasarı onarma yoluyla,
- Hasar çok büyük olduğunda, hasara uğramış molekülü uzaklaştırarak.

Antioksidan ajanlar, oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla göstermektedirler.

1) Süpürücü etki gösterenler: Oluşturdukları etki ile yeni radikal oluşumunu engelleyip, oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Bu gruba örnek olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler, ferritin, seruloplazmin ve metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinler verilebilir.

2) Giderici etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inhibe eden bileşiklerdir. β -karoten, vitamin C ve vitamin E bu tür etkiye örnektir.

3) Zincir kırıcı etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Bunlara örnek olarak bazı vitaminler, mineraller, hemoglobin, ürik asit, bilirubin ve albumin verilebilir.

4) Onarıcı etki gösterenler: Bu gruba örnek olarak DNA tamir enzimleri ve metiyonin sülfoksit reduktaz verilebilir (Boyunağa ve Çelik 1996).

Hücrel enzimler ve nonenzimatik yapılardan oluşan endojen antioksidanlar ve özellikleri Tablo 6'da listelenmiştir (Clarkson and Thompson 2000).

Tablo 6 Endojen antioksidanlar ve özellikleri

<i>Antioksidanlar</i>	<i>Yapısı</i>	<i>Yerleşimi</i>	<i>İşlevi</i>
Stokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizani
SOD	Cu, Zn, Mn SOD	Mitokondri, serum	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'ye çevirir
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizani
GSH-Px	Selenoprotein	Sitosol, mitokondri	LPO ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
α -tokoferol	Yağda çözünen vit.	Membranlar, eks. sel. ortam	Peroksidasyonu azaltır
B-karoten	Vit A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksil temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptid	Intrasellüler ortam, alveoller	GSH redoks substratı
Askorbik asit	Suda çözünen vit.	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, vit C yi korur
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikalleri giderir
Bilirubin	Hemoprotein ürünü	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti H ₂ O ₂ 'e çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı

Burada, özellikle vurgulanması gereken nokta antioksidanların pek çoğunun tek bir mekanizma üzerinden etki etmediği, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturduğudur. Ek olarak oksidatif hasarın hızlı tamiri ki bu, perokside yağ asitlerinin membran lipidleri arasından temizlenmesi şeklinde olur, LPO'nu yavaşlatabilir. Membrandaki yapısal değişiklikler de peroksidabiliteye etki edebilir. Antioksidanlar sadece lipidlerin değil, belki okside olmaları çok daha zararlı olabilen DNA ve proteinlerin de korunmasında etkindirler (Murray *et al.* 2000).

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 (depleksyon) ve sonuçta sitotoksik radikal etkinliğinin artmasına bağlı olarak hücre zedelenmesine ve ölümüne yol açar. Antioksidanların, Ames testinde genellikle mutajenik olmadığı, hatta bazı kimyasalların mutajenik etkisini inhibe edebildiği gösterilmiştir. Antioksidanların belirli karsinojenlerden önce veya aynı zamanda verildiğinde sıçanların veya farelerin değişik organlarında kanser oluşumunu inhibe ettikleri açıklanmıştır. Bununla birlikte bazı antioksidanların, karsinojenlere maruz kaldıktan sonra verildiğinde, kemiricilerde, ikinci evre kimyasal kökenli kanser oluşumunu da artırdığı gözlenmiştir. Antioksidanlar, yiyecek katkıları olarak, hücrel komponentler veya plazma bileşenleri olarak çok önemli rol oynamaktadırlar. Çok sayıda katkı maddelerinin günümüzde koruyucular, antioksidanlar, renk vericiler, tatlandırıcılar, koyulaştırıcı ajanlar, besleyici olmayan şekerli tatlandırıcılar olarak kullanıldığı açıklanmıştır. Katkı maddesi olarak kullanılanların bazılarının yiyeceklerde kullanılmasının yasaklandığı ve bunların mutajenik, karsinojenik ve toksik etkili olduğu belirtilmiştir. 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 (Sies 1993, Akkuş 1995).

Akut fiziksel aktiviteler ve gebelik gibi fizyolojik durumlar ile pek çok patolojide lokal ve genel antioksidan kapasite aşılabilmekte ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu gelişmeler karşısında antioksidan kapasitenin güçlendirilmesi amacıyla, birçoğu Tablo 7'de gösterilen ekzojen antioksidan maddelerin kullanımı gündeme gelmiştir (Clarkson and Thompson 2000).

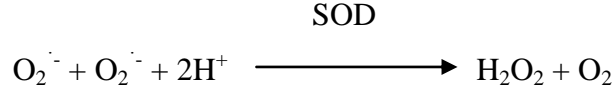
Tablo 7 Başlıca ekzojen (farmakolojik) antioksidanlar ve özellikleri (Clarkson and Thompson 2000)

Antioksidan sınıfı	Spesifik tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Allopurinol	Ksantiz oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder
	Oksipurinol	
	Pterin aldehit	
	Tungsten	
Proteaz inhibitörleri	Soya tripsin inhibitörü	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
	Serin proteaz inhibitörü	
	Fenil metil sülfonil (PMSF)	
NAJDPH oksidaz inhibitörleri	Adenozin	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit oluşumunu önler
	Lokal anestezikler	
	Kalsiyum kanal blokerleri	
	Nonsteroid kanal blokerleri	
	Cetiedil	
Süperoksit dismutaz	Doğal SOD	Süperoksitten hidrojenperoksit dismutasyonunu katalizler
	IgA bağımlı SOD	
	Polietilen glikol SOD	
	Ginkgo Biloba (Egb 761)	
Katalazlar	Doğal katalaz	H ₂ O ₂ 'nin oksijen ve suya indirgenmesi ve nötralizasyonu
	PEG-katalaz	
	Lipzom kapsüllü katalaz	
Nonenzimatik toplayıcılar	Mattinol	Hidroksil radikal giderici
	Albumin	Geniş çaplı oksidan toplayıcı
	Dimetil sulfoksid	Fe, süperoksit, hidroksil toplayıcı
	17-aminosteroid lazaroidler	H ₂ O ₂ ve hidroksil giderici
	Glutasyon	Süperoksit giderici
	Ürik asit	Süperoksit ve hidroksil giderici
	Spin tuzakları	Tüm radikalleri toplar
	Bilirubin	Peroksidasyon zincirini bozar
Demir redoks zinciri irdübitdrleri	Diferoksamin	Serbest Fe ³⁺ atomlarını bağlayarak radikal reaksiyonlarını önler
	Apotransferrin	
	Seruloplazmin	
Endojen savunmayı artıran ajanlar	Antinötrofil serumu	Hücresel glutasyon peroksidaz enzimi aktivitesini artırır
	Monoklnal antibodiler	Nötrofillerin endotele adezyonu inhibe eder
	Platelet aktive edici faktör	

2.8.1 Enzimatik antioksidanlar

2.8.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

İki molekül süperoksit anyonunun iki molekül proton ile reaksiyonunu katalizleyerek, onları H₂O₂'e ve moleküler oksijene dismute eden bir metalloenzimdir.



İki reaktif oksijen türünü, radikal olmayan moleküllere dönüştürmesi nedeniyle antioksidan sistemin önemli öğelerinden birisidir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır ve dokudaki oksijenin kısmi basınç (pO₂) artışıyla artar. Buna karşılık hücre dışı sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür. Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz'dan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır. SOD gerçekte detoksifiye edici bir enzim değildir. Çünkü ürünü olan H₂O₂ toksik bir ajandır. Ancak bu reaksiyon reaktif oksijen radikallerinin detoksifikasyonuna giden yolun ilk basamağıdır. İkinci basamak katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri tarafından H₂O₂'in suya dönüşmesini katalizler (Harris 1992).

Memelilerde üç çeşit SOD bulunmaktadır (Lee *et al.* 1994).

1) Sitozolik SOD (Cu-Zn-SOD, SOD1): Genellikle sitozolde ve lizozomal fraksiyonlarda yer alır, fakat mitokondriyal boşlukta da bulunmaktadır. İki alt birimden oluşmaktadır. Kofaktörleri çinko ve bakırdır. Enzimin aktivitesinden bakır, stabilitesinden çinko sorumludur.

2) Mitokondriyal SOD (Mn-SOD, SOD2): Mitokondride bulunur ve tetramerik yapıdadır. Kofaktörü mangandır.

3) Ekstrasellüler SOD (EC-SOD, SOD3): Tetramerik yapıdadır ve ekstrasellüler bölümlere salgılanır. Kofaktörleri çinko ve bakırdır. Ayrıca bazı bakterilerde Fe-SOD da saptanmıştır.

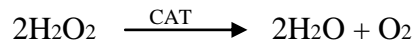
pH'nin sitozolik ve mitokondriyal SOD'nin aktiviteleri üzerine olan etkisi farklıdır. pH 7'de her ikisi de aktiftir. Fakat Cu-Zn SOD'nin aktivitesi pH 5,5-10 aralığında değişmezken, Mn SOD pH 7 nin üzerine çıktığında aktivitesini kaybeder (Harris 1992, Halliwell 1996).

Poliakrilamid jel elektroforezi ile SOD tiplerini tanımlamak mümkündür. SOD tayini için direkt ve indirekt ölçüm yöntemleri bulunmaktadır. Direkt ölçüm yöntemleri, pulse radiolizis ve stopped flow olup mevcut tekniklerin en iyisi olarak kabul edilmektedir. Ancak bu metodlar için donanım her zaman bulunmamaktadır. İndirek ölçüm yöntemlerinde kullanılan yaygın yaklaşım SOD varlığında süperoksit üreten bir sistem kullanılmasıdır (örneğin ksantin-ksantin oksidaz reaksiyonu). Bu tür metodolojilerde sitokrom-c veya nitrotetrazolium (NBT) gibi optikçe hassas bir bileşiğin indirgenmesinin ölçümü söz konusudur. Diğer yöntemler ise sülfite veya epinefrin kullanan otooksidasyon teknikleridir (Powers and Leeuwenburgh 1999).

2.8.1.2 Katalaz enzimi (CAT)

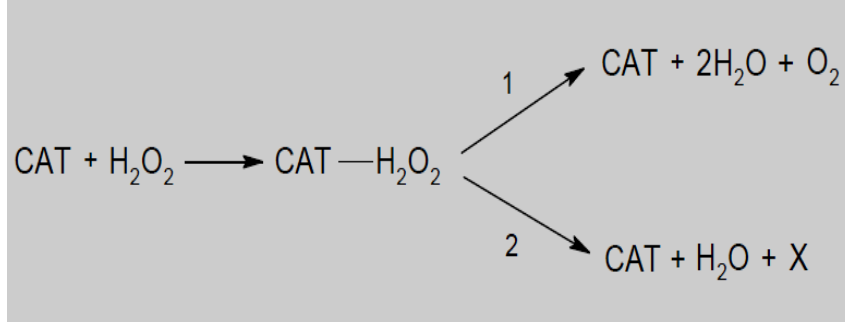
Katalaz çoğu organizmada bulunan ve hem içeren homotetramerik bir enzimdir. Peroksizomlarda yüksek derişimlerde bulunur. Karbonik anhidraz enzimi ile beraber bilinen en hızlı enzimdir (Zamocky and Koller 1999, Agar *et al.* 1986). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve mukoz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır (Murray *et al.* 2004). Kansere, diyabet, retinopati, arteroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanma gibi birçok patolojik olayda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada katalaz antioksidan sistemin öncelikli enzimidir (Fahmy *et al.* 2009).

CAT, SOD enziminin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksite suya çevrilmesini gerçekleştirir. Hidrojen peroksit konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda CAT enzimi detoksifikasyonu sağlarken hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda ise glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi görev alır. Ayrıca CAT peroksizomlarda daha etkin iken, GPx sitozol ve mitokondri de etkindir (Yılmaz ve Temizer 2003).



Katalazın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır (Şekil 13). CAT'ın temel fonksiyonu H_2O_2 'in enzimatik parçalanmasının yanında (katalitik aktivite), H_2O_2 konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özellikleri de

(peroksidatik aktivite) bilinmektedir. Fakat katalaz, lipid peroksidleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi redüklenir, bir diğer molekül H_2O_2 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi oksitlenerek başlangıçtaki durumuna dönmektedir (Karabulut 2001).



Şekil 13 Katalaz enziminin katalitik (1) ve peroksidatik (2) aktiviteleri

2.8.1.3 Glutasyon Peroksidaz Enzimi (GSH-Px)

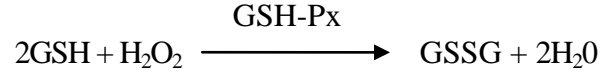
Glutasyon Peroksidaz organik hidroperoksidlerin (lipid hidroperoksidler, DNA hidroperoksidler) veya hidrojen peroksidin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizler. 1957'de Mills tarafından keşfedilmiştir (Sies 1999).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) intraselüler bir enzim olup aktif merkezinde selenosistein içerir. GSH-Px, iki adet tiol grubu ihtiva eden glutasyonu, glutasyon disülfide okside ederken hidroperoksidleri redükte eder. Redükte glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi tarafından NADPH kullanarak rejenere edilir. NADPH ise pentoz fosfat yolundan elde edildiğinden bu yol detoksifikasyon mekanizmasını destekleyici bir görünümündedir (Açan ve Tezcan 1995, Halliwell and Gutteridge 2001, Paglia and Valentine 1967).

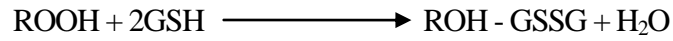
GSH Px'in insanda dört tipi izole edilmiştir (Yoshimura *et al.* 1994).

1. Klasik GSH Px (GPxl)
2. Plazma GSH Px (PGPx)
3. Fosfolipit Hidroperoksid GSHPx
4. Gastrointestinal GSH Px

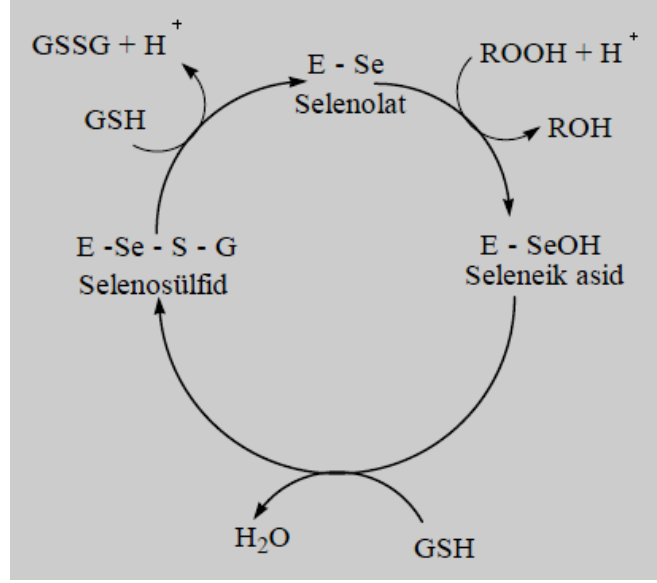
Bu enzimlerin tümü aktif bölgelerinde selenosistein şeklinde (SeCys) selenyum atomu içerirler. GSH-Px SOD gibi hem sitozol hem de mitokondride bulunduğundan H₂O₂ çıkarılmasında önem taşır. GSH-Px, H₂O₂ ile GSH'yı GSSG'ye çevirerek yok eder.



Yine peroksit radikallerine karşı katalazdan daha yüksek affinite gösterir. GSH varlığında lipid peroksidasyonunun inhibisyonu sülfidril substrat olarak GSH'ya hayli spesifik olan GSH-Px aracılığıyla gerçekleşir. GSH-Px'in bu reaksiyonu şu şekilde yazılabilir (Meister and Anderson 1983).



Glutasyon Peroksidaz enzimi, selenyum bağlı ve selenyum bağlı olmayan olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Selenyum bağlı grupta hidrojen peroksit ve diğer organik peroksitleri indirgeyen beş üye vardır. Selenyum bağımsız Glutasyon Peroksidaz ise hidrojenperoksit ile ihmal edilebilir bir aktifliğe sahip olup sadece organik hidroperoksitleri redükler. Selenyum bağımlı üyelere, GSH-Px 1 veya hücre GSH-Px bütün hücrelerde eksprese edilen, tetramerik yapıda, sitozolik bir enzimdir. Eritrosit, böbrek ve karaciğerde yüksek miktarda bulunur. GSH-Px 2 veya gastrointestinal GSH-Px insanlarda karaciğer ve gastrointestinal kanalda eksprese edilir, böbrek, kalp, akciğer, plasenta ve uterusunda bulunmaz. GSH-Px 3 veya plazma GSH-Px plazmanın lipid kısmından izole edilmiş bir glikoproteindir, akciğer, plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunur. GSH-Px 4 veya fosfolipit GSH-Px sitozolde, mitokondri ve hücre zarında bulunur. GSH-Px 5 veya epididimal GSH-Px selenyum bağlı değildir ve yalnız epididimiste eksprese edilir. GSH-Px 6 hücre GSH-Px ile homoloji gösterir, burun epitel ve embriyolarda eksprese edilir. GPx'in katalitik aktivitesi Şekil 14'de verilmiştir (Halliwell 1996).



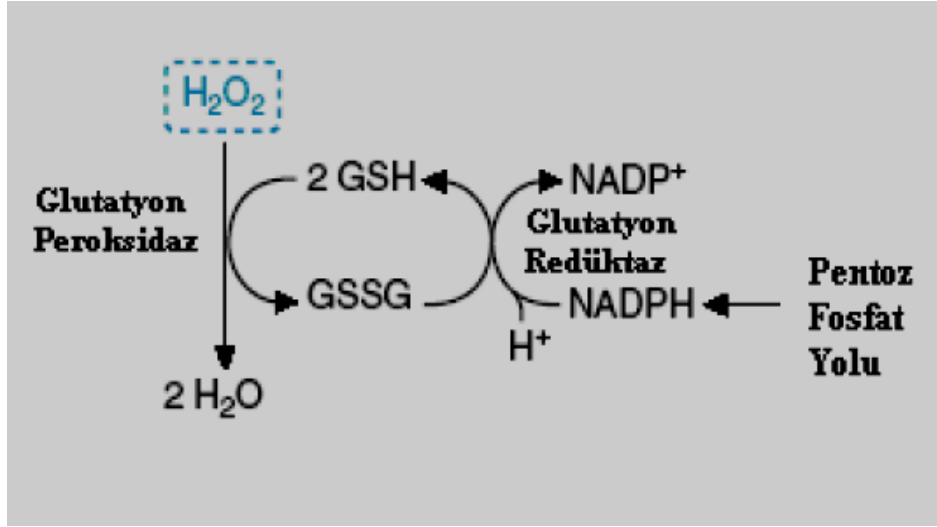
Şekil 14 GPx'in katalitik aktivitesi

2.8.1.4 Glutasyon Redüktaz enzimi (GSH-Rd)

Okside glutasyon (GSSG) NADPH bağlı flavo enzim olan Glutasyon Redüktaz tarafından redükte formuna (GSH) indirgenir.



Glutasyon redüktazın kalıtımı otozomal dominanttır, 8. kromozom üzerindedir. Glutasyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir. Glutasyon redüktaz flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir, NADPH'tan bir elektronun GSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler (Şekil 15). Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve major kaynağı pentoz fosfat yoludur (Nordberg and Arner 2001, Hall *et al.* 1998, Özkan ve Fışkın 2004).

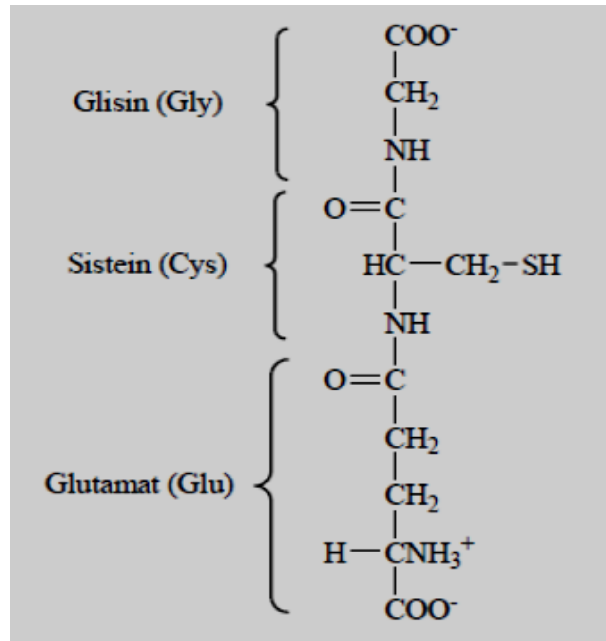


Şekil 15 Glutasyon redoks döngüsü

2.8.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.8.2.1 Glutasyon (GSH)

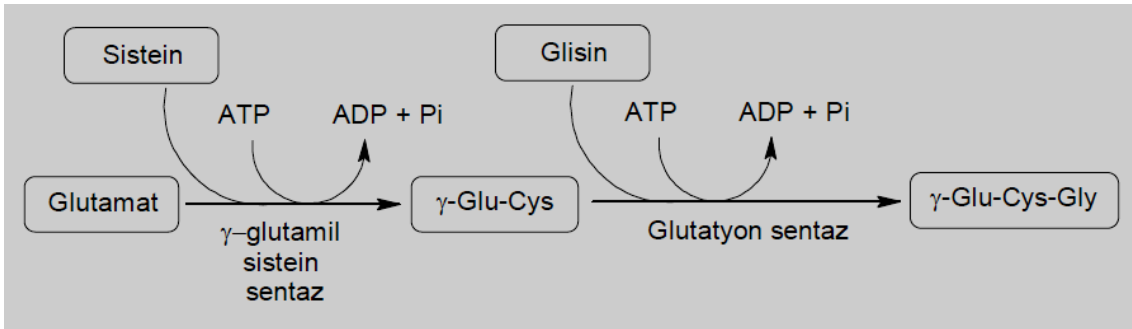
Glutasyon, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan düşük molekül ağırlıklı fakat fonksiyonu büyük bir tripeptiddir (Şekil 16). Bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda hücre sitozolünde bulunan GSH, aynı zamanda en bol bulunan intrasellüler tiyoldür (Kidd 1997).



Şekil 16 Glutasyonun yapısı (Champe and Harvey 1997).

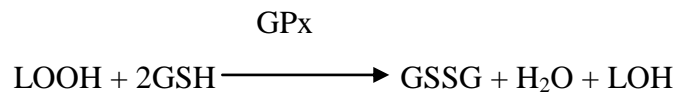
Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyan önemli bir indirgen ve antioksidan olup, reaktif serbest radikaller ve diğer oksidan türlere karşı hücrenel savunmada temel bir rol oynar. Hemen hemen bütün hayvan hücrelerinde ve bazı bakterilerde bulunur. GSH'ın hücrenel antioksidan savunmada birçok rolü vardır. En önemli antioksidan görevi, H₂O₂ ve organik peroksitleri (lipit peroksit gibi) selenyum bağımlı enzim GPx ile katalizleyip yok ederek sırasıyla su veya alkole dönüştürmesidir (Şekil 15). Bir çift hidrojen iyonu vererek GSSH'a yükseltgenir, GSSH ise glutatyon reduktaz tarafından katalizlenir. Bu reaksiyon GPx ile oluşur, böylece GSH'ın meydana gelebilmesi için bir redoks döngüsü sağlanmış olur (Flohe *et al.* 1985).

Glutatyonun vücuttaki sentezi iki basamakla meydana gelir (Şekil 17). İlk basamakta glutamat ve sisteinden, γ -glutamil sistein sentaz enzimi ve ATP aracılığı ile bir ara ürün meydana gelir. İkinci basamakta ise ara ürüne glutatyon sentaz katalizörlüğünde glisin eklenir ve glutatyon oluşur (Nelson and Cox 2004).

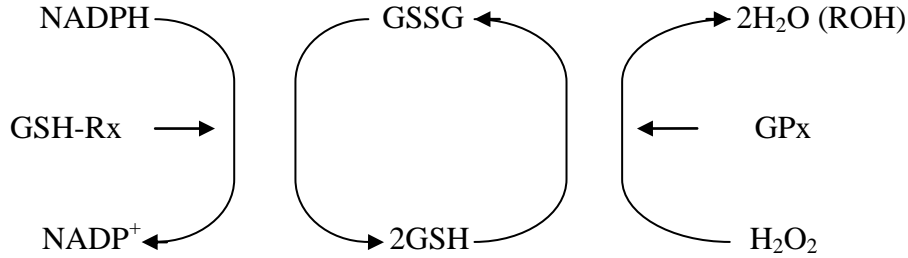


Şekil 17 Glutatyonun vücuttaki sentezi

GSH, aerobik koşullar altında normal büyümenin ve metabolizmanın sonucunda oluşan hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin uzaklaştırılmasında GPx antioksidan enzimi ile birlikte görev alır. GSH ve GPx, peroksitleri suya indirgeyerek detoksifikasyonu gerçekleştirirler.



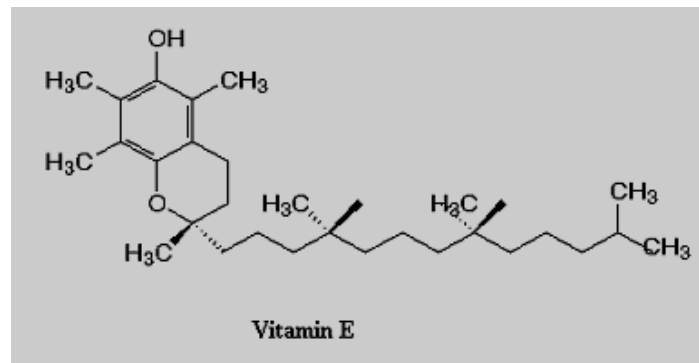
Tepkime sırasında glutatyon yükseltgenerek, yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) formuna dönüşür. GSSG, NADPH'ın indirgenmesinde kullanılan glutatyon reduktaz (GSH-Rx) tarafından yeniden oluşturulur (Akkuş 1995).



Detoksifikasyon görevi dışında GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Nelson and Cox 2004).

2.8.2.2 Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E (α -tokoferol) ise karaciğer, plazma ve yağ dokularında yüksek oranda bulunan ve antioksidan etkisi ile membran içinde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksitlenmesini önleyen bir vitamindir (Şekil 18). 1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilen bu maddeye 1924 yılında Sure tarafından “E vitamini” ismi verilmiştir (MacDonald and Wicks 2003). Yağda çözünen E vitamini, ince bağırsaktan emilir ve kan yoluyla karaciğere iletilir. α -tokoferol tekrar kana salınır. α -tokoferolün görevini yerine getiren maddeler E vitamini olarak adlandırılmaktadır (Frank 2005).



Şekil 18 Vitamin E (α -tokoferol)

E vitamini “Tokoferoller” ve “Tokotrienoller” olarak iki ana grupta toplanabilen, 6 kromonal türevleri olan 8 doğal bileşimi içerir. Bu bileşikler molekülün kromonal halkasındaki metil gruplarının sayı ve pozisyonuna göre α , β , γ , δ tokoferoller olarak adlandırılır (Bjornebeo *et al.* 1990).

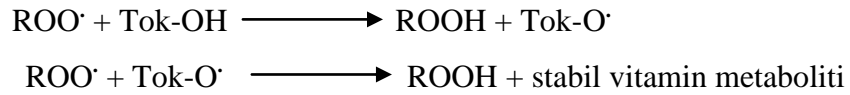
En yüksek vitamin E konsantrasyonları, mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (Gutteridge 1995, Çavdar *et al.* 1997).

E vitamini dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır. Lipidlerle yakın ilişkili biyolojik bir antioksidandır. Sellüler ve organel zarları arasına girerek serbest radikalleri daha az reaktif bileşiklere çevirerek zarları lipid peroksidasyona karşı korumuş olur. Alfa tokoferol'ün antioksidan etkisi *invivo* olarak gösterilmiş ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda normalin üzerinde E vitamininin alınması sonucu vücudun birçok kimyasal toksik ajana karşı korunduğu saptanmıştır. Serbest radikallere karşı koruyucu etkisi glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi eksik olan bireylerde de gösterilmiştir. Örneğin talasemi majörde serum α -tokoferol düzeyinde bir azalma söz konusudur (Akkuş 1995, Halliwell and Gutteridge 2001).

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 (Champe and Harvey 1997).

E vitamininin önemli bir özelliği antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir. 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. Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamindir (Champe and Harvey 1997, Frank 2005, Akkuş 1995).

Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutatyon peroksidaz ve α -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. E vitamini lipid peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO \cdot) transfer etmek suretiyle antioksidan etkisini aşağıdaki şekilde iki basamakta gerçekleştirir:



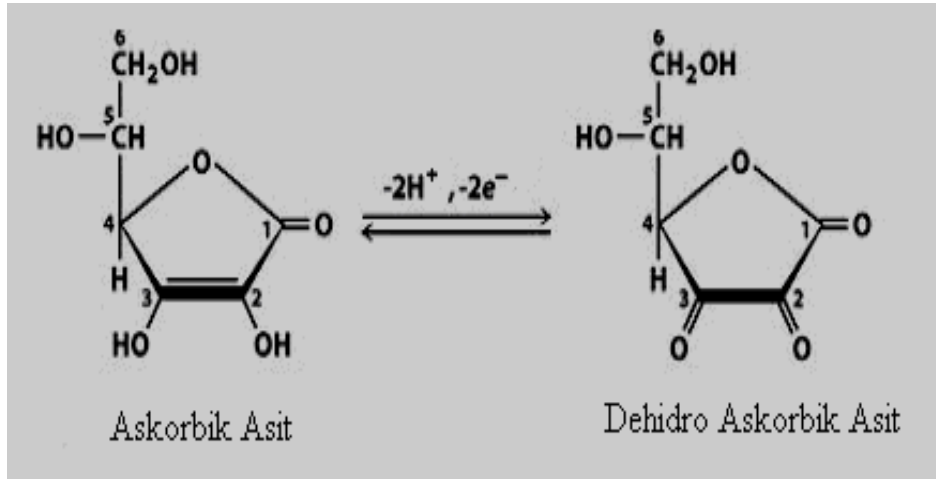
E vitamininin bir diğer işlevi de A vitamininin bağırsaktan absorpsiyonunu ve dokulardaki düzeyini arttırmasıdır. Bu durum büyük bir olasılıkla, A vitamininin oksidasyonla kaybının azalmasına bağlıdır (Frank 2005).

2.8.2.3 Vitamin C (Askorbik Asit)

C vitamini (askorbik asit) bir ketolaktondur. L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit gibi iki aktif formu olan askorbik asit iyi bir redükthan maddedir. Redükleyici bir ajan ve radikal süpürücü olarak askorbik asit, reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki

sağlar. Bununla birlikte, askorbik asit, serbest radikal kaynağı gibi hareket edebilen çeşitli işlevleri olan bir bileşimdir (Akkuş 1995, Halliwell 1991).

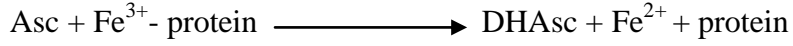
Askorbik asit dokularda bir enzimin katalitik aracılığı olmadan bile kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir (Şekil 19). Bu özelliği nedeniyle askorbik asit indirgeyici nitelik gösterir. Dehidro şekline dönüşmesi molekül başına iki hidrojen atomunun serbest kalmasına neden olur. Dehidroaskorbik asit 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 (Lunec and Blake 1990, Halliwell 1991).



Şekil 19 Askorbik Asidin Dehidro Askorbik Aside Dönüşümü

C vitamini güçlü indirgeyici aktivitesi nedeniyle aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Hücre dışı sıvıda bulunan en önemli antioksidan maddedir. Hücrelerin içinde de antioksidan etkinlik gösterir. Süperoksit anyonunu, hidrojen peroksidi, hipokloriti, hidroksil radikalini, peroksil radikallerini 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. C vitamininin, ferri demiri ferro demire indirgeyen, süperoksit

radikali dışındaki tek hücreli 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 (Lunec and Blake 1990, Halliwell 1991).



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 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 (Özdener ve Çelik 1993).

2.8.2.4 Karotenler

Hücreleri korumada görev alan pigmentlerdir. β -Karoten organizmada A vitaminin oksijen öncülü olmasının yanı sıra bir antioksidan olarak görev yapar. β -Karoten hücrelerin dışında görev alırken, hücre duvarından içeri girmek isteyen zararlılara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitamini üstlenmiştir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karotenin, singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Akkuş 1995, Di Mascio *et al.* 1991).

2.8.2.5 Melatonin

En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen en güçlü antioksidandır. Lipofilik özelliğe sahiptir. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşılabilirdiği gibi kan-beyin bariyerini de kolayca geçer. DNA hasarını da çok etkili bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Yaş artımı ile birlikte

melatonin üretimi de azalmaktadır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli olabileceği düşünülmüştür (Memişoğulları 2005).

2.8.2.6 Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Flavonoidler, 3'-4' dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan aktiviteye sahiptir. Fenolik antioksidan, lipid radikallere hızla H[•] vermesi şeklinde lipid oksidasyonu ile etkileşir. Görevi ROO[•] ve RO[•] radikalini parçalamak ve böylece LPO zincir reaksiyonunu sonlandırmaktadır. Ayrıca bakır iyonlarıyla kompleks oluşturabilirler, bu durum antioksidan etkilerine bağlanabilir (Gutteridge 1995, Akkuş 1995).

2.8.2.7 Bilirubin

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok efektif bir lipid antioksidandır. Bilirubin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir. Bilirubin bir lipid antioksidandır ve düşük konsantrasyonlarda peroksil radikalini yakalar. Zincir kıran bir özelliği olduğu belirtilmiştir (Gutteridge 1995). Bunların dışında plazmada hipokloröz asitin güçlü bir temizleyicisi olan albumin, hem doku homojenatları hem de basit lipid emilasyonlarında güçlü bir serbest radikal inhibitörü olan seruloplazmin zararlı bir serbest radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran ve güçlü bir antioksidan olarak bilinen melatonin nonenzimatik antioksidanlar olarak bilinirler (Yanbeyi 1999, Akkuş 1995).

2.9 Karbontetraklorür (CCl₄)

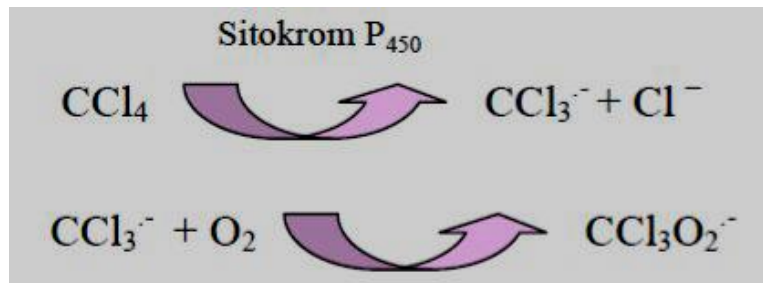
Karbontetraklorür hem biyokimyasal hem de patolojik olarak tüm dünyada en fazla üzerinde çalışılmış bir hepatotoksik maddedir. Özellikle sıçanlarda karbontetraklorür (CCl₄) indüklü hepatopati serbest radikal aracılı karaciğer hasarı çalışmaları için klasik bir model olup insana yakın karaciğer hastalığı üretir (Janakat and Al-Merie 2002, Noyan *et al.* 2006). Karbontetraklorür (CCl₄) saydam, yanıcı olmayan, kolayca buharlaşabilen, yoğun ve hoş kokulu sıvı bir maddedir. CCl₄ doğal olarak bulunmakla

birlikte pek çok kimyasal reaksiyonun sonucu olarak da ortaya çıkar. Güçlü bir kimyasal stabiliteye sahiptir. Bunun sonucu olarak 30 ile 60 yıl arasında değişen çok uzun bir yarılanma ömrü vardır (Noyan *et al.* 2006, Akkuş 1995).

CCl₄ kloroflorokarbonlu (CFCs) bileşiklerin sentezinde, soğutucu ekipmanların ısı transferlerinde, bitki ve tohum ekstratların elde edilmesinde ve müzelerde sergilenen esyaların dış ortamın zararlı etkilerinden korunmasında kullanılır. İyi bir kimyasal çözücüdür. Bu özelliğiyle endüstriyel alanlarda yağ, vernik, pestisit, parafin ve rezin çözücüsü olarak, evlerde giyecek, mobilya ve halılardan lekelerin çıkarılmasında kullanılmaktadır. Yangın söndürücülerin önemli bir komponentidir. Antihelmintik ve antihistaminik etkileri vardır. Tüm bu özelliklerinden dolayı CCl₄ Avrupa ve üçüncü dünya ülkelerinde halen kullanılmaktadır (Noyan *et al.* 2006, Akkuş 1995, Kumar *et al.* 1994).

CCl₄, kuru temizleme amaçlı, çözücü ve eskiden dondurucu olarak kullanılan bir hidrokarbon bileşigidir (Farrell 1998). CCl₄ vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla alınabilir. İnsanlarda CCl₄'ün toksik dozu solunum yolu ile alındığında 65 ppm, ağızdan alındığında ise 4 ml'dir. Emildikten sonra bütün organ ve dokulara dağılan CCl₄ en çok yağ dokusunda birikir. 2-6 gün içinde yavaşça dokulardan ayrılarak başlıca akciğerler ve az miktarda da böbrekler yoluyla atılır (Kayaalp 1991). Zehirlenme belirtileri deri, solunum veya ağız yoluyla emilimini takiben hemen ortaya çıkar. CCl₄ zehirlenmesi merkezi sinir sisteminin baskılanmasına yol açar. Buna bağlı olarak görülen başlıca belirtiler; baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, ataksi, görme bulanıklığı, uyku hali ve bilinç kaybıdır. İlk günden itibaren bulantı, kusma ve karın ağrısı görülür. CCl₄'ün emilimden birkaç gün sonra karaciğer yağlanması ve hasarı ile ilgili belirtiler ortaya çıkar. Karaciğer hücrelerinin nekrozu sonucu aspartat aminotransferaz (AST) ve aldolaz enzim düzeyleri artar. Protrombin zamanı uzar (Wang *et al.* 2005). Uzun süreli düşük miktarda (45-100 ppm) CCl₄ solunması huzursuzluk, aşırı hareketlilik, barsaklarda düzensiz kasılmalara neden olur. Maruz kalma birkaç haftayı geçtiğinde ciltte kuruma, kabarık kırmızı lekeler, tırnaklarda kırılma ve kuruma ortaya çıkar. Solunmadığı sürece semptomlar azalır ancak tekrarlandığında yeniden ortaya çıkar. Prooksidan aktiviteye sahip olan CCl₄ seçici hepatotoksik etkisinden dolayı deney hayvanlarında siroz oluşturmak için kullanılmaktadır. CCl₄ ikronodüler siroz oluşturur (Zimmerman 1978).

Anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal rolü nedeniyle zararlı madde ve ilaçlara sıkça maruz kalan karaciğerde, hasar dahil çeşitli patolojik tablolara yol açan 600'den fazla maddeden biri de CCl_4 'dür (Robbins 2000, Zimmerman 1978). Karbondisülfürün klorlandırılmasıyla veya aynı bileşiğin kükürt monoklorür ile tepkimeye sokulmasıyla elde edilen CCl_4 , yüksek dozlarda kullanıldığında karaciğerde birikerek harabiyete neden olur, hatta siroz oluşturabilir. Vücuttaki diğer organlarda da dejenerasyonlar meydana getirir. CCl_4 'ün düşük dozlarda karaciğer hücrelerinde yağ dejenerasyonuna, yüksek dozlarda ise karaciğer hücrelerinin nekrozuna neden olduğu bildirilmektedir (Wang *et al.* 2005). Bu hasarın değişik şekillerinin, oksidatif stres ve bunu takiben ortaya çıkan serbest radikallerle oluştuğu bilinmektedir. Toksik oksijen ve hidroksi radikallerinin lipid peroksidasyonu ve başka yollarla hepatosit membranı hasarlayabilecekleri *in vivo/in vitro* ortamlarda deneysel olarak gösterilmiştir (Foulis *et al.* 1988). CCl_4 'ün karaciğerde mitokondriyal monooksijenaz (P450 2E1) sisteminde metabolize edilmesi sonucu ortaya çıkan serbest radikaller membran proteinleri ve lipidlerine iki yolla saldırabilirler. Metabolizma esnasında öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil (CCl_3^\cdot) serbest radikali oluştuğundan sonra lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksit ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\cdot$) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür (Şekil 20). Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipid hidroperoksit ve malondialdehid gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur (Recknagel *et al.* 1989). Toksik etki sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak karaciğer hücre nekrozuna yol açarlar (Arii *et al.* 1990, Dashti *et al.* 1992).



Şekil 20 CCl_4 metabolizması

CCl_3^- radikalinin oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen CCl_3O_2^- radikali de kuvvetli bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Bu olayları takiben serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar, bu da hücre membranlarının oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır. Karbontetraklorür karaciğerde hidropik dejenerasyon (balonlaşma dejenerasyonu), yağlanma ve hepatosellüler zon 3 nekrozu yapar. CCl_4 'e bağlı karaciğer hasarında, meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü lipid peroksidasyonuna bağlı hasar sonunda karaciğerde fibrozis ve siroz oluşabilir. Karaciğer fibrozisi, ekstrasellüler matriks komponentlerinin artması ile karakterizedir. Ekstrasellüler matriksin yapımı ve yıkımı arasındaki denge, oluşan toksik oksijen radikallerine bağlı olarak, potent profibrojenik mediatörlerin de aktive olması ile sürekli matriks yapımı yönünde bozulmaktadır. Yapılmış olan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (Akkuş 1995, Liebert *et al.* 2005, Shimizu 2003).

2.10 Liquidambar Orientalis

Ülkemizde sıgla ya da yöresel adıyla günlük ağacı olarak bilinen *Liquidambar orientalis* (Şekil 21), *Hamamelidaceae* familyasının *Bucklandioidae* alt familyasının, *Liquidambar* cinsinin bir türüdür (Davis 1987, Örtel 1988). *Liquidambar*, Latince *liquidus*, Arapça *amber* sözcüklerinin birleşmesinden meydana gelmiştir ve güzel kokulu sıvı demektir (Önal ve Özer 1985).



Şekil 21 *Liquidambar orientalis*

Sıgla ağacı; Amber ağacı, günlük ağacı, buhur ağacı, Mia pelesengi, Miai sail, Revvani suğla olarak da adlandırılmaktadır. Türkiye’de yetişen sıgla ağacı Muğla ilimize bağlı Marmaris, Fethiye, Köyceğiz ve Ula yörelerinde alçak ve deniz seviyesine yakın (Tablo 8), sulu dereler içerisinde ve sulak kısımlarda, az miktarda Denizli ilimizin Günlük Çayı, Gerenis Çayı, Burdur-Bucak, Acıpayam’ın Gölcük Köyü ve Antalya ilimizin (Şekil 22) Aksu Vadisi çevresinde taban suyunun yüksek olduğu arazilerde yetişmektedir (Acatay 1963, Atay 1985, Davis 1987, İstek ve Hafizoğlu 2004).

Tablo 8 Sığıla ağacının yetiştiği yerler

Muğla	Gökova-Kocapınar, Köyceğiz ve Turgut köy mevki
Marmaris	Gelibolu, Gökbük, Hisarönü bölgesi Arputça, Bördübend ve Değirmenyani, Soğuksu mevki, Günnücek ormanı, Merkez bölgesi karasu, Adaağzı ve Göllü mevki, Çetibelli-Taşhan köprüsü, Kocaalan, Kuzcadere ve Söğütent bölgeleri
Datça	Emecik köyü civarı ve Aksaz bölgesi
Yatağan	Gökbel-Çine çayı kenarı
Milas	Selimiye, Kandak köyü
Aydın	Emirdoğan köyü-Çine çayı, İncekemer
Köyceğiz	Merkez bölgesi yuvarlak çay serisi, Nasuhdede köy günlük serisi, Büyük Kalağağaç, Hamit köy, Köyceğiz gölü çevresi ortaca bölgesi, Okçular, Sarısu kavakarası mevki
Dalaman	Koçdüven, Tersokan serisi, Akçataş mevki, Bahtiyar bölgesi, Dalaman çayı serisi, Değirmen deresi, Gutça mevki, Ala dağ serisi, Domaçe deresi-akçaalan mevki, Ağla bölgesi, kargıcak serisi, Sazak ve Okluk mevki, Alioğlu serisi, Kocapınar ve Toparlar mevki, Döğüşbelen yakını
Fethiye	Güneydağı bölgesi-Kargı, Yanıklar, Kirsecik ve merkez mevki, Kızıldere-Göcek bölgesi, Dikmentepe serisi-Karanlık dere, Inlice ve Küçük Kargı mevki
Denizli	Karacaören bölgesi-Günlük geçidi, Gavurpazar ve Çakmak deresi mevki, Köprübaşı bölgesi, Günlük dere mevki ve Günlüklü mahallesi, Acıpayam bölgesi, Gölcük serisi, Alcı bölgesi Akdere mevki
Burdur-Bucak	Melli bölgesi, Çobanpınar serisi, Sarıdere Çobanpınar köyü, Kızıkgılca mahallesi
Antalya	Kaş, Kalkan bölgesi, Kınık harabelerinin 2 km batısı, Serik Pınarözü bölgesi, Pınarözü deresi, Gediz-Bozburun dağı, Sinni çayı, Söğütlü yayla
Isparta	Sütçüler-Çandır nahiyesi, Kızılı köyü, Aksu kenarı, Karacaören



Şekil 22 *Liquidambar orientalis*'in Türkiye'deki yayılış alanları (Kaya ve Alan 2003)

Liquidambar L. Hamamelidaceae familyasındaki tek cins olup, Batı Asya, Doğu Asya ve Kuzey Amerika'da dağılım gösteren 5 ayrı türü ile bilinmektedir: *Liquidambar styraciflua* L. Amerika'da, *Liquidambar formosona* Hance Çin'de, *Liquidambar attingia* Blume Güneydoğu Asya'da, *Liquidambar macrophylla* Dest Orta Amerika'da, *Liquidambar orientalis* Mill. ise Türkiye'nin Boreal-Tertiary orijinli relik endemik bir türüdür (Davis 1987).

L. orientalis'in deniz seviyesinden başlayıp, 1000 metre yüksekliğe kadar çıkabildiği görülmektedir. Geniş tepeli, çok dallı, 20 metreye kadar uzayabilen, 200-300 yıl yaşayabilen bir ağaçtır (Tablo 9). Sert kışlara ve dona karşı duyarlıdır. Kökleri sığdır. Nemli, serince toprakları sever, ışık isteği çoktur (Örtel 1988).

Liquidambar orientalis loblu yaprağı şekil 23'de verilmiştir.



Şekil 23 *Liquidambar orientalis*'in 5 loblu yaprağı (a), erkek çiçeği (b), meyve ve tohumunun (c,d,e) genel yapısı (Örtel 1988).

Tablo 9 Liquidambar orientalis Miller Türünün Genel Özellikleri (Örtel 1988)

Bitkinin genel görünüşü	20 m'ye kadar boylanabilen geniş tepeli, çok dallı ağaçtır. 200-300 yıl kadar yaşayabilir. Dallar kalındır, kabuk koyu renkte olup derince yarıkları vardır.
Yaprak	Yaprakları palmatitid, 5 lopa ayrılmış, kenarları sinuat-dentat veya -serrat, tüysüz veya ana damarların etrafında nadiren yumuşak kısa tüylüdür. Sürgün üzerindeki dizilişleri helezonidir. Genel olarak Akçaağaç ve çınar yapraklarına benzerler. Üst yüzeyleri alt yüzeylerine göre daha koyu yeşildir. 5-12 x 6-13 cm'ye ulaşan yapraklar, sapları ile sürgüne ve dala bağlanırlar.
Tomurcuk	Tomurcuklar, kırmızı-kahverengi, 3-8 mm. çapında parlak, tüysüz, 5-7 pullu ve sivri uçludur. Yıllık sürgünler bir uç tomurcukla biter. Yan tomurcuklar az çok dala yatmış vaziyettedirler.
Çiçek eşey durumu	Monoik-diklin
Çiçek	Dişi çiçekler aşağıya doğru sarkık kümeler şeklinde bir aradadır. Erkek çiçekler genellikle dal uçlarında ve kümeler şeklindedir.
Meyve	2-2,5cm. çapında ve aşağıya doğru sarkıktırlar. 5-10cm. uzunluğundaki saplara taşınırlar. Meyve durumu, çınar meyve durumuna çok benzer. Kasım Aralık ayında tohumları döküldükten sonra da uzun süre ağaç üzerinde kalırlar. Çınar meyvelerinden farkı sığla da meyve durumları saplarda tek tektir, ayrıca meyve durumu üzerinde gürzdeki gibi çıkıntılar taşırlar. Çınar da ise sap üzerinde birden fazla meyve başçığı vardır ve bunlar ponpon gibi yumuşak yapılıdır.
Ağaç Kabuğu	Genç ağaçların kabukları ince, parlak, düz ve gri renktedir. Yaşlandıkça kalınlaşan kabuk üzerinde uzunlamasına ve enine çatlaklar oluşur. Rengi gri-siyaha dönüşür.
Çiçeklenme Dönemi	Mart – Nisan
Habitat	Taşkın yatağı bataklık alanlar, akarsu yakınındaki vadi kenarları
Bulunduğu Yükseklik	Deniz seviyesi – 800m

L. orientalis, ekolojik ve biyocoğrafik öneme sahip olduğu kadar, sığla yağı (Styrax storax, Styrax liquids, Orientalis sweet gum, Levant styrax) adı verilen bir balzamin elde edilmesi nedeniyle ekonomik açıdan da çok önemli bir türdür. Sığla yağı ülkemizde bulunan *L. orientalis*'in dışında sadece Orta Amerika'da bulunan *L. styraciflua*'dan elde edilmektedir. Amerikan storax (Sweet gum, Red gum, Styrax Americanus, White Peru Balsam) olarak bilinen bu balzamin üretimi Honduras ve Guatemala'da yapılmaktadır (Davis 1982, Acar *et al.* 1993).

Sığla yağı fiksator olarak parfümeride, kozmetikte, sabunların kokulandırılmasında, eczacılıkta bazı ilaçların hazırlanmasında, ciklet ve tütünlerin kokulandırılmasında, ayrıca sinnamik asit, sinnamik alkol gibi kimyasal maddelerin doğal kaynağı olarak kullanılmaktadır. Sığla yağından su buharı destilasyonu ile elde edilen nötral uçucu yağ da pekçok değerli doğal esaslı parfümün bileşimine girmektedir. 1918'lere kadar dünya pazarında yalnızca Türk sığla yağının (Oriental styrax, Levant styrax) bulunduğu bildirilmektedir. Ancak, I. Dünya Savaşı nedeniyle Anadolu'dan sığla yağının ulaşmaması üzerine, oriental styrax'a benzer özellikte olan Amerikan styrax'ın üretimi başlatılmıştır (Özcan *et al.* 2005).

Sığla yağı çok eski devirlerden beri tanınır. Ticareti Finikeliler tarafından yapılıyordu. Eski Mısırlılar bu yağı mumyaların hazırlanmasında kullanmışlardır. Tıbbın babası olarak bilinen Hippokrates (MÖ 460-377) döneminden başlayarak ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. 3. yüzyılda yaşamış ve mide ülserinden rahatsızlık çeken Roma imparatoru Caracalla'nın o zamanın sağlık merkezlerinden olan Epidaurus, Kos ve Bergama'daki Asklepion'larda tedavi gördüğü, bunlardan Bergama Asklepion'unda sığla yağı ve çam reçinesine bal karıştırılarak yapılan bir tür iksirden şifa bulunduğu, iyileşmesinden sonra şehre ve doktorlara minnet borcunu ödemek için bağışlarda bulunduğu bilinmektedir. Arıtılmamış (rafine edilmemiş) sığla yağı içerisinde %11-14 oranında su bulunmasına rağmen, arıtılmış ürünlerde ya hiç su bulunmamakta veya çok az miktarda su bulunmaktadır. Suda çözünmez, fakat benzen, eter, aseton ve petrol eteri gibi organik çözücülerde büyük oranda çözünür. Bu ağaçtan elde edilen sığla yağı haricen ve dâhilen kullanılır (Berkel 1955, Efe 1986, Özcan *et al.* 2005, Top *et al.* 2007).

Sığla yağı iyi bir antiseptik ve parazit öldürücüdür. Pomat ve yakı halinde uyuz ve mantar gibi cilt hastalıklarında yararlıdır. Mide yaralarının iyileştirilmesinde de kullanılmaktadır. Vücuttaki yaraların iyileştirilmesinde ise sığla yağının yara olan yere sürülmesi suretiyle kullanılmaktadır. Böylelikle yara izi kalmadan deri iyileşmektedir. Sığla yağı (Styrax Liquidus) taze halde iken kahverengimsi, sarı bir rengi ve kendine özgü belirgin bir kokusu, acı lezzeti vardır. İçerisinde sinamik asit (tarçın asidi), sytracin, sytrol, sytron, storesinol ve styrogenin maddeleri bulunmaktadır. İçerdiği

tarçın asidi nedeniyle ısıtıldığı zaman tarçın kokusu verir. Sığla yağı genellikle koyu bal kıvamında olup, özgül ağırlığı 1,091-1,113 gr/cm³tür. Bu balzamin arındırılması ile elde edilen "Styrax Depuratus" adlı madde çok değerlidir. Normal halde vanilya kokusuna benzer bir kokuya sahiptir. Isıtıldığında bu koku tarçını andırır. Lezzeti acıdır. Sığla yağı iyi bir antiseptik ve parazit öldürücüdür. Dâhilen alındığında astım, bronşit gibi üst solunum yolu hastalıkları ile blenaoraji ve fluoalbus hastalıklarında kullanılır. Pomat ve yakı halinde uyuz, mantar gibi cilt hastalıklarında yararlıdır. Sığla yağının leblebi tozu ile karıştırılarak hazırlanan preparatları mide hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. Yine haricen reçineler tütsü gibi yakılarak pamuk arasına koyularak öksürük gibi rahatsızlıklarda göğse konularak kullanılmaktadır. Sünnet operasyonundan sonra, yaranın çabuk iyileşmesi için sığla yağı ve bal karışımı emdirilmiş bir bezi sünnet yarası üzerine sarmışlardır. Tütüne koku vermek için kullanılır. Sığla yağı üretimi sırasında arta kalan ve buhur adı verilen madde "Cortex Thymlamitis" ise cami ve kiliselerde tütsü maksadı ile yakılarak kullanılmaktadır (Berkel 1955, Efe 1986, Özcan *et al.* 2005, Duru ve Öztürk 2006, Top *et al.* 2007).

Kanuni Sultan Süleyman döneminde (1520-1566) Marmaris-Fethiye arasındaki bölge Kanuni'nin kız kardeşi Mihrişah Sultan'a verilmiştir. Mihrişah Sultan adına kurulan vakfın gelir elde etmesi için evlendiği Mısır Hidivi Ali Paşa yörenin sığla yağlarını Mısır'a ihraç edermiş. Özellikle parfümeri ve sabun endüstrisinde önemli kullanım yeri vardır. Saf sığla yağı, ham sığla yağının alkol ekstraksiyonu ve ekstraktin destilasyonu ile elde edilir. Sığla yağının asit, alkol, ester ve fenol gibi yüksek moleküllü bileşikler içerdiği, bugüne kadar yapılmış araştırmalarla sığla yağı içerisinde Sinamik asit, Styracin, Styrol, Styron, Storesinol, Storegenin maddelerinin bulunduğu kesinlik kazanmıştır. Alkoldeki çözeltisi parfümlerin kokularını tespit etmede fiksator (kalıcı olma özelliği) görevi yapar. Kokuların insan vücudunda kalıcılığını arttırmak için kullanılmaktadır. Ayrıca sabunu yapılarak deri rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Sabununun rahatlatıcı kokusu nedeniyle kullanımı tercih edilmektedir (Berkel 1955, Özcan *et al.* 2005, Efe 1986, Top *et al.* 2007, Duru *et al.* 2011).

Sığla yağı %45 oranında fenolik bir bileşik olan sinamik asit ihtiva etmektedir. Sinamik asit ihtiva eden bitki ekstreleri ve propolis ile yapılan çalışmalar bu maddenin

antioksidan, antibakteriyal ve antiinflamatuvar özelliğini ortaya koymuştur. Yine bu çalışmalarda sinamik asidin bazı hücreleri lipid peroksidasyonundan ve çeşitli oksidatif toksinlere bağlı hasardan koruduğu gösterilmiştir. Sinamik asit türevi olan curcumin ile yapılan çalışmalarda bu maddenin antimikrobiyal, antikarsinogenik, antimetastatik, anjiogenezisi düzenleyici birçok özelliği ispatlanmış olup doz aşımında toksik özelliği gösterilmemiştir. İnsanlar üzerindeki farmakokinetiği hakkında çok detaylı bilgiler bulunmamakla birlikte sıgla yağı; sinamik asit ile antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülmektedir (Duru *et al.* 2002, Tunalı *et al.* 2002).

Sıgla yağının çıkartılması;

- 1) Sıgla ağacından yağ çıkarılması ağaçta yara açılmasıyla olur. Bu amaçla önce ağaçlarda yara açılacak kısımlar üzerindeki kabuk mart ayı sonuna doğru yontularak inceltir.
- 2) Ağaçlar bir ay süreyle bu şekilde bırakılır. Mayıs ayı sonunda kaşık adı verilen aletle yaraların açılmasına başlanır. Damar adı verilen bu yaralar dış kabuk, diri kabuk, kambiyum ve çok az miktarda da diri oduna girecek şekilde açılır.
- 3) Bir hafta sonra yaralar tazelenir ve bu işleme sur adı verilir. Bu işlemde iki hafta sonra, damarlar içinde biriken yağ kaşıkta sıyrılarak alınır ve buna da sur arkası denir. Bundan sonra esas sıgla yağının alınması işlemine geçilir.
- 4) Bu işlem temmuz ayı ortasından ekim ayı sonuna kadar sürer. Bu süre içinde, her on beş günde bir yaralar üzerinde biriken yağ, kabuk ve odun tabakalarıyla birlikte kaşıkla yontularak alınır.
- 5) Bunlar işçilerin önlerine astıkları torbalar içerisinde toplanır. Bu işleme sefer adı verilir. Kapçık adı verilen yağ ile birlikte kabuk ve odun içeren yongalar bakır kaplarda, su içerisinde yarım – bir buçuk saat süreyle kaynatılır.
- 6) Sonra kaynatılan yongalar saplı yabalarla kazınılarak keçi kılından yapılmış torbalara konur. Bu torbalar preslerle sıkıştırılarak sıgla yağı çıkartılır.
- 7) Çıkan yağ beton havuzlarda toplanır. Presleme sonunda torbalar içinde kalan ve yağ bulaşmış haldeki artık (küspe) da kurutulur. Bu artıklara günlük veya buhur adı verilir (Özcan *et al.* 2005, Efe 1986, Top *et al.* 2007).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Deney hayvanları ve metot

Araştırmaya başlamadan önce Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak, 14.06.2012 tarih B.30. 2.AKÜ.0.A2.00.00/175 sayılı etik kurulu onayı alınmıştır.

Ratlar, AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde bir hafta standart rat yemi ve su verilerek 12 saatlik gece ve gündüz ayarlı aydınlatma altında, ısıtma ve havalandırma laboratuvar yöntemlerine ve hayvanların ihtiyaçlarına göre ayarlanıp gözlem altında tutulmuştur. Deneysel çalışma 5 gruptan oluşmuştur. Deney sırasında olası kayıplar da göz önüne alınarak her grup için 10'ar adet olmak üzere toplam 50 adet rat kullanılmıştır. Çalışma Sprague-Dawley cinsi 3-4 aylık erkek sıçanlarda yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 50 adet Sprague-Dawley cinsi ratlar, Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir. Ratların altlarına serilen kaba talaş her gün değiştirilerek, kafeslerde kuru bir ortam oluşması sağlanmıştır. Ratların vücut ağırlıkları başlangıçta ve haftada bir ölçülmüştür. Ratların buldukları ortama uyum sağlamaları ile deneysel aşamaya geçilmiştir

Çalışmada kullanılacak olan sığla yağı ticari olarak Fethiye'deki üreticisinden elde edilmiştir.

Çalışma grupları aşağıdaki gibi belirlendi.

1. Grup (Kontrol grubu: 10 rat): Ratlar standart yemle beslenmiştir.

2. Grup (CCl₄: 10 rat): Ratlar standart yemle beslenerek, ratlara her gün (30 gün) zeytinyağında çözdürülmüş (1/2) 0,8 mL/kg CCl₄ intraperitoneal olarak (Handa and Sharma 1990) verilmiştir.

3. Grup (CCl₄ ve 50 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi: 10 rat): Ratlar standart yemle beslenerek, ratlara her gün (30 gün) zeytinyağında çözdürülmüş 0,8 mL/kg CCl₄ intraperitoneal ve 50 mg/kg *Liquidambar orientalis* gavaj yöntemiyle intragastrik olarak verilmiştir.

4. Grup (CCl₄ ve 100 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi: 10 rat): Ratlar standart yemle beslenerek, ratlara her gün (30 gün) zeytinyağında çözdürülmüş 0,8 mL/kg CCl₄ intraperitoneal ve 100 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi gavaj yöntemiyle intragastrik olarak verilmiştir.

5. Grup (CCl₄ ve 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi: 10 rat): Ratlar standart yemle beslenerek, ratlara her gün (30 gün) zeytinyağında çözdürülmüş 0,8 mL/kg CCl₄ intraperitoneal ve 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi gavaj yöntemiyle intragastrik olarak verilmiştir.

30. günün sonunda bir gece öncesinden aç bırakılmış ratlardan 50 mg/kg ketamin, 6 mg/kg xylazine anestezisi altında kalpten kan örnekleri alınarak ALT, AST, hemoglobin düzeyleri, total protein, oksidan (MDA, NO), antioksidan (GSH, GP_x, CAT) spektroskopik yöntemlerle ve/veya ticari kitlerle yapılmıştır.

Deneysel için gerekli olan kan, enjektör yardımıyla hayvanların kalbinden alınıp EDTA'lı cam tüplerde saklandı. Bir saat +4 °C de bekletildikten sonra 3000 rpm'de +4 °C de soğutmalı santrifujde 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma ayrıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler +4 °C de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Glutasyon peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayinine kadar derin dondurucuda (-80 °C) saklandı. Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) ve redükte glutasyon (GSH) seviyeleri tayinleri hemen gerçekleştirilmiştir. AST ve ALT tayinleri ise plazma üzerinde gerçekleştirildi.

Sakrifiye edilen ratlardan karaciğer, böbrek ve beyin dokuları çıkartıldı. Dokular, +4 °C'de % 0,9'luk NaCl ile yıkandıktan sonra biyokimyasal inceleme için analize kadar -80 °C'de saklandı.

Çıkartılan tüm doku örnekleri homojenize edilmeden önce tartıldı ve falkon tüplerine etiketlenerek konuldu. 120 mM KCl içeren 50mM fosfat tamponu pH: 7.4 olacak şekilde hazırlandı. Karaciğer örnekleri 10 mL, beyin örnekleri 4 mL ve böbrek örnekleri

2 ml fosfat tampon içinde sonikatörde homojenize edildi. Daha sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifüjlendi. Süpernatant, deneylerde kullanılmak üzere -20°C’de saklandı (İlhan ve Seçkin 2005, Padma 2009).

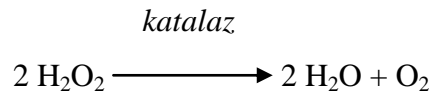
3.2. Biyokimyasal analizler

3.2.1 Malondialdehit (MDA) tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri MDA’dır. MDA, tiobarbitürik asit ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarındaki spektrofotometrik ölçümüne göre lipit peroksidasyonu tayini yapıldı (Jain *et al.* 1989).

3.2.2 Katalaz (CAT) aktivitesi ölçümü

Katalaz enzim aktivite tayini Aebi yöntemine göre yapıldı. Numunede mevcut katalaz enzimi substrattaki H₂O₂’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 ve doku homojenatları kullanılmıştır. Absorbans azalması numunede mevcut enzim miktarıyla doğru orantılıdır. Absorbans değerleri 0. sn ve 15. sn okunarak katalaz miktarı tayin edilmiştir (Aebi 1984).

3.2.3 Glutasyon (GSH) ölçümü

Tüm kandan distile su ilavesi ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülfidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile çöktürülüp, süzülerek ayrıldı. GSH, elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5,5’-2-dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucu oluşan sarı rengin 412 nm dalga boyunda absorbansı ile ölçüldü (Buetler *et al.* 1963).

3.2.4 Glutasyon Peroksiaz (GSH-Px) enzimi ölçümü

Glutasyon peroksiaz (GSH-Px) enzimi ölçümü ratlara spesifik Elisa kiti (Cayman,8543) ile yapıldı. GPx, hidrojen peroksit tarafından redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini kataliz eder. Hidrojen peroksit t-butil hidroperoksitin ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'ye indirgenir. GPx aktivitesi, NADPH'in NADP⁺'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de okunmasıyla ölçülür.

3.2.5 Total protein ölçümü

Proteaz inhibitör kokteyli kullanılarak homojenize edilen doku homojenatları siteril distile su ile iki kat dilüe edildikten sonra total protein analizleri yapılmak üzere kullanılmıştır. ELISA plağı kuyucuklarına 6 µl sulandırılmış doku homojenatı üzerine 100 µl Coomassie Brilliant Blue reaktifi (Fluka, 51254) eklendikten sonra 630 nm dalga boyunda Trinity Biotech ELISA Reader cihazı kullanılarak total protein analizleri spektrofotometrik ölçüm ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler iki kat sulandırma katsayısı oranınca düzeltmeye tabi tutulmuştur.

3.2.6 Aspartat Aminotransferaz (AST)- Alanin Aminotransferaz (ALT) ölçümü

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 dayanır. Serumda ALT enzimi, reaksiyon sonunda meydana gelen piruvatın, NADH varlığında laktata dönüşmesi esnasında, NADH'ın NAD⁺'ye okside olması ile absorbansta meydana gelen azalmanın ölçümüne dayanır. Ast-Alt ölçümleri Afyon Kocatepe Üniversitesi biyokimya laboratuvarında ölçüldü.

3.2.7 Hemoglobin düzeyinin ölçülmesi

Hemoglobin molekülündeki +2 değerlikli demir drabkin çözeltisindeki ferrosiyandır ile +3 değerliğe yükseltgenerek methemoglobine daha sonra potasyum siyanür ile kararlı bir bileşik olan siyanmethemoglobine dönüşür. Siyanmethemoglobinin 540 nm dalga boyunda verdiği transmitans değeri ölçülerek hemoglobin (Hb) miktarı belirlenir.

Belirlenen hem düzeyleri eritrosit paketlerinde analizi edilen parametrelerin düzeylerinin hesaplanmasında kullanıldı (Fairbank and Klee 1987).

3.2.8 Nitrik Oksit (NO) ölçümü

Nitrik oksit sentezlendiği andan itibaren hızla nitrit ve nitrate dönüşmektedir. Bu nedenle NO miktarını tesbit edebilmek için nitrit ve nitrat düzeylerinin ölçülmesi gereklidir. Nitrat doğrudan ölçülemediği için nitrite dönüştürülerek dolaylı yoldan düzeyi tesbit edilir.

Nitrik oksit ölçümünde, Miranda vd. (2001) kullandığı yöntem uygulandı. Yöntem vanadyum (III) klorür ve Griess reaksiyonu ile nitratın indirgenmesi esasına dayanır. Nitrik oksit ölçümü 540 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü.

3.2.9 Histopatolojik inceleme

Nekropside her gruptan rastgele seçilen 6 adet ratın sol lateral karaciğer lobundan 4-5 mm kalınlığında örnekler alındı. Örnekler tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibi işlemlerinden sonra 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-eozin ile boyandı. Tüm preparatlar ışık mikroskobunda (Nikon Eclipse Ci) incelendi ve fotoğraflandı (Kameram 590CU).

3.2.10 İstatistiksel analiz

Elde edilen bulguların istatistik hesaplamaları, SPSS 18.0 paket programı kullanılarak yapılmış, çalışmada elde edilen veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edilmiştir ($X \pm SD$). Gruplara öncelikli olarak normalite testi uygulanmış, tüm verilerin normal dağılımlı oldukları tespit edilmiştir. Bu bağlamda normal dağılımlı oldukları anlaşılan verilere parametrik testlerden varyans analizi (ANOVA) ve DUNCAN testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlenmiştir. İstatistikî anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma sonunda ratlardan alınan kan örneklerinde alanin transaminaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), hemoglobin (Hb), nitrik oksit (NO) düzeyleri belirlendi. Ratlardan alınan karaciğer, böbrek ve beyin doku örneklerinde malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), Total protein (Tp), nitrik oksit (NO) düzeyleri hesaplandı.

Ratların her hafta ağırlıkları tartılarak not edildi. Elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamaları yapılarak değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmeler ve bunlara ait tablo ve grafikler aşağıda verilmiştir.

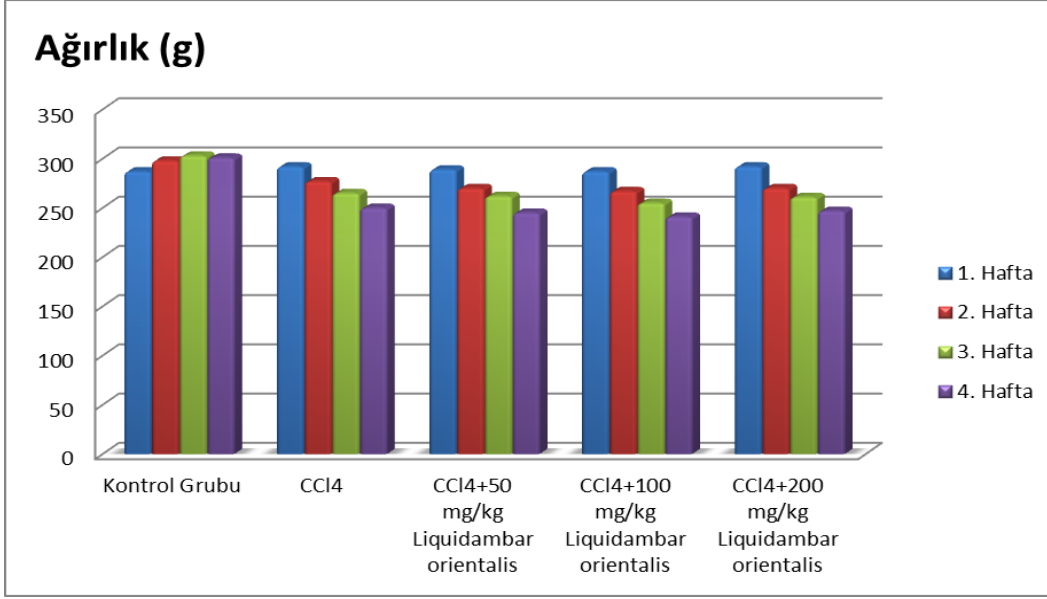
4.1 Rat ağırlıkları

Gruplara ait rat ağırlıkları Tablo 10 ve Şekil 24’de verilmiştir. Haftalar arası rat ağırlık ortalamaları incelendiğinde 1. haftadan sonra CCl₄ verilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamda önemli fark görülmüştür. CCl₄ + *Liquidambar orientalis* verilen gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamda bir fark görülmemiştir.

Tablo 10 Haftalara göre ratların ağırlık değişimleri

Gruplar	n	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta
1.Kontrol	10	287 ± 15	298 ± 17 ^a	303 ± 14 ^a	301 ± 10 ^a
2.CCl ₄	10	292 ± 21	277 ± 21 ^b	265 ± 19 ^b	250 ± 18 ^b
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	289 ± 19	270 ± 18 ^b	262 ± 18 ^b	245 ± 18 ^b
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	287 ± 21	267 ± 22 ^b	255 ± 22 ^b	241 ± 26 ^b
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	292 ± 14	270 ± 15 ^b	261 ± 15 ^b	247 ± 13 ^b

^{a, b}: Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



Şekil 24 Haftalara göre ratların ağırlık değişimleri

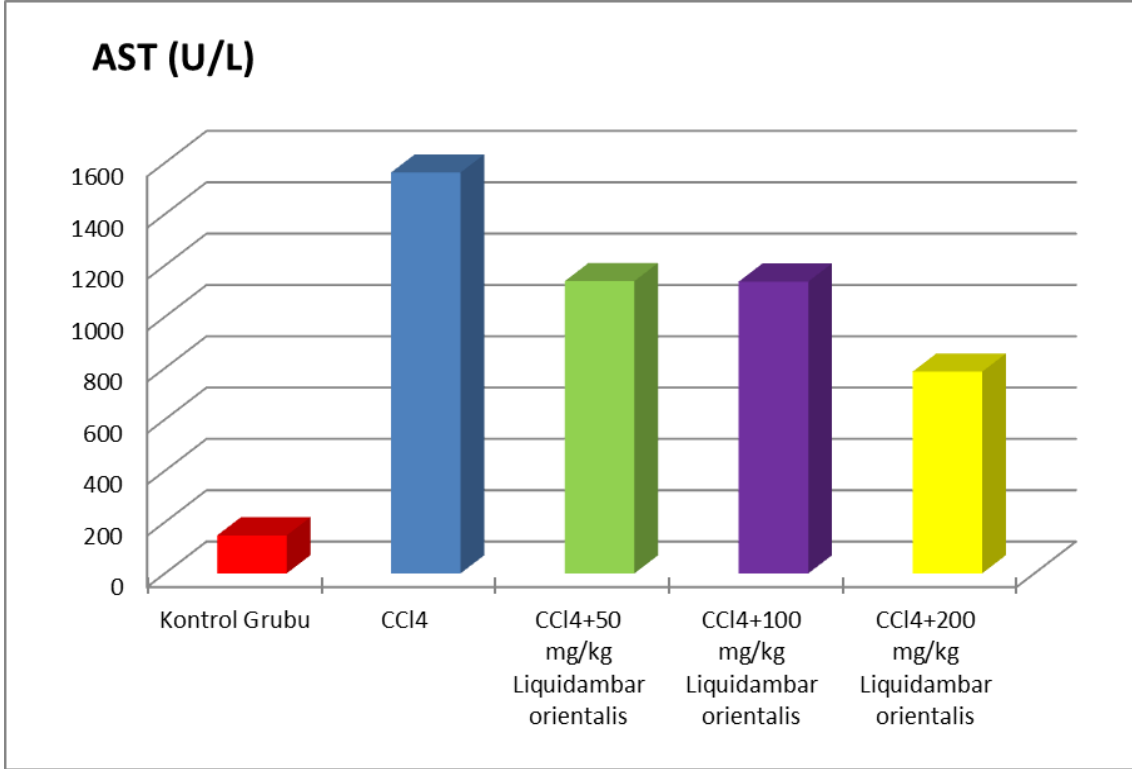
4.2 AST-ALT enzim düzeyleri

CCl₄ verilen grupta AST ve ALT enzim aktivite düzeyleri kontrol grubuna göre istatistikî olarak önemli oranda yüksek bulunmuştur. Tedavi gruplarında (3. grup, 4. grup, 5. grup), hem kontrol hem de CCl₄ grubuna göre önemli düzeyde bir farklılık bulunmuştur. 5. Grupta, 3. ve 4. gruplara göre CCl₄ grubundan daha fazla istatistikî olarak bir fark gözlenmiştir.

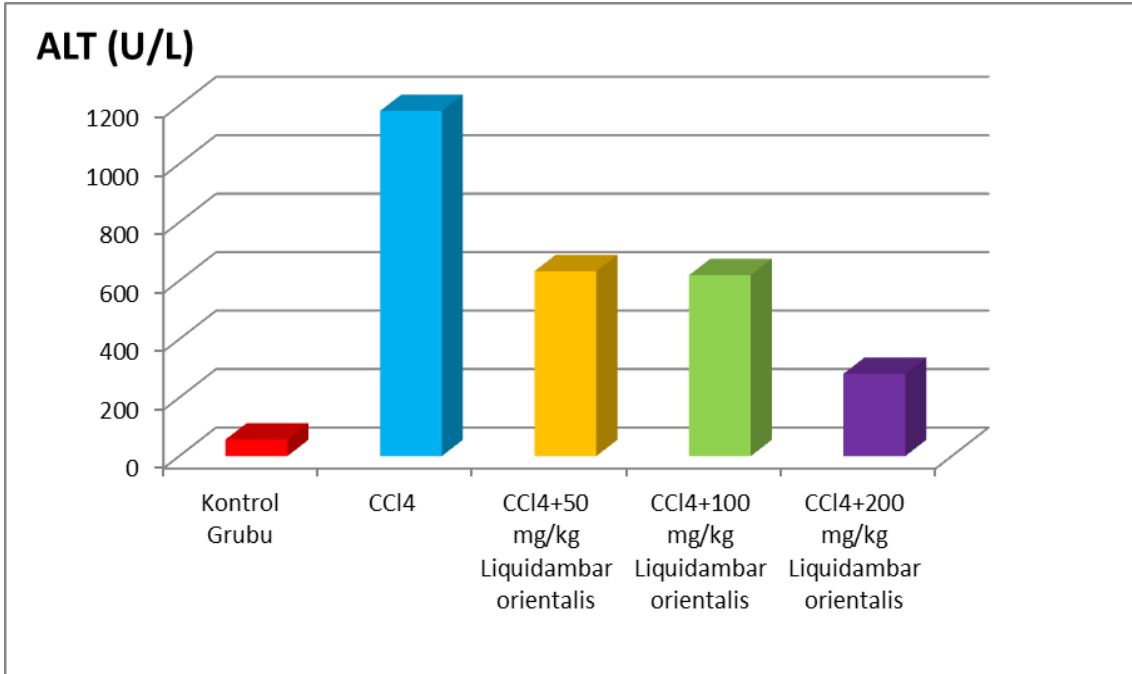
Tablo 11 AST ve ALT enzim düzeyleri

Gruplar	n	AST (U/L)	ALT (U/L)
1.Kontrol	10	148 ± 3.5 ^a	57 ± 6.9 ^a
2.CCl ₄	10	1562 ± 7.5 ^d	1181 ± 16.5 ^d
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	1139 ± 3.5 ^c	633 ± 1.7 ^c
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	1137 ± 2.7 ^c	619 ± 6.3 ^c
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	786 ± 5.3 ^b	283 ± 6.4 ^b

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



Şekil 25 AST Enzim Düzeyleri



Şekil 26 ALT Enzim Düzeyleri

4.3 MDA düzeyleri

Kanda, kontrol ile CCl₄ grubunun MDA düzeylerinde istatistikî açıdan bir fark olduğu görülmüştür (Şekil 27). CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistikî açıdan bir fark görülmemiştir. 5. grup ile CCl₄ grubu arasında istatistikî olarak bir fark görülmüştür. 5. grupta istatistikî olarak kontrol grubuna yakınlık gözlenmiştir (Tablo 12).

Beyinde, kontrol ile CCl₄ grubunun MDA düzeylerinde istatistikî açıdan önemli bir fark olduğu saptanmıştır (Şekil 28). CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasındaki (3., 4. ve 5. gruplar) istatistikî fark anlamlı bulunmuştur. 5. Grupta istatistikî açıdan kontrol grubuna yakınlık gözlenmiştir (Tablo 12).

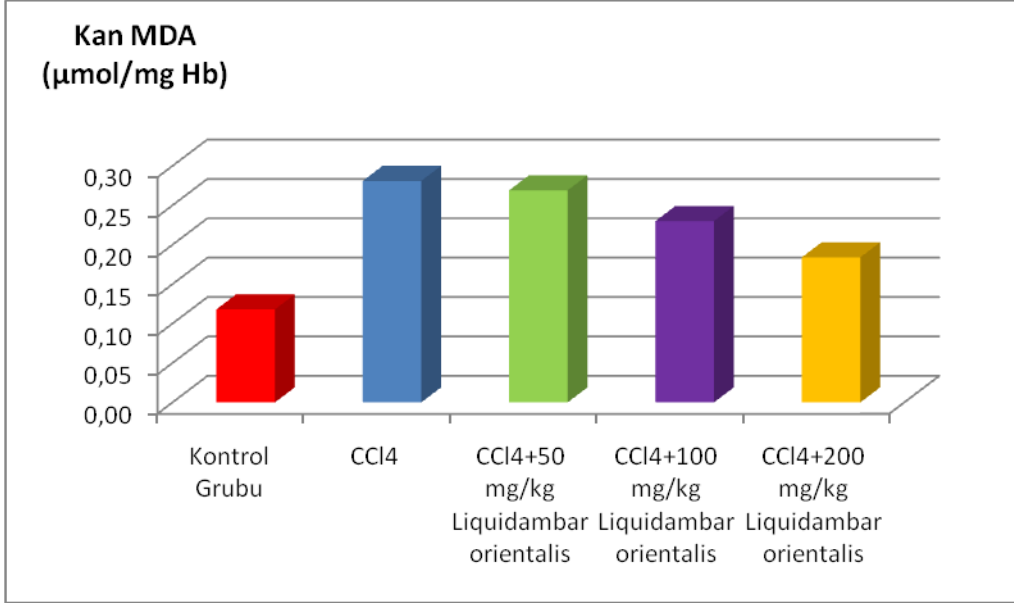
Karaciğerde, kontrol ile CCl₄ grubunun MDA düzeylerinde istatistikî açıdan önemli bir fark olduğu görülmüştür (Şekil 29). CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasında (3., 4. ve 5. gruplar) istatistikî olarak bir fark görülmüştür. 3.grup ile 4. grup arasında, 4. ve 5. gruplar arasındaki fark istatistikî olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 12).

Böbrekte, kontrol ile CCl₄ grubunun MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmüştür (Şekil 30). CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasında (3., 4. ve 5. gruplar) istatistikî olarak bir fark bulunmuşken, 4. ve 5. gruplar arasında istatistikî açıdan bir fark bulunamamıştır. 3. ve 4. gruplar arasında istatistikî olarak bir fark görülmüştür.

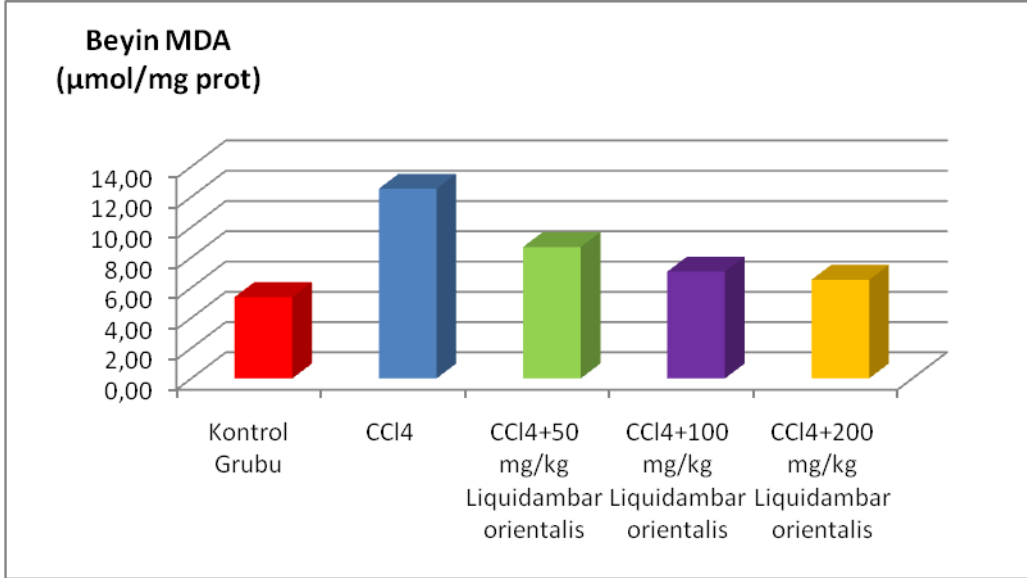
Tablo 12 Kan ve dokulardaki MDA düzeyleri

Gruplar	n	Kan ($\mu\text{mol/mg Hb}$)	Karaciğer ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Beyin ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Böbrek ($\mu\text{mol/mg prot}$)
1.Kontrol	10	0.118 \pm 0.05 ^a	3.40 \pm 0.36 ^a	5.38 \pm 0.81 ^a	6.44 \pm 0.9 ^a
2.CCl ₄	10	0.281 \pm 0.72 ^c	6.62 \pm 0.78 ^d	12.54 \pm 1.98 ^d	11.46 \pm 1.44 ^d
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.269 \pm 0.11 ^c	5.02 \pm 0.80 ^c	8.69 \pm 1.89 ^c	8.95 \pm 0.77 ^c
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.229 \pm 0.07 ^{b,c}	4.61 \pm 0.41 ^{b,c}	7.06 \pm 1.59 ^b	8.09 \pm 0.58 ^b
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.184 \pm 0.06 ^{a,b}	4.22 \pm 0.66 ^b	6.52 \pm 0.93 ^{a,b}	7.35 \pm 0.66 ^b

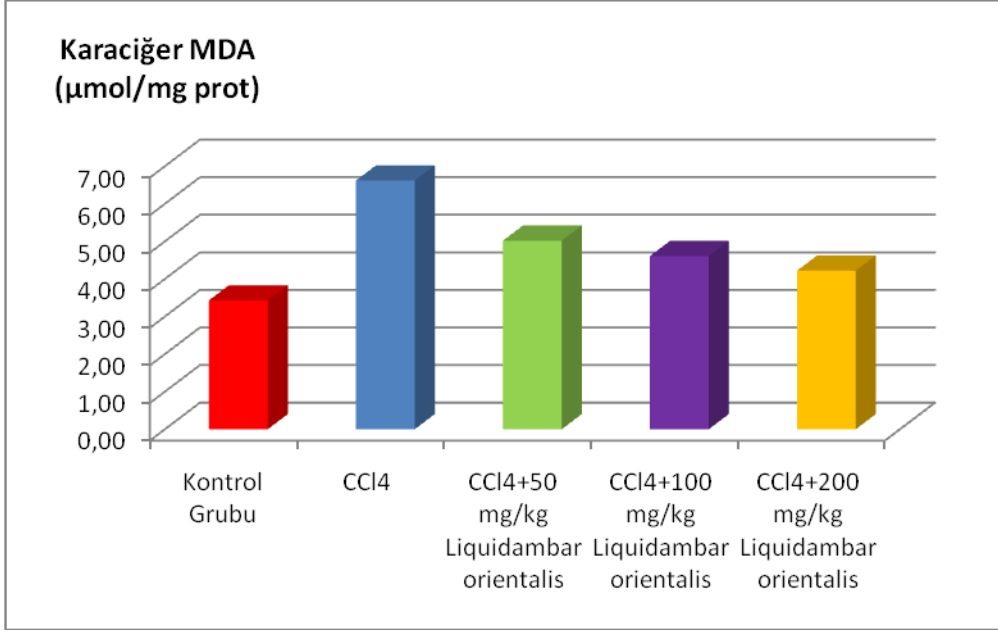
^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı üslü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. (p<0.05).



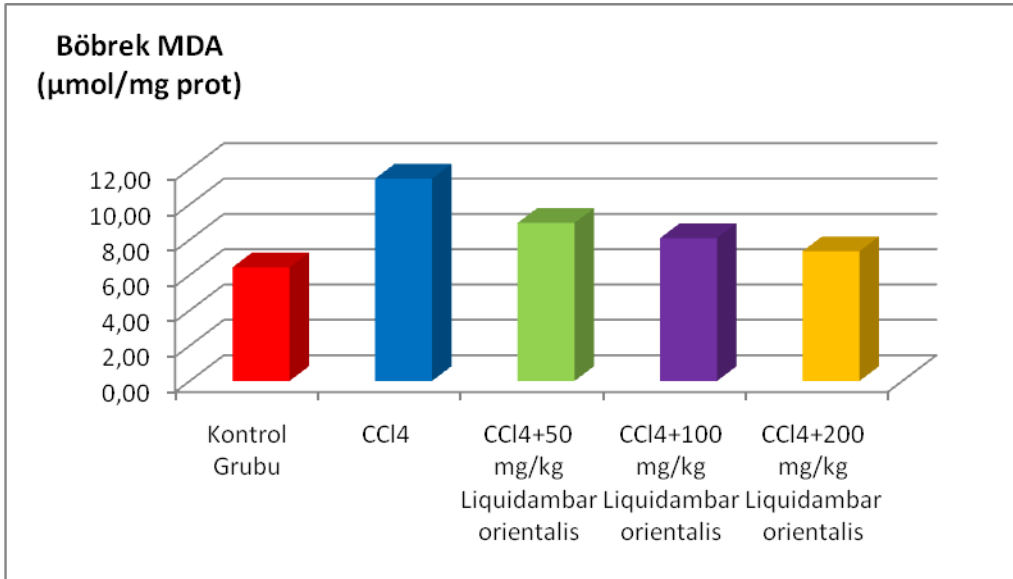
Şekil 27 Kan MDA düzeyleri



Şekil 28 Beyin MDA düzeyleri



Şekil 29 Karaciğer MDA düzeyleri



Şekil 30 Böbrek MDA düzeyleri

Özetle, CCl_4 toksikasyonu oluşturulan ratlarda sıgla yağının bütün dozlarının karaciğer, beyin ve böbrek dokusunda MDA düzeylerini önemli oranda ($P < 0.05$) düşürdüğü, kanda ise sadece 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* dozunun istatistikî olarak MDA düzeylerini azalttığı belirlendi.

4.4 GSH düzeyleri

Kanda, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 31, Tablo13). 3 ve 4. gruplar ile 4 ve 5. gruplar arasında istatistiki açıdan bir fark görülmemiştir. CCl₄ ile tedavi grupları arasında istatistiki olarak anlamlılık görülmüştür. Kontrol grubu ile 5. grup arasında istatistiki bir fark görülmemiştir.

Karaciğerde, kontrol grubunun GSH düzeyi, CCl₄ grubunun GSH düzeyinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur (Şekil 32, Tablo13). 3, 4 ve 5. gruplar arasında istatistiki bakımdan bir anlamlılık gözlenmemiştir. CCl₄ ile tedavi grupları (3, 4 ve 5. gruplar) arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

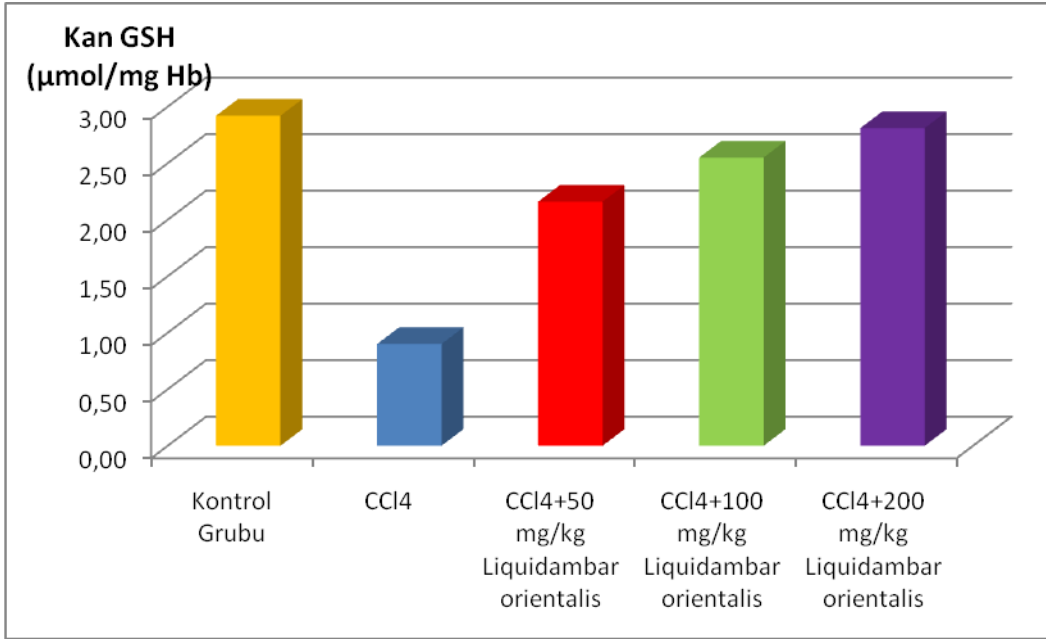
Beyinde, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki bakımdan farklı bulunmuştur. 3 ve 4. gruplar ile 4 ve 5. gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 33, Tablo13). CCl₄ ile tedavi grupları (3, 4 ve 5. gruplar) arasında istatistiki bakımdan bir farklılık görülmüştür. Kontrol grubu ile 4 ve 5. gruplar arası istatistiki olarak anlamlı değildir.

Böbrekte, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. CCl₄ ile 4. grup arasında istatistiki bir fark varken, CCl₄ ile 3 ve 5. gruplar arasında istatistiki bir fark görülmemiştir (Şekil 34, Tablo13).

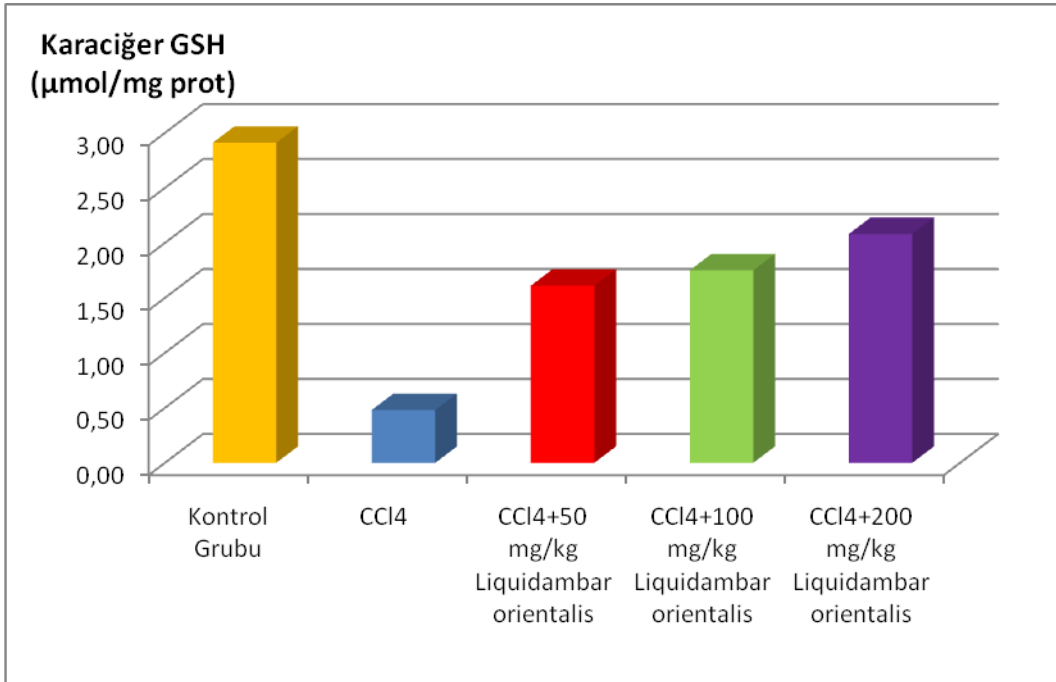
Tablo 13 Kan ve dokulardaki GSH düzeyleri

Gruplar	n	Kan ($\mu\text{mol/mg Hb}$)	Karaciğer ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Beyin ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Böbrek ($\mu\text{mol/mg prot}$)
1.Kontrol	10	2.92 \pm 0.35 ^c	2.91 \pm 0.61 ^c	11.23 \pm 1.39 ^c	9.99 \pm 1.67 ^c
2.CCl ₄	10	0.90 \pm 0.19 ^a	0.48 \pm 0.21 ^a	5.75 \pm 1.58 ^a	3.21 \pm 1.23 ^a
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	2.16 \pm 0.43 ^b	1.61 \pm 0.37 ^b	8.78 \pm 2.95 ^b	3.71 \pm 1.16 ^a
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	2.55 \pm 0.41 ^{b,c}	1.75 \pm 0.73 ^b	9.73 \pm 3.08 ^{b,c}	6.06 \pm 1.14 ^b
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	2.81 \pm 0.89 ^c	2.08 \pm 0.56 ^b	11.82 \pm 1.39 ^c	3.36 \pm 1.14 ^a

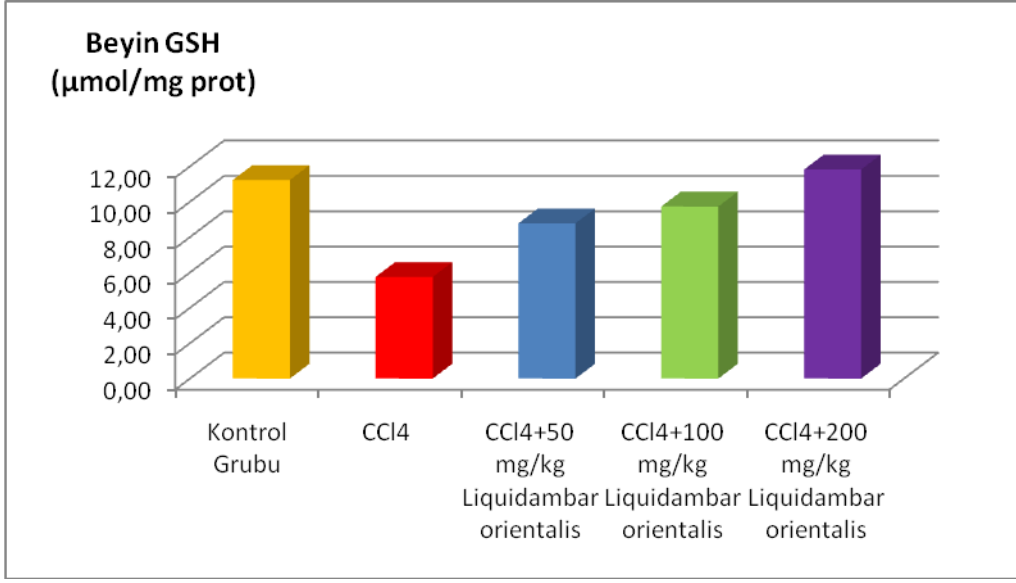
^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



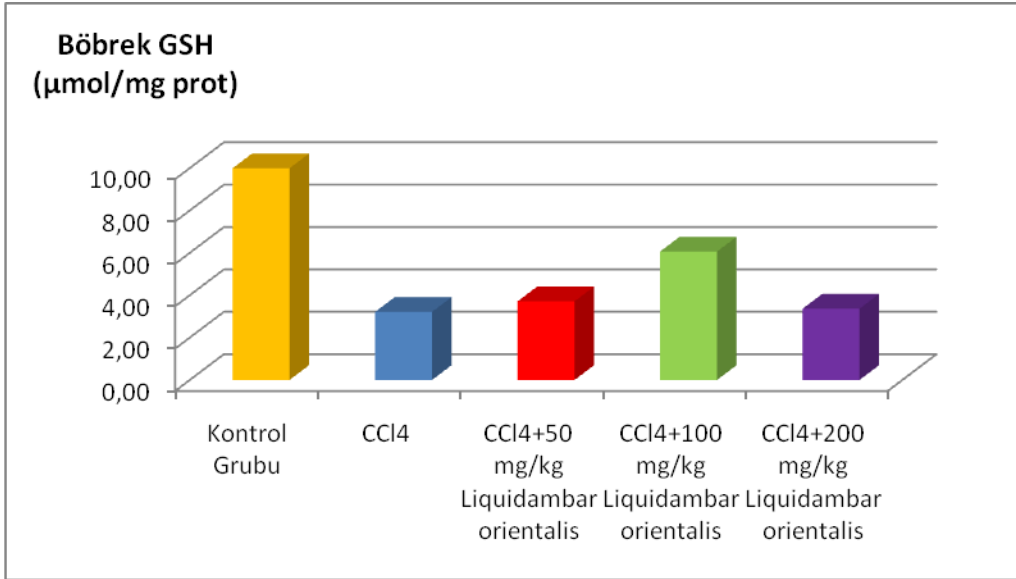
Şekil 31 Kan GSH düzeyleri



Şekil 32 Karaciğer GSH düzeyleri



Şekil 33 Beyin GSH düzeyleri



Şekil 34 Böbrek GSH düzeyleri

Özetle, CCl₄ toksikasyonu oluşturulan ratlarda sığla yağının karaciğer, böbrek ve beyin dokusunda, CCl₄ tarafından azaltılan GSH düzeylerini normale yaklaştırdığı veya azalmayı önlediği, kanda ise özellikle artan dozla birlikte GSH düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bütün dokularda sığla yağı GSH düzeylerini olumlu etkilerken, böbrekte yüksek dozda sığla yağı GSH düzeyini etkilememiştir.

4.5 CAT Düzeyleri

Kanda, CCl₄ grubundaki CAT düzeyi ile kontrol grubunun CAT düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 35, Tablo14). CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında herhangi istatistiki bir fark görülmezken, CCl₄ grubu ile 5.grup arasında istatistiki açıdan bir fark görülmüştür. Tedavi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiki yönden bir fark görülmüştür.

Karaciğerde, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki bakımdan farklı bulunmuştur (Şekil 36, Tablo14). CCl₄ ile tedavi grupları (3, 4. gruplar) arasında istatistiki bakımdan bir farklılık görülmemiştir. 4.grup kontrol grubuna yakınlık göstermiştir. 5.grupta istatistiki bir fark oluşmuştur.

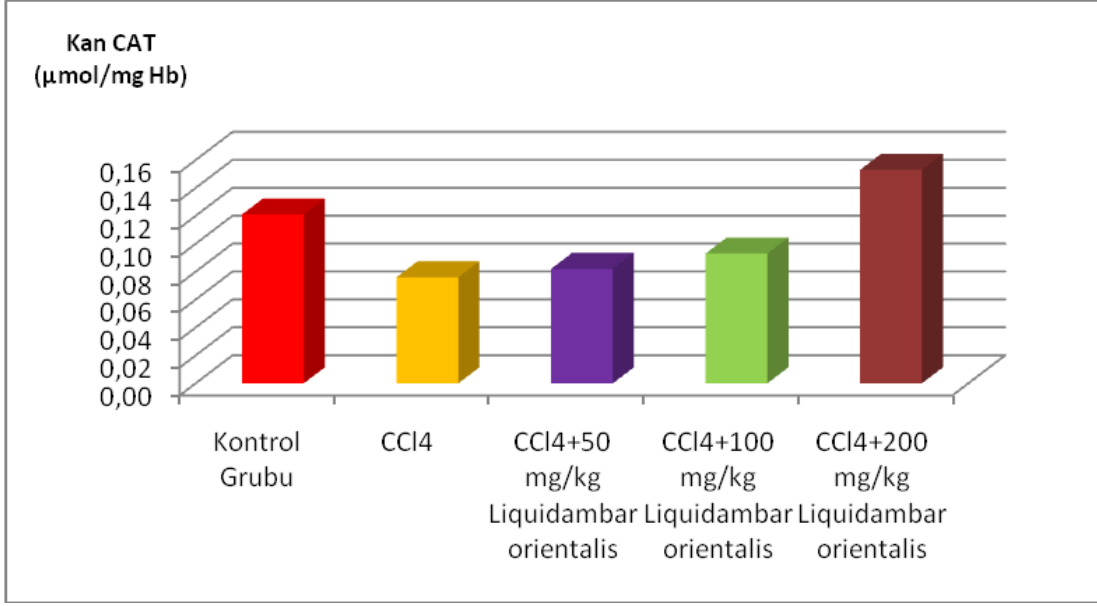
Beyinde, CCl₄ grubundaki CAT düzeyi ile kontrol grubunun CAT düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 37, Tablo 14). CCl₄ grubu ile 3.grup arasında istatistiki bir fark oluşmamıştır. Tedavi grupları (3, 4 ve 5. gruplar) ile kontrol grubu arasında istatistiki yönden bir farklılık görülmemiştir.

Böbrekte, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki bakımdan farklı bulunmuştur. CCl₄ grubu ile 3 ve 4. grupları arasında istatistiksel bakımdan bir farklılık görülmezken, CCl₄ grubu ile 5.grup arasında istatistiki bakımdan bir farklılık görülmüştür. 5. grup ile kontrol grubu arasında istatistiki bir fark oluşmamıştır (Şekil 38, Tablo14).

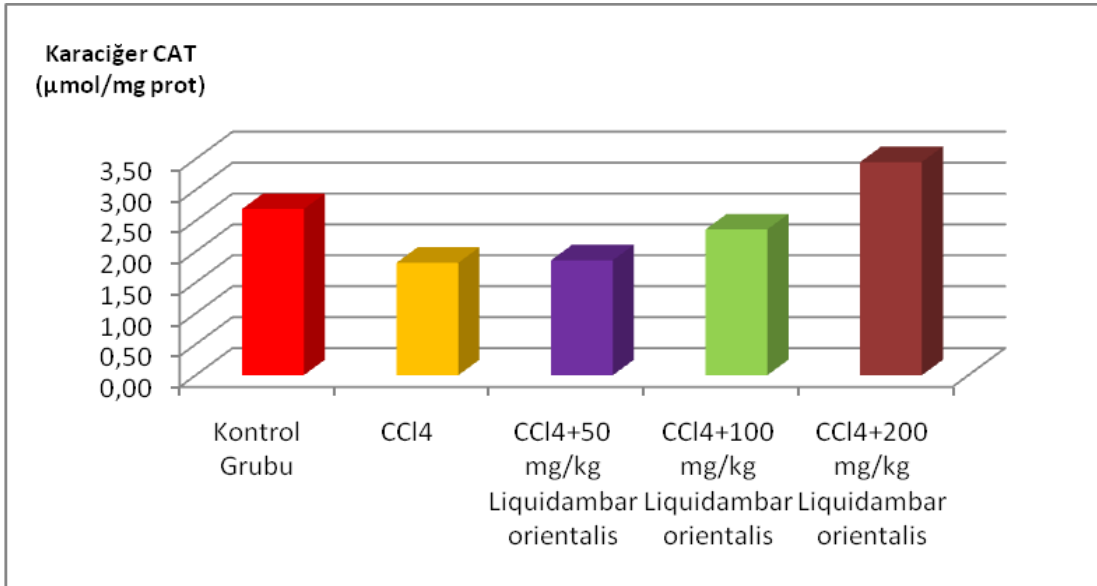
Tablo 14 Kan ve dokulardaki CAT düzeyleri

Gruplar	n	Kan ($\mu\text{mol}/\text{mg Hb}$)	Karaciğer ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)	Beyin ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)	Böbrek ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)
1.Kontrol	10	0.121 \pm 0.019 ^b	2.69 \pm 0.73 ^b	1.78 \pm 0.52 ^b	1.99 \pm 1.33 ^b
2.CCl ₄	10	0.076 \pm 0,036 ^a	1.82 \pm 0.32 ^a	1.28 \pm 0.51 ^a	0.75 \pm 0.16 ^a
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.082 \pm 0.034 ^a	1.86 \pm 0.66 ^a	1.50 \pm 0.46 ^{a,b}	1.0 \pm 0.43 ^a
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.093 \pm 0.029 ^a	2.36 \pm 0.44 ^{a,b}	1.79 \pm 0.65 ^b	1.33 \pm 0.47 ^{a,b}
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.153 \pm 0.034 ^c	3.45 \pm 0.69 ^c	1.93 \pm 0.37 ^b	1.86 \pm 0.68 ^b

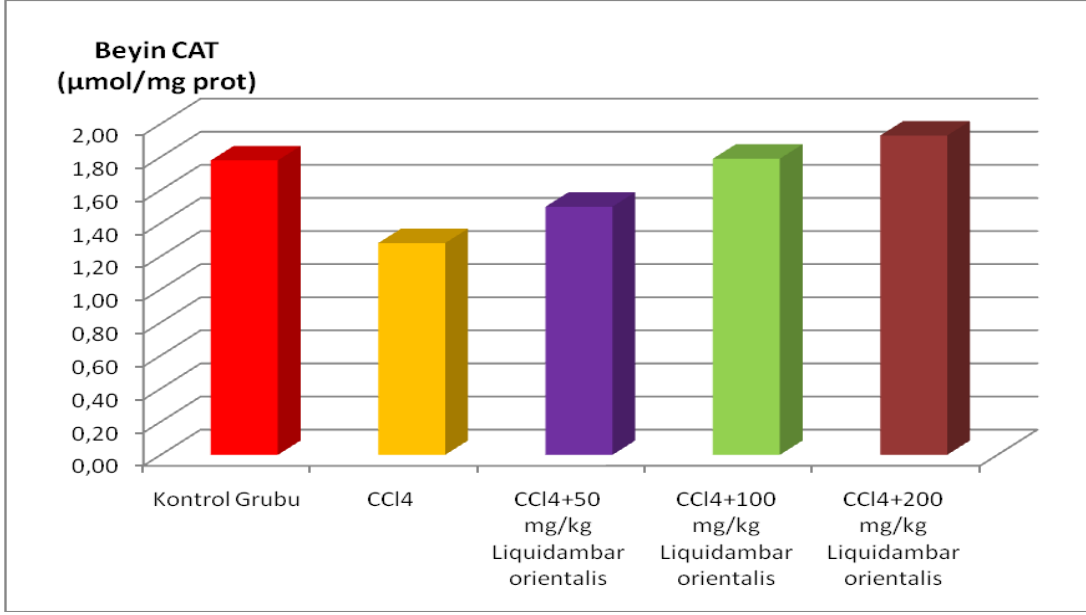
^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



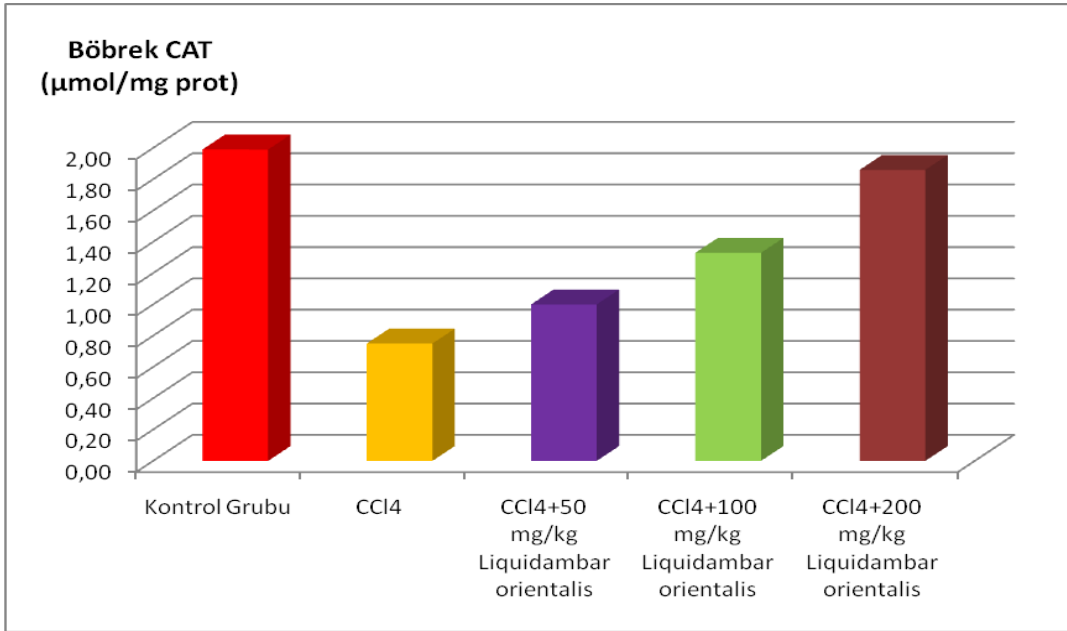
Şekil 35 Kan CAT düzeyleri



Şekil 36 Karaciğer CAT düzeyleri



Şekil 37 Beyin CAT düzeyleri



Şekil 38 Böbrek CAT düzeyleri

Özetle, CCl₄ toksikasyonu oluşturulan ratların tüm dokularında yüksek dozdaki sığla yağı (200 mg/kg) CAT seviyelerini istatistiki olarak artırmıştır.

4.6 GPx düzeyleri

Kanda, CCl₄ grubundaki GPx düzeyi ile kontrol grubunun GPx düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 39, Tablo 15). CCl₄ grubu ile 3. grup arasında istatistiki bir fark oluşmamışken, CCl₄ grubu ile 5. grup arasında önemli bir fark bulunmuştur. 5. grup ile 3 ve 4. gruplar arasında da istatistiki bir fark görülmüştür.

Karaciğerde, CCl₄ grubundaki GPx düzeyi ile kontrol grubunun GPx düzeyi arasında istatistiksel yönden bir fark bulunmuştur (Şekil 40, Tablo 15). CCl₄ ile tedavi grupları (3 ve 4. gruplar) arasında istatistiki bakımdan bir farklılık görülmemiştir. CCl₄ ile 5. Tedavi grubu arasında istatistiki bir fark oluşmuştur.

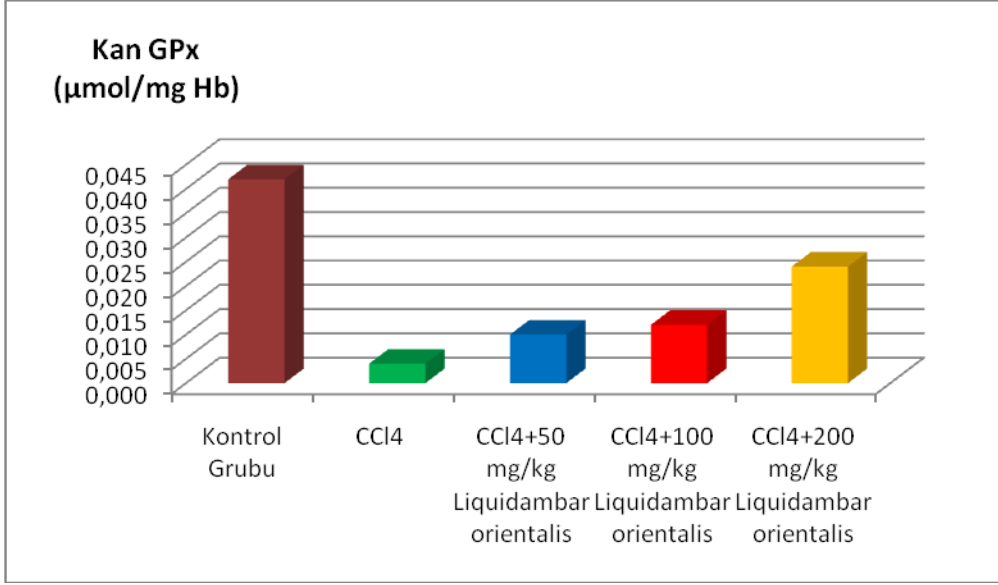
Beyinde, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki bakımdan farklı bulunmuştur (Şekil 41, Tablo 15). CCl₄ grubu ile 3. grup arasında istatistiki bir fark oluşmazken, CCl₄ grubu ile 4 ve 5. gruplar arasında istatistiki bir fark oluşmuştur. Kontrol grubu ile tedavi grupları (3, 4 ve 5. gruplar) arasında istatistiki bakımdan bir fark görülmüştür.

Böbrekte, CCl₄ ile kontrol grubu arasında bir fark görülmemiştir (Şekil 42, Tablo 15). CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiki bir fark görülmezken, CCl₄ grubu ile 5. grup arasında istatistiksel yönden bir farklılık bulunmuştur. Tedavi grupları (3, 4 ve 5. gruplar) arasında istatistiki bakımdan bir fark görülmemiştir.

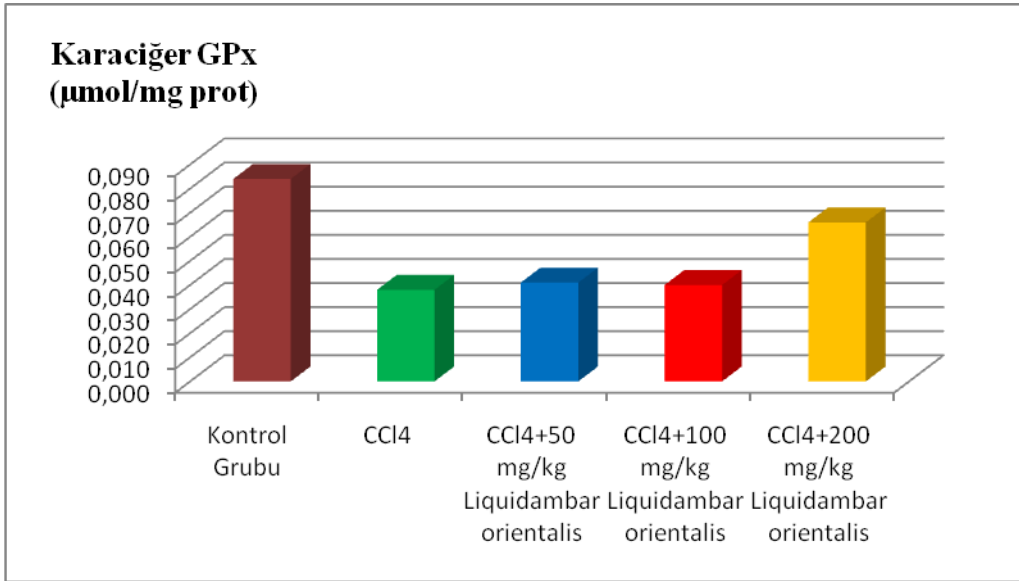
Tablo 15 Kan ve dokulardaki GPx düzeyleri

Gruplar	n	Kan ($\mu\text{mol/mg Hb}$)	Karaciğer ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Beyin ($\mu\text{mol/mg prot}$)	Böbrek ($\mu\text{mol/mg prot}$)
1.Kontrol	10	0.042 \pm 0.012 ^d	0.084 \pm 0.004 ^c	0.053 \pm 0.002 ^d	0.027 \pm 0.002 ^{a,b}
2.CCl ₄	10	0.004 \pm 0.002 ^a	0.038 \pm 0.001 ^a	0.014 \pm 0.001 ^a	0.009 \pm 0.001 ^a
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.010 \pm 0.004 ^{a,b}	0.041 \pm 0.00 ^a	0.027 \pm 0.002 ^b	0.019 \pm 0.001 ^{a,b}
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.012 \pm 0.004 ^b	0.040 \pm 0.00 ^a	0.039 \pm 0.001 ^c	0.027 \pm 0.017 ^{a,b}
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.024 \pm 0.009 ^c	0.066 \pm 0.001 ^b	0.039 \pm 0.001 ^c	0.036 \pm 0.038 ^b

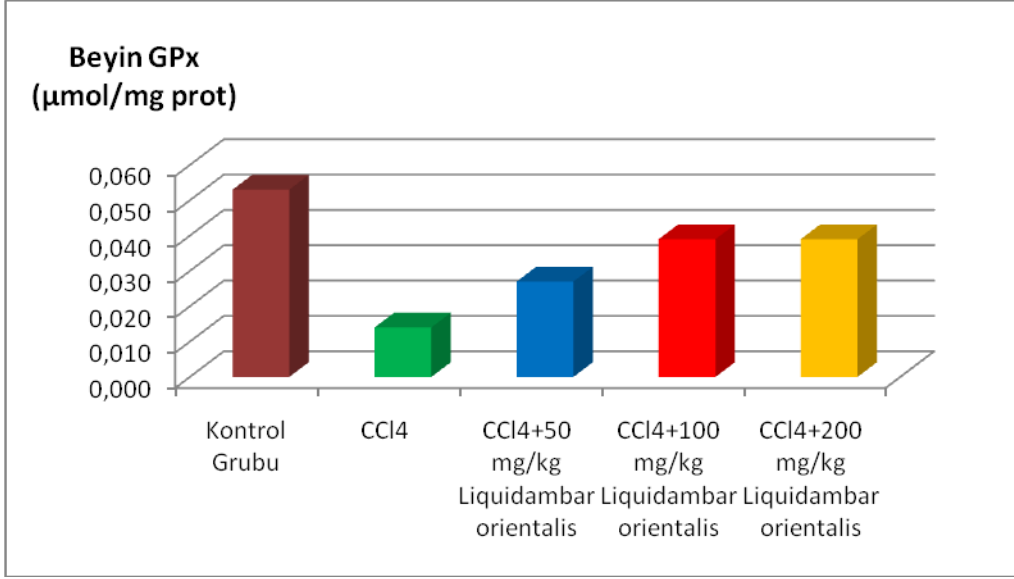
^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



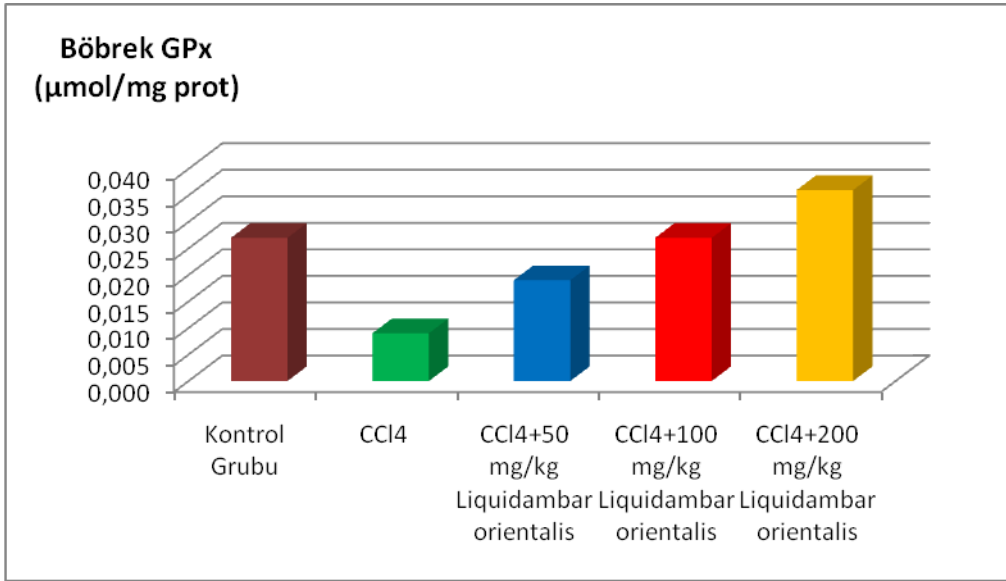
Şekil 39 Kan GPx düzeyleri



Şekil 40 Karaciğer GPx düzeyleri



Şekil 41 Beyin GPx düzeyleri



Şekil 42 Böbrek GPx düzeyleri

Kısaca, CCl_4 toksikasyonu oluşturulan ratların kan, karaciğer, beyin ve böbrek dokularında yüksek dozdaki sığla yağı (200 mg/kg) GPx seviyelerini istatistiki olarak artırmıştır.

4.7. NO düzeyleri

Kanda, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 43, Tablo 16). CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiki olarak bir fark görülmüştür. 3.grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel yönden bir farklılık yoktur. 4 ve 5. gruplar arasında istatistiki bir fark görülmemiştir.

Karaciğerde, CCl₄ grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak bir fark oluşmuştur (Şekil 44, Tablo 16). CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiksel yönden bir farklılık görülmemişken, CCl₄ grubu ile 5. grup arasında istatistiki olarak bir fark görülmüştür. Kontrol grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiki olarak bir fark görülmüştür.

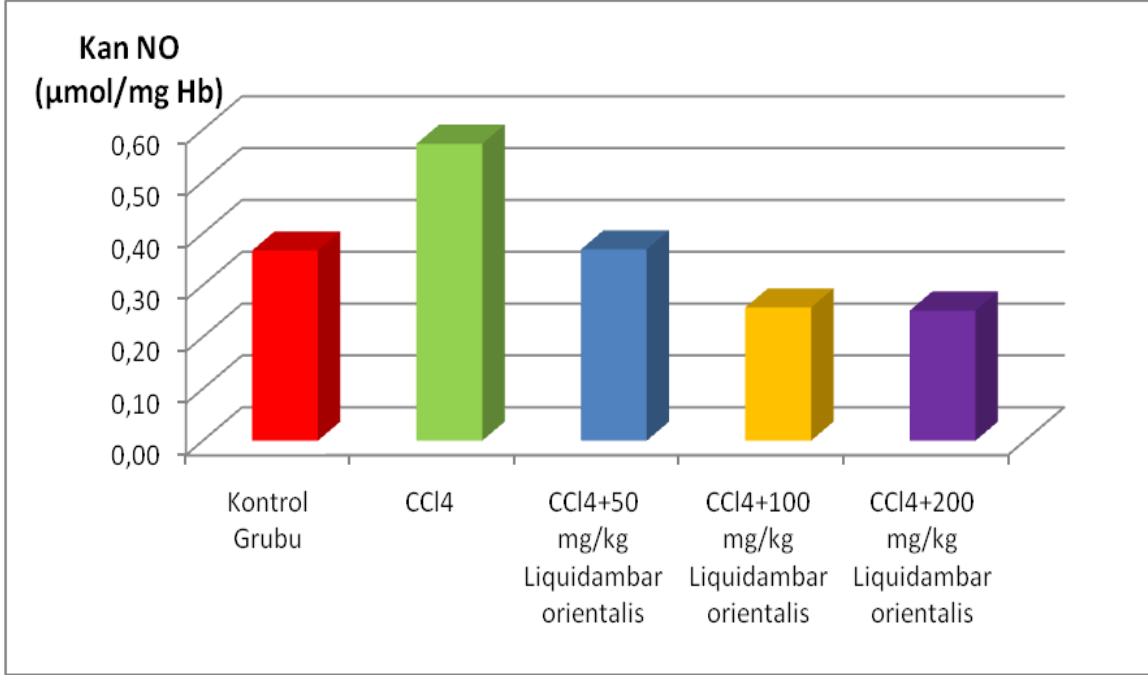
Beyinde, CCl₄ grubundaki NO düzeyi ile kontrol grubunun NO düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 45, Tablo 16). CCl₄ ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden farklılık görülmüştür. 3.grup ile 5.grup arasında istatistiksel olarak bir fark görülmezken, 3.grup ile 4.grup arasında istatistiksel olarak bir fark görülmüştür.

Böbrekte, CCl₄ grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak önemli bir fark görülmüştür. CCl₄ ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden farklılık görülmüştür. Kontrol grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden farklılık bulunmuştur (Şekil 46, Tablo 16).

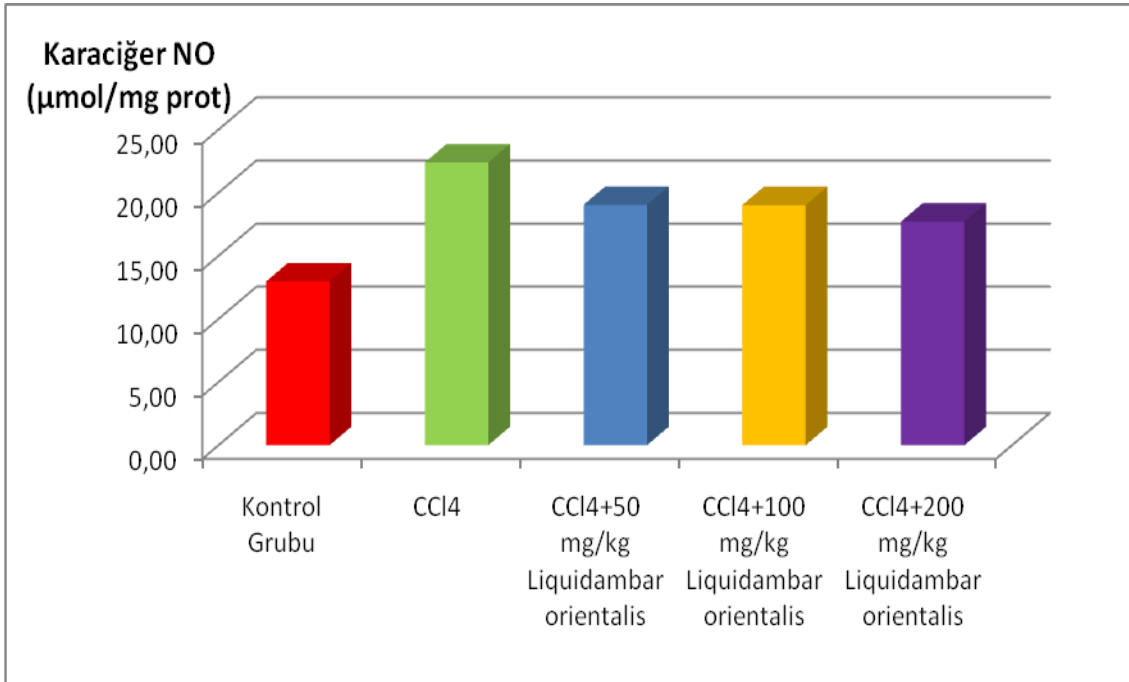
Tablo 16 Kan ve dokulardaki NO düzeyleri

Gruplar	n	Kan ($\mu\text{mol}/\text{mg Hb}$)	Karaciğer ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)	Beyin ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)	Böbrek ($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)
1.Kontrol	10	0.367 \pm 0.009 ^b	12.97 \pm 1.28 ^a	11.44 \pm 0.57 ^a	7.86 \pm 0.95 ^a
2.CCl ₄	10	0.573 \pm 0.061 ^c	22.40 \pm 2.11 ^b	20.78 \pm 2.33 ^d	20.19 \pm 1.63 ^d
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.369 \pm 0.065 ^b	19.04 \pm 1.84 ^b	15.68 \pm 3.36 ^c	13.07 \pm 1.69 ^c
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.257 \pm 0.059 ^a	19.02 \pm 1.23 ^b	12.24 \pm 0.70 ^{a,b}	10.58 \pm 1.14 ^b
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	0.251 \pm 0.063 ^a	17.71 \pm 1.27 ^c	13.81 \pm 3.15 ^{b,c}	9.93 \pm 1.07 ^b

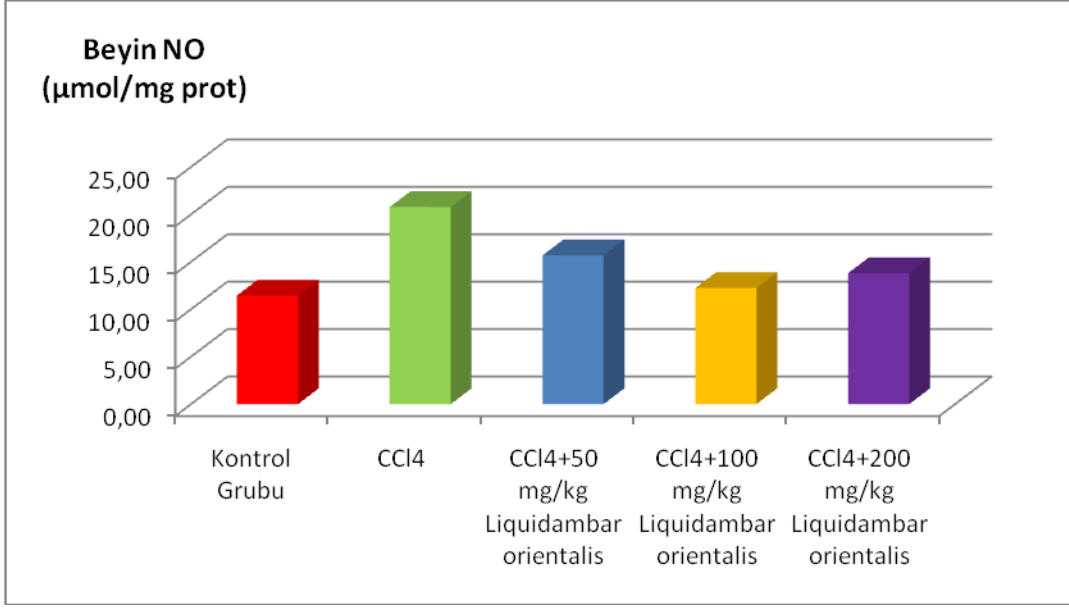
^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



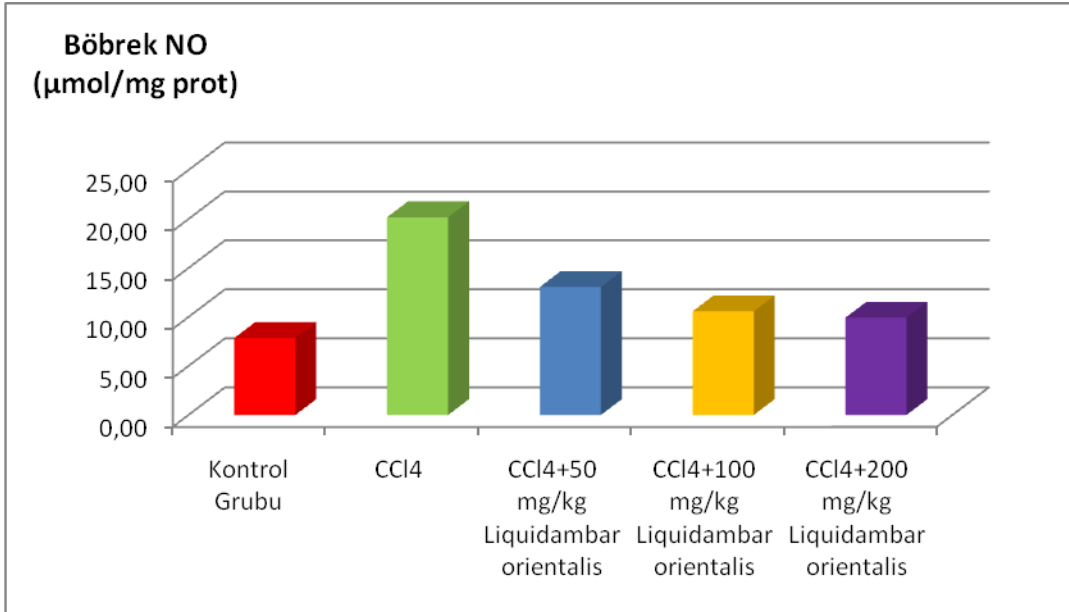
Şekil 43 Kan NO düzeyleri



Şekil 44 Karaciğer NO düzeyleri



Şekil 45 Beyin NO düzeyleri



Şekil 46 Böbrek NO düzeyleri

Özetle, CCl₄ toksikasyonu oluşturulan ratlarda sıgla yağının tüm dozlarının kan, böbrek ve beyin dokusunda NO düzeylerini düşürdüğü, karaciğerde ise yüksek dozdaki sıgla yağının (200 mg/kg) NO düzeyini düşürdüğü belirlenmiştir.

4.8 Total protein

Kanda, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiksel yönden bir farklılık gözlenmezken, CCl₄ grubu ile 5. grup arasında istatistiksel yönden bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden farklılık görülmüştür. 3. ve 4. grup arasında istatistiki bir fark gözlenmezken, 5. grup ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiki bir fark gözlenmiştir.

Karaciğerde, CCl₄ grubundaki Tp düzeyi ile kontrol grubunun Tp düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. CCl₄ grubu ile 3. grup arasında istatistiki bir fark görülmemiştir. CCl₄ grubu ile 4 ve 5. gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmüştür.

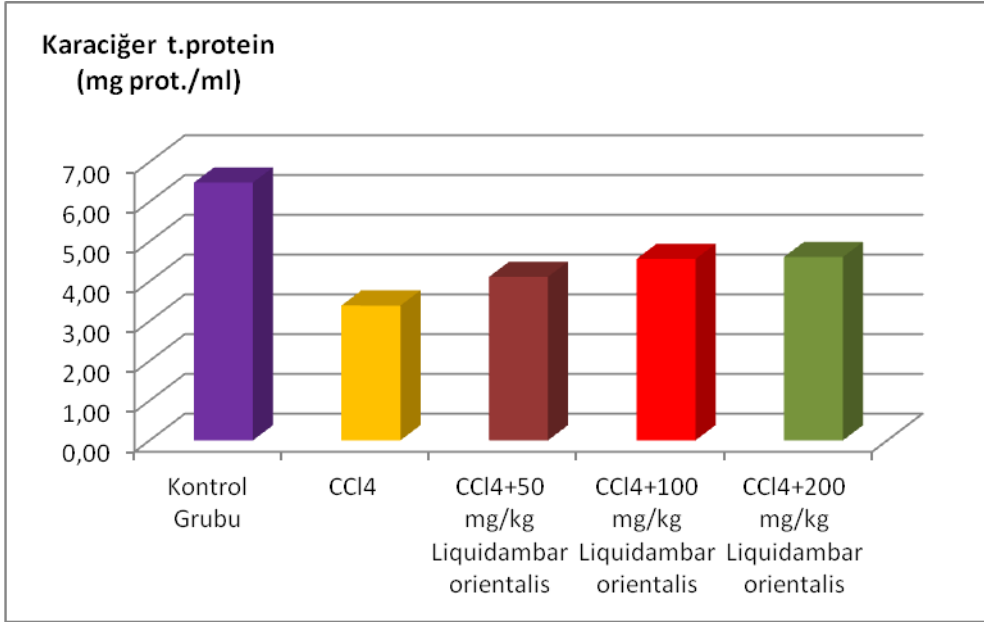
Beyinde, CCl₄ ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak farklı bulunmuştur. CCl₄ grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiki bir anlamlılık yok iken, CCl₄ grubu ile 5. grup arasında istatistiki bir fark görülmüştür. Kontrol grubu ile 5. grup arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir.

Böbrekte, CCl₄ grubunun Tp düzeyi ile kontrol grubunun Tp düzeyi arasında istatistiki bir fark görülmemiştir. CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile 3 ve 4. gruplar arasında istatistiki bir anlamlılık görülmüştür.

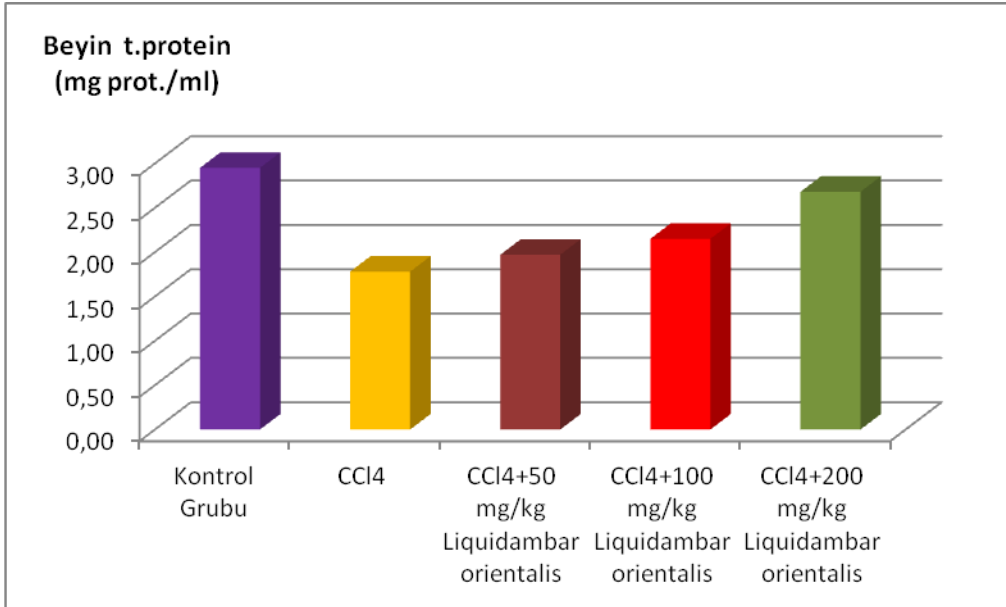
Tablo 17 Kan ve dokulardaki Tp düzeyleri

Gruplar	n	Karaciğer (mg prot./ml)	Beyin (mg prot./ml)	Böbrek (mg prot./ml)
1.Kontrol	10	6.48 ± 1.09 ^c	2.95 ± 0.92 ^b	3.31 ± 0.31 ^b
2.CCl ₄	10	3.39 ± 0.66 ^a	1.78 ± 0.24 ^a	2.94 ± 0.17 ^{a,b}
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	4.11 ± 0.94 ^{a,b}	1.97 ± 0.22 ^a	2.78 ± 0.99 ^{a,b}
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	4.56 ± 0.52 ^b	2.15 ± 0.45 ^a	2.74 ± 0.48 ^a
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	4.60 ± 1.00 ^b	2.68 ± 0.51 ^b	3.25 ± 0.47 ^{a,b}

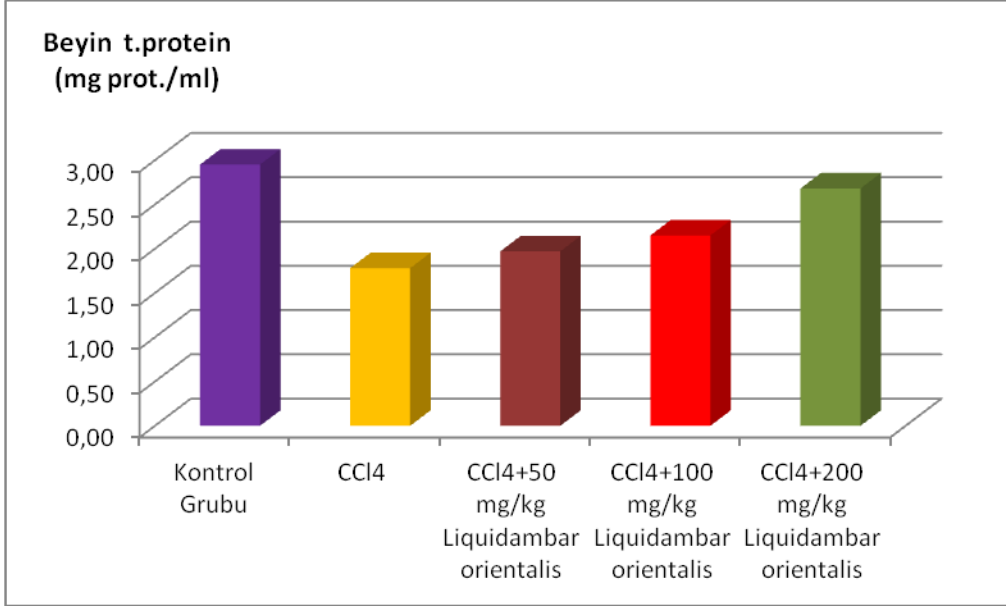
^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



Şekil 48 Karaciğer Tp düzeyleri



Şekil 49 Beyin Tp düzeyleri



Şekil 50 Böbrek Tp düzeyleri

Özetle, CCl₄ uygulanan gruplarda Tp düzeyleri azalmıştır. Tedavi gruplarında artan dozla birlikte Tp düzeylerinin arttığı gözlenmiştir.

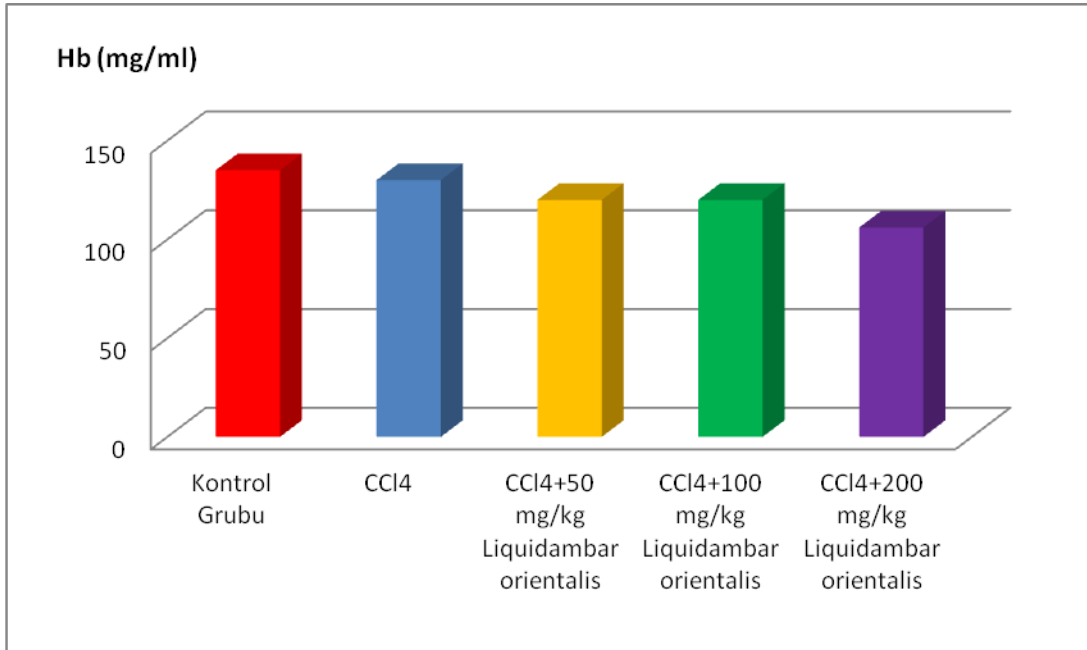
4.9 Hemogloblin (Hb) düzeyleri

Kontrol grubu Hb değeri ile CCl₄ grubu Hb değeri arasında istatistiki bir fark görülmüştür. CCl₄ grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiksel yönden farklılık görülmüştür. CCl₄ grubu ile 5. grup arasındaki istatistiki fark önemli bulunmuştur. Kontrol grubu ile tedavi grupları arasında (3, 4 ve 5. gruplar) istatistiki bir fark oluşmuştur.

Tablo 18 Kan Hemogloblin (Hb) düzeyleri

Gruplar	n	Hb (mg/ml)
1.Kontrol	10	135.5 ± 2.85 ^d
2.CCl ₄	10	129.9 ± 2.05 ^c
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	120.3 ± 1.00 ^b
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	120.3 ± 1.00 ^b
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	10	106.2 ± 1.37 ^a

^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



Şekil 51 Hemogloblin (Hb) düzeyleri

4.10 Histopatolojik bulgular

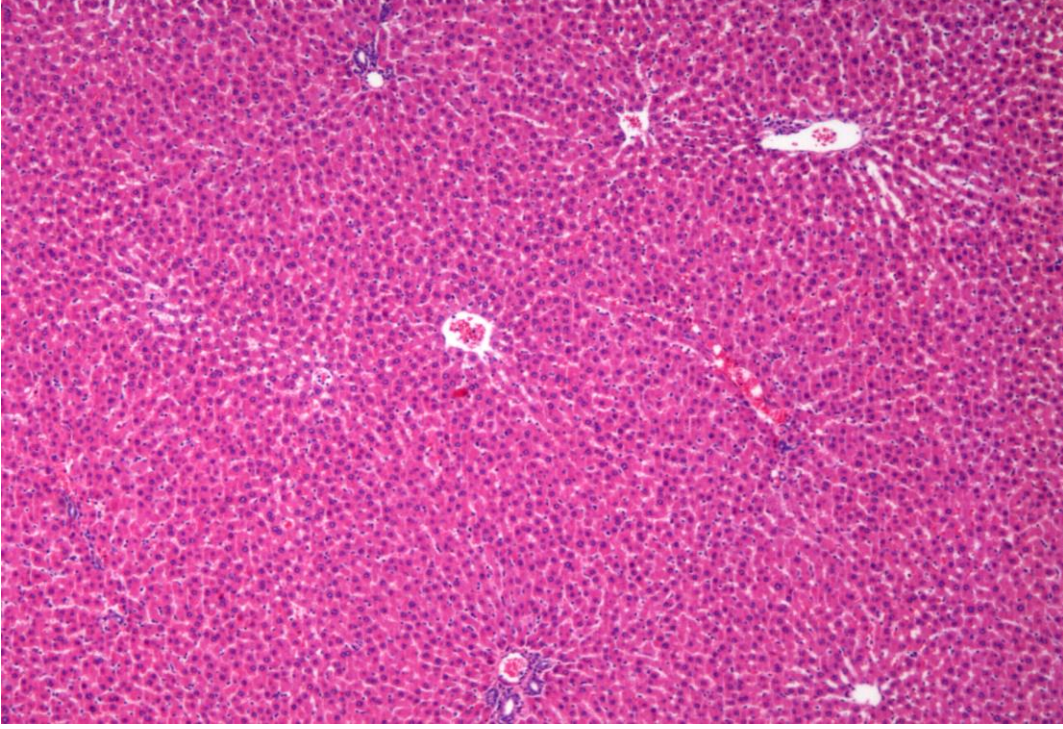
Kontrol grubu dışında tüm gruplarda vena centralis etrafındaki hepatositlerde değişik boyutlara ulaşan vakuoler dejenerasyon görüldü (Şekil 52,53,54,55,56). Gruplar arasındaki farkı belirlemek için dejenerasyonun şiddetini belirten bu vakuollerin sayısından ve çaplarından faydalanıldı. Lezyon yerleşim yeri sentral bölge olduğu için her örnekten merkezi vena centralis gelecek şekilde toplamda 1 mm²'lik alan içeren fotoğraflar alındı. Alınan fotoğraflarda mikroyapı görüntüleme ve ölçüm programı (Argenit Kameram, V 2.8.5.0) ile bu vakuoller sayıldı ve çapları ölçülerek istatistiki veri elde edildi (Tablo 19).

Gruplar arasında vakuol sayısında istatistiki bir fark görülmezken, vakuol çapında artan dozla birlikte istatistiki bir fark görüldü (Tablo 19).

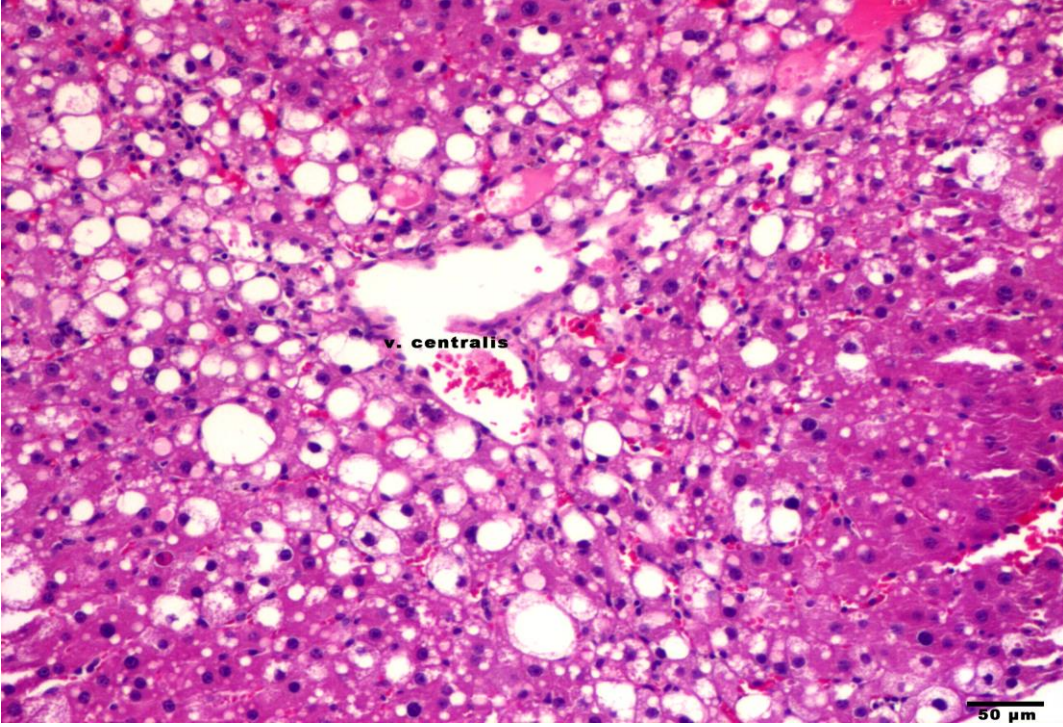
Tablo 19 Karaciğerde oluşan lezyonların (vakuol) değerlendirilmesi

Gruplar	Vakuol (lezyon) sayısı (1 mm ² alan içinde)	Ortalama Vakuol Çapı (mikron)
1.Kontrol	0,000 ^a	0,000 ^a
2.CCl ₄	264,5 ± 89,8 ^b	15,96 ± 1,9 ^c
3.CCl ₄ +50 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	257,5 ± 60,4 ^b	14,57 ± 1,2 ^{b,c}
4.CCl ₄ +100 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	284 ± 94,4 ^b	15,41 ± 2,1 ^c
5.CCl ₄ +200 mg/kg <i>Liquidambar orientalis</i>	299 ± 74,5 ^b	13,29 ± 1,5 ^b

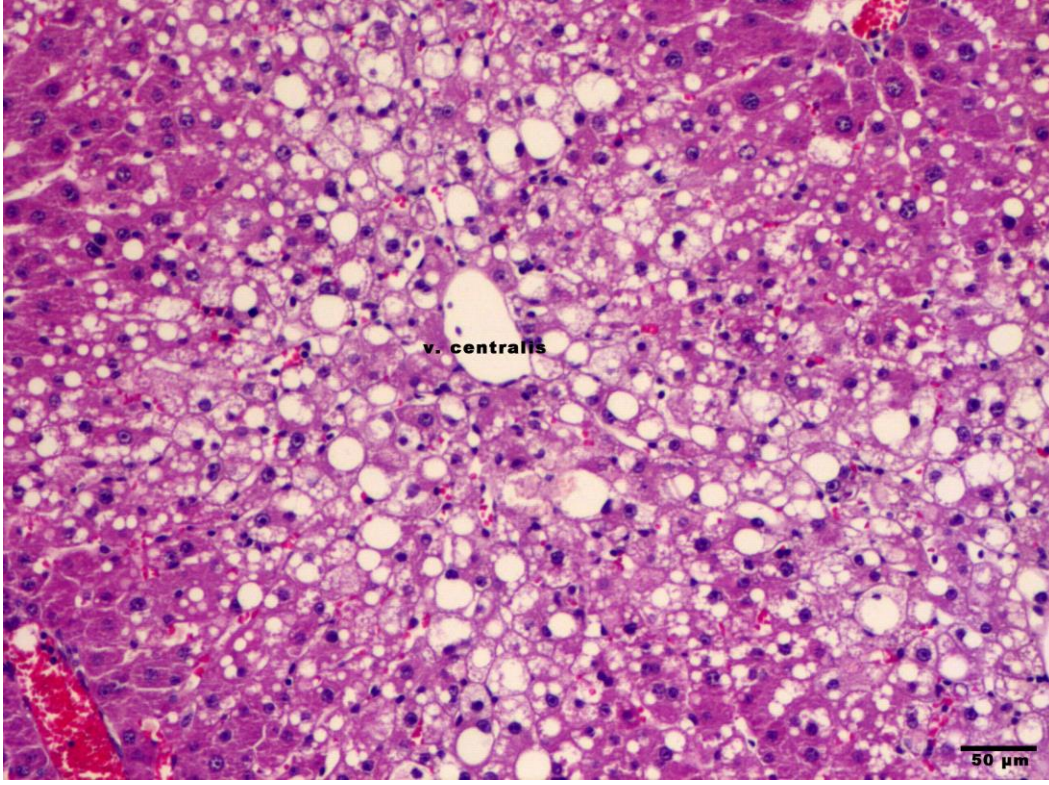
^{a, b, c}: Aynı sütunda farklı üstlü ifadeleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05) Kontrol grubu ratlarına ait karaciğerlerde herhangi bir hasar olmadığı için kontrol grubu sıfır kabul edilmiş ve istatistiğe dahil edilmemiştir. İstatistikte ANOVA ve post test olarak ise Duncan testi kullanıldı. Tabloda kullanılan istatistiki değerlerler (ortalama±std sapma) şeklinde ifade edildi.



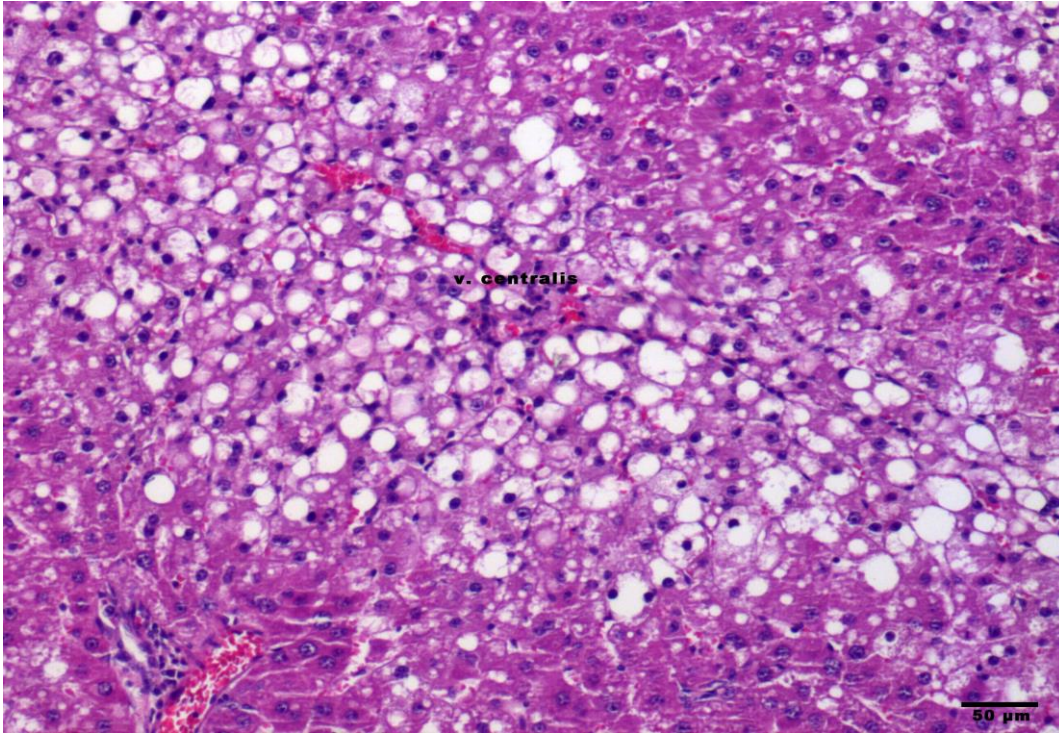
Şekil 52 Karaciğer kontrol grubu
Lezyon sayısı sağlıklı karaciğerde olmadığından sıfır kabul edilmiştir.



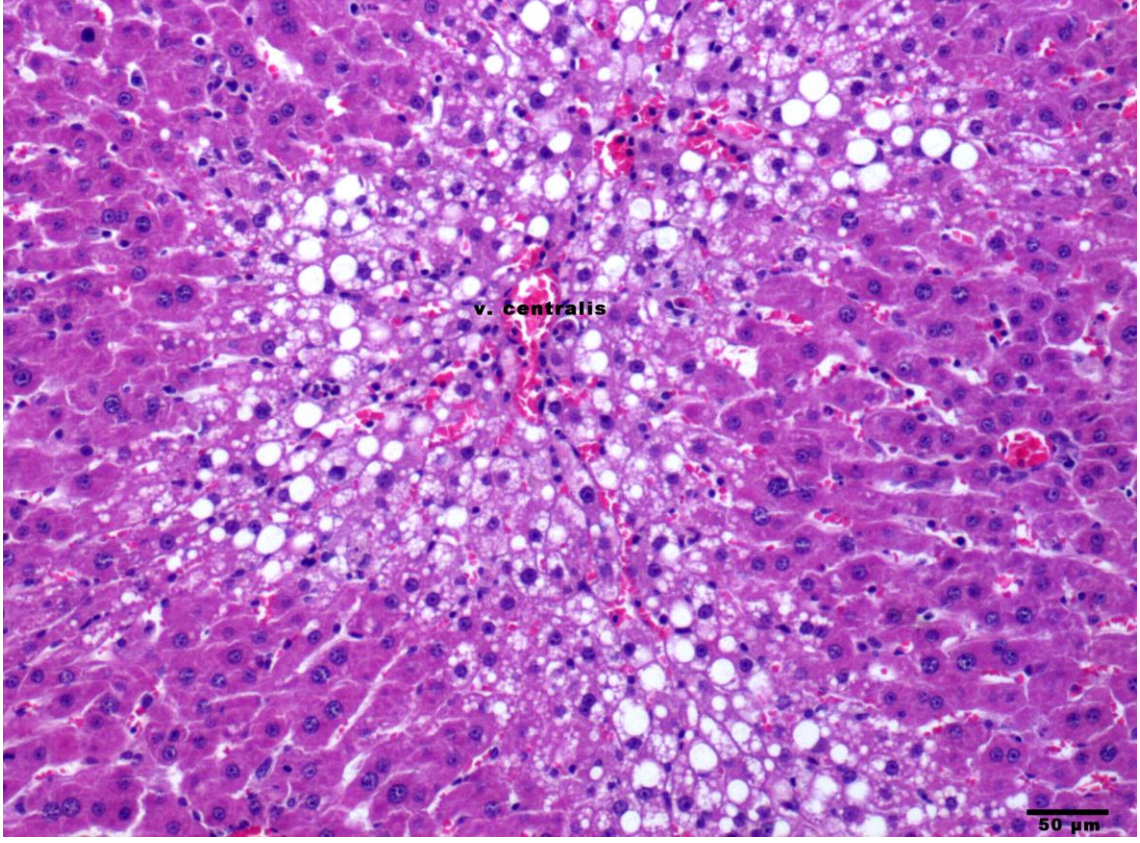
Şekil 53 Karaciğer CCl₄ uygulanan grup
Lezyon sayısı kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde artmıştır.



Şekil 54 Karaciğer CCl₄+50 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan grup
Lezyon çapları küçülmeye başlamıştır.



Şekil 55 Karaciğer CCl₄+100 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan grup
Lezyon çapları Şekil 54 deki çaplara göre küçülmüştür.



Şekil 56 Karaciğer CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan grup
Lezyon çapları diğer tedavi gruplarına göre en küçük seviyeye ulaşmıştır.

5. TARTIŞMA

Karaciğer, sindirim sistemi ve dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu fonksiyonları itibarı ile pek çok faktörden etkilenebilmektedir. Çok çeşitli metabolik, toksik (karbon tetraklorür, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömür katranı), mikrobik, dolaşımsal ve neoplastik hastalıklar karaciğeri etkileyebilmektedir. Erken hepatik hasarlar karaciğerin rezervi nedeniyle maskelenebilir, ancak harabiyetin ilerlemesi ciddi hasarlarla sonuçlanabilir. Karaciğer, metabolizmanın devamı için ortaya koyduğu fonksiyonları ve pek çok nedenle hasarlanabildiğinden dolayı üzerinde çok çalışılan bir organdır. Kronik karaciğer hasarları ve siroz batı ülkelerinde başta gelen ölüm nedenlerindedir. Deneysel çalışmalarda pek çok madde ile karaciğer hasarı oluşturulmasına rağmen en çok tercih edilen maddelerden biri CCl₄'dür (Lieber 1995, MacDonald-Wicks and Garg 2003, Wang *et al.* 2005).

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 (Demirci 2006).

CCl₄, karaciğer, timus, lenf düğümleri, dalak, böbrek, pankreas gibi pek çok organ üzerinde tahribat yapmaktadır (Özeki *et al.* 1985, Masaki *et al.* 1988). CCl₄, akut hasarlar oluşturması yanında uzun süreli kullanımı ile kronik hasarlar oluşturarak siroza kadar uzanan sonuçlar vermektedir. CCl₄'le deneysel olarak oluşturulan karaciğer hasarları insanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir (Paquet and Kamphausen 1975, Rozga *et al.* 1991, Wang *et al.* 2005).

Çalışmamızda kullanılan CCl₄, oksijen radikalleri oluşturmakta ve hücrelerde özellikle karaciğerde lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır. CCl₄ ile yapılan diğer bazı çalışmalarda da lipit peroksidasyonu sonucu artan MDA düzeyi bulguları görülmüştür (Yalçın *et al.* 1986, Şahin *et al.* 2003). CCl₄ agranüler endoplazmik retikulumda, triklorometil (CCl₃) radikaline, CCl₃'de triklorometilperoksit (CCl₃O₂) radikaline dönüştürülmektedir. CCl₃O₂, birinci mekanizma ile direkt olarak özellikle membran proteinleri ve kovalent bağlar üzerinden enzimleri inaktive ederek alkilasyon reaksiyonu oluşturduğu veya ikinci mekanizma ile membran yağ asitlerini etkileyerek lipit peroksidasyonunu uyardığı ileri sürülmektedir (Freeman and Crapo 1982, Comporti 1985, Sun *et al.* 2001).

CCl₄, tek injeksiyondan sonra bile hepatositlerde yağ dejenerasyonu ve koagülasyon nekrozu meydana getirmesi yanında tekrarlayan injeksiyonlarda siroz meydana getirir. CCl₄ uygulaması ile ilerleyen süreçlerde hepatik yapı bozulur, metabolik bölgeselleşme kaybolur, mikrovasküler değişiklikler ortaya çıkar, sinuzoid/hepatosit metabolik değişim yüzeyi azalır. Parankimal kitle artışına bağlı azalmış vaskularizasyon, fonksiyonel ihtiyacı karşılayamaz ve karaciğer yetmezliği gelişimine neden olur (Freeman and Crapo 1982, Comporti 1985, Sun *et al.* 2001).

Grizzi vd. (2003), akut olarak CCl₄ uyguladıktan 2 ve 24 saat sonra inceledikleri sıçanlarda, 2 saat sonra sentrolobüler zonda hepatosit nekrozu ve makrofaj ile lenfositler yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptamışlardır. Sentrolobüler zonda yer alan hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, vakuolizasyon ve şişme saptamışlardır. Yağlı değişimlerin birkaç damlacık tarzında ve değişken hacimde olduğunu bildirmişler ve aynı karakteristik bulguları 24 saat sonra da şiddetlenmiş olarak saptamışlardır.

Yapılan çalışmalarda CCl₄ kullanımına ve alkolik karaciğer hastalığına bağlı olarak karaciğer hasarı oluşumu sırasında ROS üretiminde meydana gelen aşırı artış ve buna bağlı olarak antioksidan enzimler olan SOD ve GSH-Px düzeylerinde anlamlı azalmalar olmaktadır. Dolayısı ile antioksidan enzimler ile karaciğer hasarı, fibrozis ve lipit peroksidasyon düzeyleri arasında ters bir korelasyon olduğu gözlenmektedir Yılmaz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, CCl₄ ile siroz oluşturulmuş ratlarda GSH-Px ve

G6PDH enzim düzeylerindeki düşmeye bağlı olarak süperoksit radikallerinin aşırı düzeyde biriktiğini ve serbest radikallerin siroz gibi karaciğer hastalıklarının patogeneğinde rol oynayabileceğini göstermişlerdir (Yılmaz ve Bahçecioğlu 2000).

CCl₄'e maruz kalan rat hepatositlerinde MDA oluşumu artar ve karaciğerde yağlı dejenerasyonla birlikte sentrilobuler nekroz gözlenir. Sirozda oluşan lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlerde olan değişikliklerin karaciğerde meydana gelen hasarın derecesine bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Recknagel, CCl₄'ün yol açtığı karaciğer hasarının genellikle karaciğer mikrozomlarındaki lipid peroksidasyonuna bağlı olduğunu bildirmiştir (Recknagel *et al.* 1989)

ROS'un düşük miktarları mikro organizmalara karşı savunmada yararlı olsa da fazla olduğunda yaşlanma, iskemi, bağışıklık ve hormonal fonksiyonların sorununda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. ROS oluşumunun oksidatif strese yol açtığı, bu oksidatif stresin serbest radikal üretimi ile antioksidan aktivite arasındaki dengesizlikte meydana geldiği ve bu durumun hücrel hasarlara yol açtığı bildirilmiştir (Mate's *et al.* 1999).

Antioksidan savunma, radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarlarının onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması gibi değişik şekillerde etki eder. Böylelikle organizma, değişen koşullara karşı hücrel homeostazisi korumak durumundadır. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonuna karşı bu yolla antioksidan savunma sistemi oluşturularak hücrel denge korunmaya çalışılır (Frei 1994, Yanbeyi 1999).

Oksidatif stres, fibrozis oluşumunda da önemli bir rol üstlenmektedir. Oksidatif hasarlar karaciğer stellat hücrelerini uyarmakta ve fibrozisi şiddetlendirmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonu fibroblast ve hepatik stellat hücrelerinin kollajen gen transkripsiyonunu uyarır. Aynı zamanda, uyarılmış olan Kupffer hücreleri, proinflamatuvar sitokinleri, tümör nekrozis faktör-a (TNF- α) ve interlokin-1h (IL-1h) üretimini de indüklerler. Bundan dolayı oksidatif stresin inhibe edilmesi ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini önüne geçilmesi faydalı sonuçlar sağlayacaktır (Kaplowitz *et al.* 1986, Lee *et al.* 1989, Akkuş 1995).

Karaciğer hasarları daha başlangıç dönemlerinde belirlenip etkin bir tedavi geliştirilmezse, fibrozisten siroza kadar uzanan geri dönüşümsüz hasarlar ortaya çıkacaktır. Karaciğer hasarlarının etkin bir tedavisi için pek çok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır (Wang *et al.* 2005).

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. Bu enzimler normalde karaciğer hücreleri olan hepatositlerde bulunurlar. Karaciğerde bir hasar meydana geldiğinde kana karışırlar ve kandaki seviyeleri yükselir (Rosalki and McIntyre 1999).

ALT ve AST enzim aktiviteleri birçok araştırmacı tarafından bildirildiği gibi, sıçanlarda CCl₄ ile toksikasyonun indüklendiği çalışmalarda önemli oranlarda artmıştır (Ichinose *et al.* 1994). CCl₄ ile köpeklerde oluşturdukları toksikasyon sonucunda serum ALT ve AST aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli artışların olduğunu bildirmişlerdir (Turgut *et al.* 1995). Yang vd. (2007) 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. Göker ve Özmen' in (2009) sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorid

uygulanmasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisinin olduğu ve AST enzim aktivitesinin CCl₄ uygulanan grupta anlamlı şekilde yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada ısırgan otunun kullanılmasının AST aktivitesini anlamlı şekilde düşürdüğü belirtilmiştir. Speroni vd. (2003) yaptıkları çalışmada CCl₄ uygulaması öncesinde Cynara ekstraktı kullanımının AST ve ALT aktivitelerindeki artışı azaltarak normal seviyede tuttukları belirtilmiştir.

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.

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 hücrenel 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 hücrenel toksik aldehitlerden biridir (Halliwell 1996, Akkuş 1995, Yılmaz ve Temizer 2003).

Organizmadaki serbest radikal oluşumunun artışına veya antioksidan savunma sisteminin yetersizliğine bağlı olarak oksidan-antioksidan dengesinin radikaller lehine bozulması sonucunda, biyomoleküller ile serbest radikaller kolaylıkla reaksiyon verebilir ve zincirleme reaksiyonları başlatarak yeni serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Oluşan serbest radikallerin, çeşitli patolojik durumlara yol açtığı ve biyolojik

sistemlerde çok önemli fizyolojik roller oynadığı gözlenmektedir. Bu radikaller; proteinler, lipitler, karbohidratlar ve nükleik asitleri yıkıma uğratabilir. Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır. MDA, membran lipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan son üründür. Oksidatif stres parametreleri ile antioksidan sistem ve aralarındaki korelasyon son yıllarda giderek ilgi odağı olmuş, oksidatif stresin göstergesi MDA düzeyleri ve antioksidanlar biyokimyasal markır olarak birçok hastalıkta araştırılmıştır (Şimsek 1999, Lee *et al.* 2008).

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak, malondialdehit (MDA) tayini bir ayraç olarak kullanılmaktadır. CCl₄ oluşturduğu serbest radikallerle, lipit peroksidasyonunu indüklemekte ve MDA düzeylerinde artışa sebep olmaktadır (Wang *et al.* 2005). CCl₄'e maruz kalan rat hepatositlerinde MDA oluşumu artar ve karaciğerde yağlı dejenerasyonla birlikte sentrilobuler nekroz gözlenir. Sirozda oluşan lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlerde olan değişikliklerin karaciğerde meydana gelen hasarın derecesine bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Recknagel vd. (1989), CCl₄'ün yol açtığı karaciğer hasarının genellikle karaciğer mikrozomlarındaki lipid peroksidasyonuna bağlı olduğunu bildirmiştir.

Yılmaz ve Bahçecioğlu (2000) yaptığı çalışmada ratlarda karaciğer sirozu oluşturulmuş ve oluşturulan toksikasyonda oksidatif stresin ve LPO'nun en önemli göstergesi olan MDA'nın CCl₄ grubunda kontrol grubuna oranla önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada Liu vd. (2009), yine toksikasyon oluşturmak için CCl₄ kullanmış ve CCl₄ grubundaki MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, MDA düzeylerinin tedavi gruplarında düşüş gösterdiği kaydedilmiştir. Ulusu ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada, diyabetik ratların beyin ve kalp dokularında MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşken, böbrek dokusunda anlamlı bir artış gözleyememişlerdir.

Zeashan vd. (2008) tarafından *in vivo* karaciğer toksikasyonu oluşturulan başka bir çalışmada kontrol ve sham grupları karşılaştırıldığında toksikasyon grubunda MDA'nın istatistiksel anlamda önemli oranda arttığı görülmüştür. Ayrıca Lee vd. (2008)

tarafından yapılan çalışmada CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Yapılan analizler sonucu karaciğer enzimlerinin ve oksidatif stres markırı olan MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla tedavi gruplarında düştüğü belirlenmiştir. Devi vd. (2010) yaptığı çalışmada da CCl₄ uygulanan gruplarda hem homojenat hem de hemolizat MDA seviyesinin arttığı ve CCl₄ uygulamasından önce gündüzsefası (*Ipomoea hederacea*) kullanımının MDA seviyesini azalttığı belirtilmiştir. Aktay ve ark. (2000) halk arasında kullanılan ilaçların karaciğer koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada CCl₄ uygulamasından öncesinde *Cynara scolymus* yaprak ekstraktı kullanımının lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ve MDA düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Üstündağ ve ark. (2005) yaptığı bir çalışmada, CCl₄ uygulanmasının karaciğer dokusunda lipidperoksidi arttırdığı ve soy izoflavon uygulanmış grupta artmış MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü gözlenmiştir.

Sunulan çalışmada, MDA seviyesinin CCl₄ uygulanan tüm dokularda yükseldiği, *Liquidambar orientalis*'in uygulandığı gruplarda MDA seviyesinin düştüğü görülmüştür. Bu, CCl₄'ün radikal üretimini indüklemesi sonucu LPO'ya neden olduğu şeklinde açıklanabilir. Ayrıca hücrel antioksidan savunma sistemini olumsuz etkileyerek radikallerin ortadan kaldırılma mekanizmasını yavaşlatmış ve doymamış yağ asitlerine atak yaparak LPO'yu hızlandırmış olabileceği düşünülmektedir. Sıgla yağı uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin düşmesi, sıgla yağının doza bağımlı bir şekilde LPO'yu etkilediğini göstermektedir.

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 glutatyona 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 hücrel hasarlar

karşısında büyük savunma sağlar (Liu *et al.* 2005, Nelson and Cox 2004).

Tripeptit yapıda olan glutatyon, tüm memeli canlı hücrelerinde bulunan, hücreleri serbest radikal ve toksik metabolitlerine karşı koruyan bir tiol bileşiğidir. GSH ve diğer tiol içeren bileşikler, kimyasal maddelerin oluşturduğu hücre ve doku hasarına karşı hücrenin canlılığını ve membran stabilitesini sağlamaktadırlar. GSH, kimyasal maddelerin ve çeşitli ilaçların zehirsizleştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Başta GSH olmak üzere tiol bileşiklerinin karaciğer üzerine koruyucu rolü çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (Liu *et al.* 2005, Akkuş 1995).

Vücudumuzdaki GSH'un %90'dan fazlası karaciğer tarafından dolaşıma verilir. Glutatyonun normal homeostazisi sitokrom P-450 enzim sisteminin aktivitesi ve mitokondrideki normal hücrel redoks sistemi için gereklidir. Glutatyon non-enzimatik bir antioksidan olarak, lipid peroksidleri ve hidrojen peroksidin eliminasyonunu sağlayarak hücreyi oksidatif hasara karşı savunmada çok önemli role sahiptir. Kronik karaciğer hastalıklarında GSH üretiminin azaldığı ve bu sebeple de karaciğer tarafından dolaşıma daha az verildiği bildirilmektedir (Czuczejko *et al.* 2003).

Bildik ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada, tavşanlara akut ve kronik CCl₄ uygulaması yapmış ve deneme gruplarındaki tüm kan GSH düzeylerinin kontrol gruplarına göre önemli bir azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir. CCl₄ ile karaciğer toksikasyonu oluşturulan başka bir çalışmada (Sambath *et al.* 2005) ise doku GSH düzeyinin kontrol grubunda 5.31 µg/mg protein, CCl₄ uygulanan grupta ise 0.59 µg/mg protein olduğu tespit edilmiştir. Kurata vd. (1993), 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. Jain vd. (1989) antioksidan tedavi almamış 42 kronik hepatit C'li olgu ile yaptıkları bir çalışmada kontrollere göre GSH'un vitamin A, E ve C ile birlikte azalırken GSSG / GSH oranının önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Boya vd. (1999) HCV'li hastalarda GSH'un biyosentetik kapasitesinin arttığını kaydetmişler.

Buna sebep olarakta GSH kullanımının artması ve sonucunda kompensatuar (refleks) etki olarak sentezinin artması gösterilmiştir. Yalçın ve ark.(1997), karaciğer dokusundaki toksik etkilerin belirlenmesi amacıyla sıçanlara sekiz hafta boyunca haftada iki kez 1 ml/kg CCl₄ uygulamış ve analizler sonucunda karbontetraklorürlü grupta GSH ve GST düzeylerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. GSH düzeyindeki artışa uzun süre CCl₄ uygulamasının sebep olabileceği belirtilmiştir. GST düzeyindeki artışın ise CCl₄ 'ün detoksifikasyonu ile ilgisi olabileceği gibi GSH'a bağımlı çalışan bir enzim grubu olarak, GSH düzeylerindeki değişiklikten etkilenmiş olabileceği rapor edilmiştir (Yalçın *et al.* 1997).

Yapılan çalışmada literatüre uygun olarak, Tablo 13 ve Şekil 31, 32, 33, 34'de belirtildiği gibi GSH düzeyleri CCl₄'de kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. GSH düzeylerindeki bu azalmada, CCl₄'ün toksik etkilerini azaltmak amacıyla GSH'ın antioksidan olarak kullanılması sebep olarak gösterilebilir. Sığla yağı artan dozlarda GSH düzeylerini artırmıştır. Sığla yağındaki antioksidan savunmanın GSH seviyesini düşürmeyi engellediği ve güçlendirdiği görülmüştür.

GPx, hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerin indirgenmesini katalizlemektedir. Lipid peroksidasyonuna karşı etkili koruma sağlayan enzim olarak kabul edilir. Hücrel savunma elemanlarından glutatyon peroksidaz aktivitesinde, ilk aşamada bu zararlı etkileri etkisizleştirmek 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. 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 (Halliwell and Gutteridge 2001, Akkuş 1995).

Karaciğer yüksek konsantrasyonda katalaz ve GSH-Px içerir, en fazla peroksidomda daha sonra ise sitozol ve mitokondrial matrikste bulunurlar. Her ikisinin de GSH bulunan koşullarda peroksitleri parçalama özelliği vardır. Lipid hidroperoksidleri de glutatyon peroksidaz aracılığı ile parçalanır (Ames *et al.* 1993). Glutatyon peroksidazın H₂O₂'ye karşı Km'i katalaza göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda

H₂O₂'yi GSH-Px parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz aktivite kazanır (Memişoğulları 2005). Chrobot vd. (2000) kronik hepatit B ve C'li çocuklarda GSH-Px aktivite değerlerini kontrollerden anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır.

Tablo 15 ve Şekil 39, 40, 41, 42 incelendiğinde GPx seviyeleri, CCl₄ gruplarında kontrol gruplarına göre belirgin bir şekilde düşük bulunmuştur. Tedavi gruplarında CCl₄ gruplarına göre yükselme gözlenmesi ve kontrol gruplarına göre düşük kalması, GPx'in ilk aşamada bu zararlı etkileri nötralize etmek amacıyla arttığını sonrasında, onarıma olumlu katkısıyla düşük kaldığı ve kontrol grubuna yaklaşmış olacağı düşünülüyor. Karaciğerde 5. grupta CCl₄ grubuna göre fazla değişimin olması, yüksek dozdaki (200 mg/kg) sıgla yağının terapötik etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi hidrojen peroksidin ortamdan uzaklaştırılmasında rol oynar. Katalaz, H₂O₂'in yüksek konsantrasyonlarda parçalanmasında görev alırken, glutatyon peroksidaz H₂O₂'in düşük konsantrasyonlarda parçalanmasında görev alır. 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 (Halliwell 1996). Bütün enzimler içinde en yüksek turnover hızına sahip olan katalaz, dakikada yaklaşık 6 milyon H₂O₂ molekülünü, moleküler oksijen ve suya katalizleyerek hücre içinde antioksidan savunma görevini yapar. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur (Valko *et al.* 2007).

Dokuda katalaz düzeyleri arttıkça, karaciğer hasarının göstergeleri azalmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu meydana gelen lipid dekompozisyonuna bağlı olarak hepatositte endoplazmik retikulumun yapı ve fonksiyonu bozulur. Endoplazmik retikulum şişer ve ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan ayrılır. Hücre lipoprotein sentezini gerçekleştiremez ve hücre içi lipid birikimi başlar. Takiben mitokondriler hasarlanır, plazma permeabilitesi bozulur ve hücre şişer. Bunu da kalsiyum tutulumu ve hücre ölümü izler (Kumar *et al.* 1994). Normal koşullarda karaciğerde zararlı molekülleri fagosite eden kupffer hücreleri, aktive oldukları zaman ortama saldıkları toksik moleküllerle hepatositlerde potansiyel bir hasara neden olabilirler. CCl₄ ile parankimde oluşan hasar Kupffer hücrelerini de aktive eder ve bu şekilde CCl₄ ile indüklenen

karaciğer hasarı lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını başlatmış olur. Bunların sonucunda karaciğer parankim hücrelerinde yoğun nekroz, santral ven ve periportal alanlarda ise bağ dokusu artışı görülür. Karaciğerde fibrozis ve takiben siroz görülür (Friedman 2004).

Hsiao vd. (2001) yaptığı çalışmada, katalazın karaciğer hücrelerinde hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığı ve bu enzimin karaciğer dokularında ksenobiyotiklerin redoks sürecinde üretilen reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Ayrıca, Cuciureanu vd. (2009) yaptıkları çalışmalarda CCl_4 uygulamasının antioksidan sistemini olumsuz yönde etkileyerek, CAT düzeyini azalttığı belirtilmiştir. Natarajan vd. (2006) oksidatif stres ile karaciğer sirozu gelişiminde iki farklı deneysel modelin karşılaştırılmasını yaptıkları çalışmada, CCl_4 uygulamasının peroksizomlarda lipid ve protein peroksidasyonu parametrelerinde kademeli artışa sebep olurken, peroksizomlara lokalize katalaz aktivitesinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Fahmy vd. (2009) yaptıkları bir çalışmada, yüksek dönüşüm hızlarından birine sahip olan katalazın, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü sağladığını, lipid hidroperoksitlere etki etmeyerek, hidrojen peroksit ve metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki ettiklerini ve bunun sonucunda da ikinci derecede sentezlenen toksik hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlayarak, H_2O_2 'nin vücutta birikimini engellediğini belirtmiştir.

Tablo 14 ve Şekil 35, 36, 37, 38 incelendiğinde CAT düzeylerinin CCl_4 uygulanan grupta kontrol gruplarına göre, literatüre uygun olarak düştüğü görülmektedir. Bunun nedeni CCl_4 etkisi ile artan oksidan moleküllerin ve H_2O_2 'in detoksifiye edilmesi sırasında CAT'ın aşırı kullanılması sonucu seviyelerinin düşmesi şeklinde açıklanabilir. Kan ve doku CAT seviyeleri incelendiğinde, CCl_4 uygulanan gruba göre sıgla yağının doza bağımlı bir şekilde CAT seviyelerini arttırdığı ve böylelikle oksidatif stresi azalttığı gözükmektedir.

Yapılan çalışmalar düşük miktarlarda NO'nun hücrede fizyolojik olarak önemli olduğunu, ancak yüksek NO düzeylerinin toksik olduğunu göstermiştir. NO'nun

hücredeki etkileriyle ilgili çalışmalardan örnekler incelendiğinde, fazla NO'nun hücrel enzim sistemlerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyonunun demir-sülfür (Fe-S) merkezlerinin inhibe edilmesiyle, ADP-ribozilasyonuyla, çeşitli proteinlerdeki serbest sülfidril gruplarının nitrosilasyonuyla, çinko-sülfür merkezlerden Zn salınımıyla oluştuğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Nathan and Xie 1994, Jaffrey and Snyder 1995). Fazla NO'nun elektron transport zinciri kompleks I-II ve mitokondrial membran potansiyelinde hasar oluşturduğu gösterilmiştir. Fazla NO, DNA tek zincirinde kırılmalara, mutajenik etkiye ve apoptozda artışa yol açmaktadır. Fazla NO üretimi birçok infeksiyon, inflamasyon ve otoimmün hastalığın etyopatogenezinde de rol oynamaktadır. NO ve peroksinitrit NO'ya bağlı oluşan sitotoksitede major rolü oynamaktadır (Ribeiro *et al.* 1993).

NO'nun reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitritler, radikal olmamasına rağmen, güçlü okside edici maddelerdir. Yarılanma ömürlerinin öncül moleküllerine (süperoksit ve nitrik oksit) göre uzunluğu ve okside edici özellikleri sayesinde membran lipidleri, tioller, her tür protein (yapısal, enzimatik) ve DNA gibi hücrel makromoleküllerin tamamını hasarlayabilir. Aynı zamanda peroksinitrit artışı beraberinde hidroksil radikalinin artışına da yol açmaktadır (Jaffrey and Snyder 1995). Asahi vd. (1995) NO'nun sadece GPx'ı sistein rezidülerini modifiye ederek inhibe ettiğini, fakat diğer antioksidan enzimlere etkileri olmadığını ifade etmişlerdir. Diğer yandan Brown (1995), NO'nun H₂O₂'le yarışarak katalaza bağlandığını ve enzimi degrade ettiklerini göstermiştir.

Yoon vd. (2000), koroner arter hastalarında plazma nitrik oksit düzeylerini kontrollere göre daha yüksek bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada hipertansiyonu olan koroner arter hastalarında NO düzeyinin hipertansiyonu olmayanlara kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hipertansiyon hastalığının %95'lik kısmını oluşturan esansiyel hipertansiyonu açıklayan önemli hipotezlerden biri de endotel disfonksiyonudur (Marin and Martinez 1997, Kaplan 1998). Fakat ister primer isterse sekonder hipertansiyon olsun endotel fonksiyon bozukluğu sonucu NO eksikliği önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Hem insan hem de hayvanlarda gösterilen bu durum temel olarak asetilkolin gibi uyarılara bağlı olarak endotelden salgılanan gevşetici

maddelerin salgılanmasında yetersizlik olarak belirir (DeArtinano and Gonzalez 1999). Karaciğer sirozlu hastalarda artmış intrahepatik rezistans sonucu oluşan portal hipertansiyon yaygın komplikasyonlardan biridir. Endotelial NOS'ın enzimatik fonksiyonundaki azalmadan kaynaklanan NO⁻ üretimindeki azalmanın ve karaciğerin stallet hücrelerinin artmış olan kontraksiyonunun sirotik karaciğerdeki intrahepatik rezistansın artışına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Fiorucci *et al.* 2001). NO'in son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin sirozlu hastaların serumunda arttığı ve bu artışın endotoksemi ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Guarner *et al.* 1993). Gupta vd. (1998) tarafından sirotik intrahepatik mikrosirkülasyonda artmış vasküler ton üzerine endotelyumun fonksiyonel rolünün araştırıldığı çalışmada sirotik ratların intrahepatik mikrosirkülasyonunda NO⁻ üretiminde bir azalma ve endotelial disfonksiyonu gözlenmiştir. Yapılan çalışmada sirotik karaciğerlerde nitrit ve nitrat üretiminin belirgin olarak azaldığı bulunmuştur. Sirotik mikrosirkülasyonda asetilkoline verilen damar gevşetici cevabın azalması vazorelaksasyon sağlayıcı faktörlerin sentezinin azalması ile açıklanmıştır.

Yapılan çalışmada Tablo 16 ve Şekil 43, 44, 45, 46 incelendiğinde, NO düzeyleri, CCl₄ gruplarında artmıştır. Buda, yüksek NO'in toksikasyonu sonucu hücrel enzim sistemlerini inhibe ettiğini gösterir. Özellikle beyin ve böbrekteki artış anlamlı bulunmuştur. Tedavi gruplarındaki NO seviyeleri CCl₄ gruplarına göre kan, beyin ve böbrek dokularında istatistiki olarak farklı iken, karaciğer dokusunda sadece 5. grupta farklılık görülmüştür. Sığıla yağı CCl₄ etkisi sonucu artan oksidasyonu, özellikle yüksek dozlarda (200mg/kg) detoksifiye ederek düşürmüştür.

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 oksidatif stresin kanser, diyabet, karaciğer hastalıkları, hematolojik bozukluklar gibi birçok hastalıkta rol alması, antioksidan bileşiklere ve özellikle de doğal antioksidanlara ilgiyi artırmıştır. Antioksidan ve anti radikal etkilerinden dolayı bu etkileri gösteren bitkiler son yıllarda yoğun biçimde çalışılmaktadır (Dündar 2001, Teferedegne 2000).

Salvia Miltiorrhiza bitkisinden ekstrakte edilen savianik asitin etkisinin araştırıldığı çalışmada Wang vd. (2005), 5 mmol/kg i.p. olarak uygulanan CCl₄'ün karaciğerde oluşturduğu toksikasyon üzerine savianik asitin antioksidatif mekanizma ile koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Kuzmanova vd. (2004) antosiyaninlerce zengin olan *Aronia melanocarpa* (NFJAM) bitkisinin ratların CCl₄ ile hasara uğratılmış karaciğerlerinde antioksidan etkisine bakılmış. CCl₄ (0,2 mL/kg-1, 2 gün)'e maruz bırakılan ratlarda oluşan, nekroz, yağ asitlerindeki değişim, balonlaşma dejenerasyonu ve santral venler etrafında lenfositlerde oluşan iltihaplanmalar gibi histopatolojik değişimler gözlemlenmiştir. CCl₄ uygulamasına bağlı plazmada, aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) aktivitesinin arttığı, lipit peroksidasyon içeriğinin arttığı ve karaciğerde glutatyon (GSH) seviyesinin düştüğü görülmüştür. NFJAM doza bağımlı olarak rat karaciğerinde nekrotik artışlardaki değişimleri azalttığı ve CCl₄ içeriğinde plazmadaki AST ve ALT artan aktivitesinin durdurmuştur. NFJAM CCl₄ içeren karaciğerde yüksek MDA oluşumunu ve azalan GSH içeriğini önlemiştir (Kuzmanova *et al.* 2004). Pari ve Suresh (2008) kurutulmuş ve toz haline getirilmiş üzüm yaprağının karaciğer ve böbrek hasarlarına karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Etanol ile hasar oluşturulmuş sıçanlarda üzüm yaprağının biyokimyasal parametreleri normal seviyelere düşürdüğünü ve lipit peroksidasyonunu engellediğini göstermişlerdir. Yine histopatolojik çalışmalarda karaciğer ve böbrek dokularının normal bir görünüm sergilediğini açıklamışlardır.

Tablo 19 ve Şekil 52, 53, 54, 55, 56'daki veriler değerlendirildiğinde karaciğerde CCl₄ toksikasyonunun literatürlerde olduğu gibi başarılı bir şekilde oluşturulduğu görülmektedir. Çünkü kontrol gruplarında hiç olmayan ve bu nedenle sıfır kabul edilen lezyon sayısı CCl₄ grubunda fazlasıyla artarak toksikasyonun meydana geldiğini göstermektedir. Karaciğerde CCl₄ toksisitesi oluşturulan negatif kontrol grubu ile tedavi grupları vokuol sayıları karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel fark oluşmadığı görülmektedir. Bununla birlikte toksikasyon sonucu oluşan lezyonların büyüklüğü incelendiğinde 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstre tedavisi uygulanan ratlarda istatistiki düzeyde kabul edilebilecek olumlu farklılıklar oluştuğu görülmektedir. Günlük 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* ekstresi dozunun CCl₄

toksikasyonu sonucu karaciğer hasarı oluşmuş ratlarda lezyon sayısını değiştirmeksizin, lezyon çaplarını küçülterek tedavi edici etkisi olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇ

Ratlarda oksidatif stres oluşturan ve kronik kullanımda karaciğere toksik etkisi bilinen CCl₄'e karşı, *Liquidambar orientalis*'ten elde edilen ekstrelerin karaciğeri koruyucu etkisinin araştırıldığı bu çalışmada şu sonuçlara ulaşılmıştır.

- CCl₄ deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturmada en iyi bilinen ve en sık kullanılan kimyasal maddelerin başında gelir. Karaciğer hasarı oluşturulmasında, insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için bu çalışmada CCl₄ tercih edildi. CCl₄'ün tüm dokularda toksikasyona neden olduğu görüldü. Hasar tüm dokularda özellikle karaciğerde çok belirgin bir şekilde tespit edildi. Karaciğer hasar göstergelerinden AST ve ALT düzeylerinin CCl₄ uygulanan tüm gruplarda belirgin derecede artması hasarın oluştuğunu göstermektedir.
- Çalışma sonunda, çalışma gruplarından elde edilen kan serum örneklerindeki AST ve ALT değerleri tedavi gruplarında, karbontetraklorür alan gruplar ile karşılaştırıldığında, seviyelerinde anlamlı bir oranda düzelme görülmüştür. Özellikle CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan grupta CCl₄ grubuna göre önemli oranda düşüş gözlemlendi.
- Hücre ve dokularda artan MDA lipid peroksidasyonun, lipid peroksidasyonda oksidatif stresin bir belirteci olarak bilinir. MDA düzeyleri sadece CCl₄ uygulanan tüm gruplarda artmıştır. Tedavi gruplarında MDA seviyelerinin CCl₄ uygulanan gruba göre düştüğü gözlenmiştir. Tedavi gruplarında MDA seviyesindeki en fazla azalmanın CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan gruplarda olduğu görülmüştür. Bu nedenle, özellikle yüksek dozda *Liquidambar orientalis*'in MDA düzeylerini azaltarak oksidatif stresi baskıladığını söyleyebiliriz.
- GSH seviyeleri, tüm kan ve dokuların CCl₄ uygulanan gruplarında anlamlı bir şekilde düşmüştür. Bununla birlikte, oksidatif stresi azaltması için GSH'ın kullanılmış olmasından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Tedavi gruplarında GSH düzeylerinin CCl₄ uygulanan gruba göre yükseldiği gözlenmiştir. CCl₄+100 mg/kg *Liquidambar orientalis* ve CCl₄+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* uygulanan gruplarda GSH değerlerinin kan ve beyinde kontrol grubuna yakınlık gösterdiği görülmüştür.
- CCl₄, antioksidan sistemi olumsuz yönde etkileyerek, CAT düzeyini azaltmıştır. CCl₄ uygulanan gruplardaki CAT düzeylerinin kontrol gruplarına göre düşük olduğu bulunmuştur. CCl₄+50 mg/kg *Liquidambar orientalis* ve CCl₄+100 mg/kg *Liquidambar orientalis* gruplarındaki CAT değerlerinin, CCl₄ grubuna göre kan, karaciğer ve beyinde istatistiksel anlamlılıkta olmadığı görülmüştür. CCl₄+100 mg/kg *Liquidambar orientalis*'in CAT değerlerinin, tüm kan ve dokuların CCl₄ gruplarına

göre farklı olduğu görülmüştür. Beyin ve böbrekteki CCl_4+200 mg/kg *Liquidambar orientalis*'teki CAT düzeylerinin kontrol grubuna yakın olduğu görülmüştür.

- Kan, karaciğer ve böbrekte CCl_4 gruplarındaki GPx seviyeleri kontrol gruplarına göre düşük bulunmuştur. Yalnız beyinde istatistikî bir fark bulunmamıştır. Kan, beyin ve böbreğin tedavi gruplarında ($\text{CCl}_4+Liquidambar orientalis$), CCl_4 grubuna göre bir yükselme gözlenirken, karaciğerde düşme gözlenmiş ve sabit kalmıştır.
- CCl_4 gruplarındaki NO seviyeleri, kontrol gruplarına göre kan ve tüm dokularda yükselmiştir. Özellikle böbrekteki NO seviyesinin daha fazla yükseldiği görülmüştür. Kanda, CCl_4+50 mg/kg *Liquidambar orientalis* grubundaki NO seviyesinin kontrol grubuna yakınlık gösterdiği görülmüştür. Diğer tedavi gruplarında daha fazla azalmıştır. Beyinde CCl_4+100 mg/kg *Liquidambar orientalis* grubundaki NO seviyesi kontrol grubuna yakınlık göstermiştir. Tedavi gruplarının tümünde NO seviyesinin CCl_4 gruplarına göre anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür. Yalnız karaciğerde CCl_4+200 mg/kg *Liquidambar orientalis* grubunda CCl_4 grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmiştir.
- 200 mg/kg *Liquidambar orientalis* dozunun CCl_4 toksikasyonu sonucu karaciğer hasarı oluşmuş ratlarda lezyon çaplarını küçülterek tedavi edici etkisi olduğu belirlenmiştir.

Liquidambar orientalis'in CCl_4 ile karaciğerde oluşturulan oksidatif hasar üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada; *Liquidambar orientalis*'in oksidatif stresi baskılayıp antioksidan sistemi güçlendirdiği, özellikle artan dozlarda elde edilen sonuçların daha etkili olduğu görülmüştür. *Liquidambar orientalis*'in karaciğer hasarını tedavi etmek veya hasara karşı korumak amacıyla insanlar üzerinde faydalı olabileceği, karaciğer, böbrek ve beyin hastalıklarının klinik tedavisinde destekleyici olarak değerlendirilebileceği ve yardımcı tedaviler arasına girebileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Aboutwerat, A., Pemberton, P.W., Smith, A., *et al.* (2003). Oxidant Stress is a Significant Feature of Primary Biliary Cirrhosis. *Biochim Biophys Acta.* **1637**, 142-150.
- Acar, M.İ., Gemici, Y., Genç, A., Özel, N. (1993). Anadolu Sığıla (*Liquidambar orientalis* Mill.) Ormanlarının ve Günümüzdeki Durumu. 2. Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorunları Sempozyumu. Türk-Alman Kültür İşleri Kurulu Yayın Dizisi No: 3 Ankara.
- Acan NL, Tezcan EF (1995) Inhibition kinetics of sheep brain glutathione reductase by cadmium ion, *Biochem Mol Med*, **54**: 33- 37.
- Acatay, A. (1963). Sığıla Ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.)'nın Türkiye'de Yayılışı, Yeni Tespit Edilen *L. orientalis* var. Suber Varyetesi ve Sığıla Ağaçlarına Musallat Böcekler, İ.Ü. Orm. Fak. Dergisi, Seri A, cilt XIII (2), s. 40–57.
- Aebi H., (1984) Catalase in Methots in *Enzymology* 105, L. Packer (Ed), Academic Press, Orlando, 121-126.
- Afanas'ev, İ.B. (2007). Signaling functions of free radicals superoxide&nitric oxide under physiological&pathological conditions. *Mol. Biotechnol.*; **37**: 2–4.
- Agar, N. S., Sadrzadeh, S. M. H., Hallaway, P. E., Eaton, J. W. (1986). Erythrocyte catalase: a somatic oxidant defense? *J. Clin. Invest.* **77**: 319-321.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı, Mimoza Yayınları, 1-60.
- Aklan, H. (1988). Gastroenteroloji, Fizyoloji, Semptomlar. Klinik Makro Yayıncılık, Ankara, 245-320.
- Aktay, G., Deliorman, D.; Ergun, E.; Ergun, F.; Yeşilada, E. & Çevik, C. (2000). Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 73, pp. 121–129, ISSN 0378-8741
- Albano, E. (2002). Free Radical Mechanisms in İmmune Reactions Associated with Alcoholic Liver Disease. *Free Radic Biol Med. Review* **15**, **32** (2), 110-114.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**: 7915-7922.
- Andreoli, T.E., Bennett, J.C., Carpenter, J.C. (1995). Sarılık, bilirubin metabolizması bölüm 40: Cecil Essentials Of Medicine 3rd ed. 323.

- Aneja, R. and Upadhyaya, G. (2005). Amelio rating effect of Phtoestrogens on CCl₄-induced oxidative stres in the livers of male wistar rats, *Artificial Cells, Blood substitues and Biotechnology*, 201-213.
- Arii, S., Monden, K., Hai, S., Sasaoki, T., Adachi, Y., Funaki, N., Higashitsuji, H.,Tobr, T. (1990), Depressed function of kupffer cells in rats with CCl₄ induced liver cirrhosis, *Res. Exp. Med.*; **190**: 173-182.
- Aslan, Diler. and Tietz, M. (2005). ”Klinik Kimyada Temel İlkeler”, Beşinci Baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, 748-760.
- Aslan, R. and DüNDAR, Y. (1998). Bir fizyolojik eleman ve radikal olarak azot oksit. *Hay. Araş. Derg.* **8**: 34-38.
- Atay, I. (1985). Sığla Ağacının (*Liquidambar Orientalis Mill*) önemi ve Silvikültürel Özellikleri. *GÜ. Orman Fakültesi Dergisi.*, **35**, 15-21.
- Aust, S.D., Morehouse, L.A., Thomas, C.E. (1985). Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Rad. Biol. Med.* **1**: 3-25.
- Aybey, B., Tufan, H., Ergenekon, G. (1996). Serbest Radikaller. *Türk Derm.* 30.
- Aytekin, Y. and Solakoğlu, S. (2006). Temel Histoloji, sayfa:332-347.
- Bacon, B.R., Tavill, A.S., Brittenham, G.M., Park, C.H., Recknagel, R.O. (1983). Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. *J Clin Invest.* **71**: 429-439.
- Bahçecioğlu, İ.H., Üstündağ, B., Özercan, İ.H., *et al.* (1999). Protective effect of Ginkgo Biloba extract on CCl₄-induced liver damage, *Hepatology Research* **15**: 215-224, 1999.
- Baytop, T. (1980). *Farmakognozi*, İ.Ü.Yayınları 2783, İstanbul.
- Berkel, A. (1955). Sığla ağacı (*Liquidambar orientalis Mill.*) Odununun Mikroskopik Özellikleri ve Anatomik Strüktürü Hakkında Araştırmalar, *İ.Ü. Orm. Fak. Dergisi*, cilt 5, sayı 1-2, s. 1-18.
- Bildik, A., Ertekin, A, Yur F, Dede, S. (1999), Karbon tetraklorür toksikasyonunun lipit peroksidasyonu, glutatyon ve vit C üzerine etkileri. Serbest Radikaller ve Antioksidantlar Araştırma Derneği II. Ulusal Kongresi.
- Bissel, D.M. and Maher, J.J. (1996). Hepatik Fibrosis and Cirrhosis, Zakim D, Boyer T.D. (Ed.) *A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 506.

- Bjorneboe, A., et al. (1990), Absorption, transport and distribution of vitamin E. *European Journal of Nutrition*; **120**:233-242
- Boll, M., Weber, L.W.D., Becker, E., Stampfl, A. (2001). Mechanism of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites. *Z Naturforsch.* **56**: 649- 659.
- Boya, P, De La Pena, A, Beloqui, O, Larrea, E, Conchillo, M, Castelruiz, Y, Civeira, M-P & Prieto, J. (1999). Antioxidant status and glutathione metabolism in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology* **31**:808–814.
- Boyunağa, H. and Çelik, C. (1996). Serbest Radikaller ve Hücre Sel Denge, *Bilim Teknik Dergisi*, **347**: 98-100.
- Brattin, W.J., Glende, E.A., Recknagel, R.O. (1985). Pathological mechanism in carbontetrachloride hepatotoxicity. *J Free Rad. Bioli Med.* **1**: 27-28.
- Brown, G.C. (1995), Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase. *FEBS Lett* **69**:136–139
- Buetler, E., Dupon O., Kelly B.M., (1963) Improved Method for The Determination of Blood Glutathione. *J. Lab. Clin.Med.*, Vol 61, 882-888.
- Bulky, G.B. (1993). Free Radicals and Other Reactive Oxygen Metabolites. Clinical Relevance and the Therapeutic Efficacy of Antioxidant Therapy. *Surgery* **113**, 479-483.
- Burtis, C., Ashwood, E.R. (1999). “Textbook of Clinical Chemistry”, W.B. Saunders Company, (3rd Edition), Philadelphia, London, Toronto, 1125-1177.
- Cemek, M., Yılmaz, F., Büyükkuroğlu, M.E., Büyükben, A., Aymelek, F., Ayaz, A. (2012). Serum and liver tissue bio-element levels, and antioxidant enzyme activities in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Protective effects of royal jelly, *J Med Food*, Vol. 15, Issue 8, pp. 747-52.
- Champe, R.A., Harvey R. A. and Ferrier D.R., (2007), *Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri LTD.ŞTİ*, 248-249 s.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry, *Brit. Med. Bulletin*, **149**: 481-493.
- Chisari, F. (1997). Cytotoxic T-Cells and Viral Hepatitis. *Journal Clin. Investig.* **99**, 1472-1477.

- Chrobot, AM., Szaflarska-Szczepanik, A., Drewa, G. (2000) *Med Sci Monit* **6**: 713–718.
- Clarkson, P. M., and Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *Am. J. Clin. Nutr.* **72** (Suppl. 2), 637S–646S.
- Comporti, M. (1985). Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* **53**: 599-623
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., *et. al.* (1987). Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med.* **107**: pp. 526-545.
- Czuczejko, J., Zochara, B., Topczewska, E., Halota, W., Kedziora, J., (2003). Selenium, Gluathione And Glutathione Peroxidase In Blood Of Patients With Chronic Liver Diseases. *Apta Biochimica Polonica* Vol. **50** No. 4/2003
- Cuciureanu, M., Caruntu, I.D., Paduraruc, O., Stoicac, B., Jercac, L., Crauciuca, E., Nechifor, M., (2009), The protective effect of montelukast sodium on carbon tetrachloride induced hepatopathy in rat, *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, **88**, 82-88 p.
- Çakaloğlu, Y. (2001). Kronik hepatit, Ökten A (ed), Gastroenterohepatoloji, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. İstanbul, 387-399.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T. (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz Ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal Of The Turkish Nephrology, association*, **3-4**: 92-95, s.
- Dashti, H.M., Al Sayer, H., Behbehani, A., Madda, J., Christenson, J.T. (1992), Liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride and the effect of superoxide dismutase and xantine oxidase inhibitor treatment, *J R Coll. Surg., Edinburgh*; **37**:23-28.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University, Edinburgh.
- DeArtinano, A.A. and Gonzalez, V.L. (1999). Endothelial dysfunction and hypertensive vasoconstriction. *Pharmacol Res.* Aug; **40**(2):113-24.
- Demirci, U. (2006). Karaciğer Hastalıklarında Vasküler Endotel Büyüme Faktör (Vascular Endothelial Growth Factor, Vegf.) Düzeyleri. 17.
- Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H. (1991). Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**; 194-200
- Dolar, E. (2002). Klinik Karaciğer Hastalıkları. Bölüm 4, 1.Baskı, Nobel&Güneş Tıp

Kitabevi, 133-146.

- Dünder Y., (2001) Fitokimyasallar ve Sağlıklı Yaşam. Kocatepe Tıp Dergisi.2, 131-138.
- Dünder, Y., Aslan, R. (2000). “Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar”, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon.
- Dursun, N. (2001). “Veteriner Anatomi II”, Medisan Yayınevi, Ankara, 7.Baskı, 63-70.
- Duru, M.E., Cakir, A., Harmandar, M., (2002). Composition Of The Volatile Oils Isolated From The Leaves Of *Liquidambar orientalis* Mill. Var. *orientalis* And *L.orientalis* Var. *Integrilba* From Turkey Flavour And Fragrance Journal *Flavour Fragr. J.*; **17**: 95–98
- Duru, M.E., Öztürk, M., (2006). Muğla Yöresinde Endemik Olarak Yetişen Tıbbi ve Aromatik Özellik Gösteren Bazı Bitki Türlerinin Kimyasal Bileşimlerinin Karakterizasyonu, Bileşenlerin Antimikrobiyolojik ve Antioksidatif Etkilerinin Belirlenmesi, DPT 102T256.
- Duru, M.E., Tel, G., Öztürk, M., Zengin, E., Erener, G., (2011). “Tyrosinase and Urease Inhibitory Activities of *Liquidambar orientalis* Mill. with Antioxidant Activity” 1st International Symposium on Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties, 11-15 September, Denizli, Turkey.
- Efe, A. (1986). “*Liquidambar orientalis*’in morfolojik ve palinolojik özellikleri üzerine araştırmalar.” İst. Univ. Orm. Fak. Derg. Seri A, 37, 2.
- Engin, A., Altan, N., Işık E. (2005). Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism, *Drugs R D*, **6**(1), 35-40.
- Erbengi, T. (1996). Histoloji 2, Beta Basım Yayım Dağıtım A.S.; 99-121.
- Erdoğan, E., Kaya, A., Rağbetli, M.C., Ozbek, H., Cengiz, N. (2004). Anason (*Pimpinella anisum*) Ekstresinin Deneysel Akut Karaciğer Hasarında Karaciğer Koruyucu Etkisi Var mı? *Van Tıp Dergisi*, **11** (3):69-74.
- Ersoy, A. and Dilek, K. (1999). Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Derg.* **1**: 1-4.
- Fahmy SR, Hamdi SAH, Abdel-Salam AS (2009). Curative effect of dietary freshwater and marine crustacean extracts on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *Austr. J. Basic Appl. Sci.* **3**(3):2118-2129

- Fairbank, V.F., Klee, G.G. (1987), Biochemical aspect of hematology, fundamentals of clinical chemistry: 803-804.
- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition, *Nutrition*, **18**: 872-879.
- Farrell, G.C. (1998). Liver Disease Caused by Drugs, Anesthetics and Toxins, "Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease" 2. cilt, Feldman, M., Sleisenger, M.H., (Editörler), WB Saunders Company, Pennsylvania, Philadelphia.
- Fenton, H.J.H. (1876). On a new reaction of tartaric acid. *Hem News*, **33**; 190.
- Fenton, H.J.H. (1894). The oxidation of tartaric in the presence of iron. *J Chem Soc Proc.* **10**: 157-158.
- Fenton, H.J.H. (1896). Constitution of a new dibasic acid, resulting from the oxidation of tartaric acid. *J Chem Soc Trans.* **69**: 546-562.
- Fiorucci, S., Antonelli, E., Morelli, O., Mencarelli, A., Casini, A., Mello, T., Palazzetti, B., Tallet, D., Soldato, P., Morelli, A. (2001). NCX-1000, a NO-Releasing Derivate of Ursodeoxycholic Acid, Selectively Delivers NO to the Liver and Protects against Development of Portal Hypertension. *Physiology*; **98**:8897-8902.
- Flohe, L., Giertz, H., Beckmann, R., (1985), "Free radical scavengers as antiinflammatory drugs In Handbook of Inflammation", Vol 5: The Pharmacology of Inflammation. IL Bonta, Ma Bray, MJ Parnham (eds). Amsterdam, Elsevier, pp.255-281.
- Foulis, P.R., Sandrof, B.H., Gottfried, M. (1988). Drug induced morphologic changes in the liver. *Ann Clin Lab Sci.* **18**: 215-228
- Frank, J., (2005). Vitamin E supplementation an alternative strategy to improve vitamin E status. *Journal Plant Physiol.*, **162**, 834 -843.
- Freeman, B.A., Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*; **47**: 412-426.
- Frei, B. (1994). Reactive oxgen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action., *The American Journal of Medicine*, **97**(Suppl 3A),26,3A-5S-3A-12S.
- Fridovich, I. (2001). Oxidative Stres. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group.

- Friedman, S.L., (2004). Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.* **1**, 98–105.
- Gochee, P.A., Johnsson, J.R., Clouston, A.D., *et al.* (2003). Steatozsis in Chronic Hepatitis C: Association with increased Messenger RNA Expression of CollagenI, Tumor Necrosis Factor-Alpha And Cytochrome P450 2E1. *J Gastroenterol Hepatology.* **18**, 386-392
- Göker, B., Özmen, R. (2009), Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) Yaprağı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi, FÜTD,Cilt 23, Sayı 2, Sayfa(lar) 077-080
- Grizzi, F., Franceschini, B., Gagliano, N., *et al* (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, no 2,2003: 173–178.
- Groot, H. (1994). Reactive oxygen species in tissue injury, *Hepato gastroenterology.* **41**: 328-332, 1994.
- Guarner, C., Sorino, G., Tomas, A., Bulbena, O., Novella, M.T., Balanzo, J., Vilardell, F., Mourelle, M., Moncada S. (1993). Increased Serum Nitrate and Nitrite Levels in Patients with Cirrhosis; Relationship to Endotoxemia. *Hepatology.* **18**:1139-1143.
- Gupta, T.K., Toruner, M., Chung, M.K., Groszmann, R.J. (1998). Endothelial Dysfunction and Decreased Production of Nitric Oxide in the Intrahepatic Microcirculation of Cirrhotic Rats. *Hepatology.* **28**: 926-931.
- Gutteridge, J.M.C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinic Chemistry*, **41/12**: 1819-1828.
- Guyton, A.C. (1991). *Textbook of Medical Physiology.* Eighth., W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Gürün, M.S., 2004. *Ankem Dergisi* 18. Cilt. (2) ss. 133-136.
- Güzel, C. (1996). Bir organ olarak karaciğer, "Tıbbi Fizyoloji", (Guyton and Hall Textbook of medical Physiology), Çavuşoğlu H., (çeviri editörü), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, Sayfa 884.
- Hafizoğlu, H., Reunanen, M., İstek, A. (1996). Chemical Constituents of Balsam From *Liquidambar orientalis*, *Holzforshung*, ISSN 0018-3830, Vol 50, No: 2

- Hajieva, P., Behl, C. (2006). Antioxidants as a potential therapy against age-related neurodegenerative diseases: amyloid Beta toxicity and Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des.* **12**(6): 699-704.
- Halliwell, B. (1991). Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*; **91** (Supp 3C):14-22.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease, *Annu. Rev. Nutr.*, **16**: 33-50,
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2001). *Free Radicals in biology and medicine*, Third edition, 22-24.
- Haris, E.D. (1992), Regulation of antioxidant enzymes, *Faseb. J.*,; **6**: 2675-2683.
- Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2003). Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins, *Amino Acids*, **25**: 259-274.
- Hooper, C. (1989). Free radicals: research on biochemical bad boys comes of age. *J Natl. Ins. Health Re.* **1**: 101-106.
- Hoerner, M., Behrens, U.J., Worner, T., Lieber, C.S. (1986). Humoral Immune Response to Acetaldehyde Adducts in Alcoholic Patients. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* **54** (1), 3-12.
- Hsiao, G., Lin, YH., Lin, CH., Chou, DS., Lin, WC., Sheu JR. (2001). The protective effects of PMC against chronic carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in vivo. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*; **24**(11): 1271-1276.
- Hung-Hai, K., Brunk, U.T., Sohal, R.S. (1993). Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Rad. Biol. Med.* **15**: 621-627.
- İstek, A. (1994). Sığla Yağı (Storax)'nın Kimyasal Bileşenleri, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- İstek, A., Hafizoğlu, H. (2004). Sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.) odununun anatomik özelliklerinin belirlenmesi. *Bartın Or. Fak.Dergisi*, Sayı:1.
- Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossman, B.T. (1993). Biology Of Disease, Cell and Tissue Responses to Oxidative Damage. *Lab. Invest.* **69**, 261-274.
- Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A.I., Hinson, J.A., et al. (2002). Mechanisms of Hepatotoxicity Review. *Toxicol Sci.* **65** (2), 166-176.

- Jaffrey, S., Snyder, S. (1995). Nitric oxide: a neural messenger. *Annual Review Cell Dev. Biology*
- Jain, S., Mc, Vie, R., Duett, J., *et al.* (1989). Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidase and Glycolylated Hemoglobin in Diabets. *Diabetes*, **38**, 1539-1543.
- Janakat, S., and Al-Merie, H. (2002) Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana gluaca*. *J. of Ethnopharmacology*. **83**:135-138.
- Jeon, Tae, I.L., Hwang, S.G., Park, N.G., *et al.* (2003). Antioxidative effect of Chitosan on chronic con tetrachloride induced hepatic injury in rats, *Toxicology*, **187**:67-73.
- Jeong, T.C., Kim, H.J., Park, J., Ha, C.S., *et al.* (1996). Protective effects of red ginseng saponins against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in sprague dawley rats, *Planta Med.*, **63**: 136-140.
- Jerry, P., Liu, L., Zeng, M., Stamler, J.S. (2000). An apoptotic model for nitrosative stress, *Biochemistry*, **39**: 1040-1047.
- Jick, H., Walker, A.M., Porter, J. (1981). Drug-induced liver disease. *J Clin Pharmacol.* **21**: 359-364
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1998). *Temel Histoloji*; Barış Kitapçılık, **15**:307-319.
- Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2003). “Basic histology”, 10 ed lange USA.
- Hall, L., Williams, K., Perry, A.C.F, Frayne J, Jury J.A. (1998), The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced : implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. *Biochem J*;**333**:5-9.
- Handa, S.S., Sharma, A., (1990). Hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata* against carbontetrachloride. *Indian J Med Res [B]* **92**, 276-283.
- Ichinose, T., Hanaki, K., Matsuo, T., (1994). Analyses on geo-graphical distribution of urban anthropogenic heat based on very precise geographical information. *Proceedings of Envir-onmental Engineering Research*, **31**, 263-273
- İlhan, N., ve Seçkin D., (2005). Protective Effect Of Nigella Sativa Seeds On CCl₄-Induced Hepatotoxicity.F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi **19** (3): Ss. 175-179.
- Kalaycıoğlu, A. and Öner, C. (1994). Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutagenik

- Etkilerinin Ames Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması, **18**: ss. 117-122.
- Kaplan, L.A., Pesce, J.A., Kazmiercza, S.C. (2003). *Clinical Chemistry, Theory, Analysis, Correlation*. Mosby. Cincinnati. 493-497
- Kaplowitz, N., Aw, T.Y., Simon, F.R. (1986). Drug induced hepatotoxicity. *Ann Intern Med*, **104**: 826-839
- Karabulut, A.B., (2001), "Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri", doktora tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Malatya.
- Kasper, Braunwald, Fauci, et al. (2004), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16 th Edition, McGraw-Hill Companies, 1858-1859.
- Kaya, Z. ve Alan, M. (2003). "Euforgen Technical Guidelines for genetic conservation and use for oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*)".
- Kayalı, H. (1992). *Özel Histoloji; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi*. 140-151.
- Kayaalp, O. (1991). *Tıbbi Farmakoloji, 1.Cilt*, Feryal Matbaacılık, Ankara.
- Kılınç, K., Kılınç, A. (2002). "Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri", *Hacettepe Tıp dergisi*, **33**: 110-118.
- Kidd, PM. (1997), Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Alternative Medicine Reviews*; **2**: 155-176.
- Kontos, H.A., Wei, E.P., Ellis, E.F., Jenkins, L.W., Povlishock, J.T., Rowe, G.T., Hess, M.L. (1985). Appearance of superoxideanion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ. Res.* **57**: 142-151
- Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. (1994). *Temel Patoloji*. Çevikbaş U. (Ed.), *Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Sti.* (2. Baskı), İstanbul, 545-550.
- Kurata, M., Suzuki, M. and Takeda, K. (1993) Differences in levels of erythrocyte glutathione and its metabolizing enzyme activities among primates. *Comp. Biochem. Physiol.* **104B**, 169-171.
- Kurt, H., Başaran, A., Aral, E. (2005). Sıçanlarda karbon tetraklorit'in oluşturduğu oksidatif stresin ikopen ile önlenmesi, *Türkiye Klinikleri, Journal of Medical science*, **25**, 167-173 s
- Kuzmanova, V.S., Borisova, P., Galunska, B., Krasnaliev, I., Belcheva, A. (2004). *Experimental and Toxicologic Pathology*, **56**, 195-201.
- Lee, M.G., Hanchard, B., Williams, N.P. (1989). Drug-induced acute liver disease.

Postgrad Med J. **65**: 367-370

- Lee, KJ., Choi, JH., Kim, HG., Han, EH., Hwang, YP., Lee, YC., Chung, YC., Jeong HG. (2008), "Protective effect of saponins derived from the roots of *Platycodon grandiflorum* against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity". *Food and Chemical toxicology*, **46**: 1778- 1785.
- Lee, H.S., Jung, K.H., Park, I.S., Kwon, S.W., Lee, D.H. and Hong, S.S. (2009). Protective effect of morin on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Digestive Diseases Sciences.*, Vol. **54(4)**, pp. 782-788.
- Lieber, C. (1995). *Metabolism of Alcohol an Update in Alcoholic Liver Disease. Pathology and Pathogenesis*, 2nd Edt, Hall, P.Ed., Edward Arnold, London, 17–40.
- Lieber, C.S. (2004). Alcoholic Fatty Liver: Its Pathogenesis and Mechanism of Progression to Inflammation and Fibrosis Review. *Alcohol*. **34** (1), 9-19.
- Liebert, J., Matlawska, I., Bylka, W., Murias, M. (2005), Protective effect of *aquilegia vulgaris* on APAP induced oxidative stress in rats, *J. Ethnopharm.*; **97**: 351-358.
- Lindi. C., Montorfano, G., Marciani, P. (1998). Rat Erythrocyte Susceptibility to Lipid Peroxidation After Chronic Ethanol Intake. *Alcohol*. **16** (4), 311-316.
- Liu, J., Li, C., Waalkes, M.P., et al. (2003). The Nitric Oxide Donor, VPYRRO/NO Protects Against Acetaminophen Induced Hepato-Toxicity in Mice. *Hepatology* **37**, 324-333.
- Liu, H., Harrell, LE., Shenvi, S., Hagen, T., Liu, RM. (2005); Gender differences in glutathione metabolism in Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Res.* **79**:861–867.
- Liu J., Tan H., Sun Y., Zhou S., Cao J., Wang F., (2009), "The preventive effect of heparin-superoxide dismutase on carbim tetrachloride-induced acute liver failure and hepatic fibrosis in mice", *Mol Cell Biochem*, DOI, 009-0060-2.
- Lumeng, L., Crabb, D.W. (1994). Genetic Aspects and Risk Factors in Alcoholism and Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology Review*. **107** (2), 572-578.
- Lunec, J., Blake, D., (1990). Oxygen Free Radicals. Their Relevance to Disease Processes. In, *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*, London, UK, 189-212.

- MacDonald-Wicks, L.K., M.L. Garg (2003). Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *J. Nutr. Biochem.* **14(4)**:211-8.
- Mahoney, F.J. (1999). Update On Diagnosis, Management and Prevention Of Hepatitis B Infection. *Clinical Microbiology Reviews.* **12** (2), 351-366.
- Manda K., Bhatia A.L. (2003), Prophylactic action of melatonin against cyclophosphamide-induced oxidative stress in mice. *Cell Biology and Toxicology*; **19**: 367-372.
- Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. (2007). Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* **25**: 185-209.
- Marin, J. and Martinez, M.A. (1997). Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions, *Pharmacol Ther.* **75(2)**:111-34.
- Masaiki, N., Yamada, S., Orgata, I., Ohta, Y. and Fujiwara, K. (1988). Enhancement of Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury by Glucagon and Insulin Treatment. *Res Exp.Med.*, **188**: pp. 27-33.
- Matés, J.M., Pérez-Gómez, C. ve Núñez de Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, **32**, 595-603.
- McCord, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postsystemic tissue injury. *The New England J. Med.* **312**: 159-163.
- McIntyre, M., Bohr, D.F., Dominiczak, A.F. (1999). Endothelial function in hypertension. *Hypertension.* **34**: 539–545.
- Meister A, Anderson ME. (1983), Glutathione. *Annu Rev Biochem*;52:711-760.
- Memik, F., Dolar, E. (2005). Karaciğer Sirozu. *Klinik Gastroenteroloji, Nobel&Güneş Tıp Kitapevleri*, 626-633.
- Memişoğulları, R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *DicleTıp Fakültesi Dergisi.* **3**: 30-39.
- Miranda K.,M., Espey MG, Wink DA. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*;5:62-71.
- Montgomery, R. (1996). “Biochemistry a case-oriented Approach 6th edition”, Mosby-Year book, **5**: 203-204.
- Moreira, R.K. (2007). Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Arch Pathol Lab*

- Med;**131**: 1728-1734.
- Morris, J.R., Cawthon, D.L. (1982). *American Journal of Enology and Viticulture*, **33**, 145-148.
- Muriel, P., Escobar, Y. (2003). Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride, *Journal of Applied Toxicology*, **23** (2):103-108.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P., Rodwell, V. (2004). *Harper Biyokimya*, 25. Baskı, NobelTıp Kitapevleri, **53**: 647-649.
- Natarajan, S.K., Thomas, S., Ramamoorthy, P., Basivireddy, J., Pulimood, A.B., Ramachandran, A., Balasubramanian, K.A., (2006), Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: A comparison of two different experimental models, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **21**, 947-957 p.
- Nathan, C. and Xie, Q. (1994), Regulation of Biosynthesis of Nitric Oxide, the journal of biological chemist, Vol. 269, No. 19, Issue of May 13, 13725-13728,
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2004, "Lehninger principles of biochemistry", Fourth Edition, W.H. Freeman&Company Faculty of Agriculture, Tamagawa University No.**25**, 13-22.
- Nordberg, J., Arner, E.S.J. (2001). Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, **31**(11): 1287-1317
- Noyan, T., Kömüroglu, U., Bayram, İ. , Sekeroglu, M.R., (2006), Comparison of the effects of melatonin and pentoxifylline on carbon tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *Cell Biology and Toxicology*, **22**, 381-391 p.
- O'Grady, J.O., Schalm, S.W., Williams, R. (1993). Acute Liver Failure: Redefining The Syndromes. *Lancet*, **342**, 273-275.
- Ökten, A. (2001). Karaciğerin Fonksiyonel Anatomisi Gastroenterohepatoloji. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, 311-314.
- Ökten, A. (1998). Türkiye’de Karaciğer Sirozunun Etyolojisi. Hepotolojide Güncel Gelişmeler Sempozyum Kitabı, 67.30.
- Önal, S., Özer, S. (1985). Ülkemizdeki Sığla Yağı üretimi ve Değerlendirilmesindeki Sorunlar. Orman Ürünleri Endüstri Kongresi (ORENKO). Trabzon.
- Örtel., E., (1988) Sığla ormanlarımızın durumu. Orm. Arşt. Enst. Derg. cilt 34, sayı 2,

no:68, Ankara.

- Özcan, M., Özkan, G., Özçelik S., Sağdıç, O. (2005). A study on inhibitory effect of sığla tree (liquidambar orientalis mill. Var. Orientalis) storax againts several bacteria. *Phytother.Res.* **19**:549-551
- Özdener, H., Çelik, C., (1993), Vitamin C'nin metabolik ve klinik önemi, yeni yaklaşımlar. *T Klin Tıp Bilimleri*,; **13**: 200-10.
- Özdil, B. (2008). *Kronik Hepatit ve Sirozlu Vakalarda COX-2 Gen Polimorfizminin Fibrozis Gelişimindeki Önemi*, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Adana.
- Özeki, T., Funakoshi, K. and Lwaki, K. (1985). Rapid Induction of Chirrosis By Administration Of Carbon-Tetrachloride Plus Phospholipase D., *British Journal of Experimental Pathology*, **66**: Pp. 385-390.
- Özkan, A., Fışkın, K., (2004), Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi.*; **14**:52-60
- Padma, P.R. (2009); Umadevi, M. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 702-179.
- Paglia DE, Valentine WN, (1967), : Studies on the quantitative and qual-itative characterization of erythrocyte glutathione peroxi-dase. *Lab Clin Med*, **70**:158-169.
- Palomino, O., Gomez-Serranillos, M.P., Slowing, K., Carretero, E., Villar, A. (2000). *Journal of Chromatography*, **870**, 449-451.
- Pari, L., Suresh, A. (2008). *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 1627-1634.
- Pope, A.M., Rall, D.P. (1995). Enviromental Medicine: Integrating a missing element in tomedical education, case study 8: Carbon tetrachloride, *US National Academy Pres*: 249-266.
- Paquet, KJ, Kamphausen, U. (1975), The carbon-tetrachloride- hepatotoxicity as a model of liver damage. First report: Long-time biochemical changes. *Acta Hepatogastroenterol (Stuttg)*; **22**: 84-88.
- Porter, N.A. (1998). "Chemistry of lipid peroxidation", *Methods Enzymol.***105**: 273-282.
- Powers, S.K., Leeuwenburgh, C. (1999), Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity, *Med. Sci. Sports. Exerc.*; **31**: 987-997.
- Proctor, E., Chatamra, K. (1982). High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology*; **83**: 1183-1190.

- Recknagel, R.O., Glende, E.A., Dolak, J.A., Waller, R.L. (1989). Mechanism of carbontetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther.*, **43**: 139-154.
- Ribeiro, J. M. C., Hazzard, J. M. H., Nussenzveig, R. H., Champagne, D. E. Andwalker, F. A. (1993). Reversible Binding of nitric oxide by a salivary heme protein from a blood-sucking insect. *Science* 260, 539–541.
- Ricci, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Fraternali, D. (2006). *Fitoterapia*, **77**, 310–312.
- Richardson, J.S. (1991). Oxygen Free Radicals and Brain Dysfunction. *Inter J. Neuroscience*, **57**, 1-17.
- Rikans, L.F., Hornbrook, K.R. and Cai, Y. (1994). Carbon tetrachloride hepatotoxicity as a function of age in female fischer 344 rats, *Mechanisms of Ageing and Development*, **20**, 89-9 p.
- Rio, D.D., Stewart, A.J., Pellegrini, N.A. (2005). review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease*, **15**: 316-328.
- Ripine, J.E., Bast, A. (1997). Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am j Respir Crit Care Med.*, **156**, 341-347.
- Riordan, S.M., Williams, R. (1999). Cause and Prognosis in Acute Liver Failure. *Liver Transpl. Surg.*, **5**, 86-89.
- Robbins, K.C. (2000). Ed: Çevikbaş, U. Basic Pathology (Temel Patoloji), 6. Baskı, 517-555s.
- Robison, T.W., Murphy, J.K., Beyer, L.L., Richters, A., Forman, H.J. (1993). Depression of stimulated arachidonate metabolism and superoxide production in rat alveolar macrophages following in vivo exposure to 0,5 ppm NO₂. *J Toxicol Environ Health*. **38**: 273-92.
- Rosalki, SB., McIntyre, N, (1999). Biochemical investigations in the management of liver disease. *Oxford Textbook of clinical Hepatology*, New York: Oxford University Press, 2nd Edition, pp. 503–521.
- Ross, H.M., Romrell, L.J. (1995) “KAYE GI Histology”, 3 ed lippincott Williams and Wilkins, Newyork.
- Saidani Tounsia, M., Ouergemmi, I., Wannes, W.A., Ksouri, H.Z., Marzouk, B., Kchouk, M.E. (2009) . *Industrial Crops and Products*, **30**, 292–296.
- Sambath, R, Sivakumar, T, Sivakumar, P, Nethaji, R, Vijayabasker, M, Perumal, P,

- Malaya, Gupta, Upal, Kanti Mazumder, (2005). Hepatoprotective and in vivo antioksidant effects of *Careya arborea* against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*; 1(4): 418-424.
- Schauer, R.J., Gerbes, L.A., Vonier, D., et al. (2003). Induction Of Cellular Resistance Against Kuppfer Cell-Derived Oxidant Stress, A Novel Concept of Hepatoprotection by İschemic Preconditioning. *Hepatology*, **37**, 286-295.
- Scheibmeir, H.D., Christensen, K., Whitaker, S.H., Jegaethesan, J., Clancy, R., Pierce, J.D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *IntensiveCrit Care Nurs*, **21**: 24-28.
- Sedat, B. (2011). Karaciğeri Rejenere Olan ve Olmayan Sıçanlarda CCl₄ İle İndüklenen Akut Karaciğer Hasarı ve N-Asetil Sisteinin Koruyucu Etkisi, Doktora Tezi, Malatya.
- Seifried, H.E., Anderson, D.E., Sorkin, B.C., Costello, R.B. (2004). Free Radicals: The Pros and Cons of Antioxidants. *J. Nutr.*; **134**: 3143–3163.
- 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.
- Shibamoto, T. (2006). Analytical methods for trace levels of reactive carbonyl compounds formed in lipid peroxidation systems. *J Pharm Biomed Anal.*; **41**(1): 12-25.
- Shimizu, I. (2003), Impact of estrogens on the progression of liver disease, *Liver International*; **23** (1): 63-69.
- Sinclair, A. J., Barnett, A. H. and Junec, J. (1990). Free Radicals and Antioxidant Systems İn Health and Disease. *British J. Hosp. Med.*, **43**: Pp. 334-344.
- Sies, H. (1993). “Strategies of antioxidant defense”, *Euro J. Biochem*, **215**: 213-219.
- Sies H., (1999), Glutathione and Its Role in Cellular Functions. *Free Radical Biology and Medicine.* ; **27**: 916-921.
- Southorn, P.A. (1988). Free radicals in medicine. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*; **63**: 381-9.
- Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., Guizzardi, S., Renzulli, C., Guerra, M.C., (2003), Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints, *Journal of Ethnopharmacology*, **86**, 203-211 p.

- Sterling, R.K., Shiftman, M.L. (1999). Fulminant Hepatic Failure, Clinical Practice of Gastroenterology. Philadelphia, *Current Medicine Tnc*, 1010-1018.
- Stricker, B.H.C., Blok, APR., Desmet V.J. (1992). Pathology of drug-induced hepatic injury. In Stricker BHC, ed: Drug-induced hepatic injury, ed 2, *Elsevier Science Publishers*, Amsterdam.
- Sun, F., Hamagawa, E., Tsutsui, C., et al., (2001) Evaluation of Oxidative Stress During Apoptosis and Necrosis Caused by Carbon Tetrachloride in Rat Liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1535, 186-191.
- Şahin, A., Yener, Z., Dağoğlu, G., 2003, "Karbontetraklorid (CCl₄) Ele Deneysel Olarak Karaciğer Nekrozu Oluşturulan Ratlarda Vitamin E+Selenyum ve Nigella sativa (Çörekotu)'nın Karaciğer Yıkımını Engelleyici Etkileri. *Turk J Vet. Anim*, pp 141-152.
- Şentürk, H. (1996). Kronik Hepatitler. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hepatoloji Bilim Dalı İç Hastalıkları Ders Kitabı II. Hepatoloji, İstanbul, 68-93.
- Şentürk, H. (2004). "Serbest Radikal Hasarının Hepatobilier Sistem Hastalıklarındaki Rolü", *Kocatepe Tıp Dergisi*, **5**, 1-8.
- Simsek, F. (1999), "Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu", *Türkiye Klinikleri J Pediatr*, Cilt:8, Sayı:1, Sayfa: 42-47.
- Tamayo, R. (1983). Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl₄ an adequate model of human cirrhosis? *Hepatology*; **3**: 112-120.
- Teferedeğne. T., (2000) New Perspective on the Use of Tropical Plants to Improve Ruminant Nutrition. *Proceed. Nutr. Soc.* **59**, 209-214.
- Tekelioğlu, M. (2002). Özel Histoloji; *ANTIP A.Ş. Yayınları*; **3**: 53-54.
- Tezel, A., Dökmeci, G., Soylu, A.R. (2002). Anormal karaciğer fonksiyon testleri olan hastaya yaklaşım. Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ. *Gastroenteroloji*. 1.baskı, Fersa Matbaacılık, Ankara; 421-422.
- Top, M., Vujovic, S., Zhang, J. (2007). The health benefits of traditional chinese plant medicines: Weighing the scientific evidence. *Rural Industries Reserarch and Development corparation*. February, 06:128
- Tulunay, Ö. (2001). Kronik Viral Hepatit Patolojisi. Kılıçturgay K, (Eds.) *Viral Hepatit*, İstanbul, 317.
- Tuma, D.J. (2002). Role Of Malondialdehyde-Acetaldehyde Adducts in Liver Injury.

- Free Radical Biol Med. Review* **15, 32** (4), 303-338.
- Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, KHC., Duman, H., Kırimmer N. (2002): Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Eskişehir.
- Turgut, K., Demir, C., Ok, M., Çiftçi, M.K. (1995): Ultrasonographic Evaluation of the Liver Damage in the Dog with Carbon Tetrachloride in Toxication. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*; **19**: 335-338.
- Uluslu, N.N., Sahilli, M., Avci, A., Canbolat, O., Ozansoy, G, Ari, N, Bali, M, Stefek, M, Stolc S, Gajdosik, A, Karasu Ç (2003) Pentose phosphate pathway glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effect of stobadine and vitamin E. *Neurochem Res*, **28**:815–823
- Üstündağ, B, Bahçecioğlu, İH, Şahin, K, Gülcü, F, Düzgün, S, Özercan, İH, Gürsu, MF. (2005) Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCl₄) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*; **19**(4): 263-271.
- Valko, M., Leibfritz, D., Monocol, J., Corinin, M., Mazur, M. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*; **39**: 44-84.
- Vander Vliet, A., Bast, A. (1992). Role of reactive oxygen species in intestinal diseases. *Free Rad. Biol. Med.*; **12**: 499–513.
- Videla, L.A., Fernandez, V., Tapia, G., et al. (2003). Oxidative Stress Mediated Hepatotoxicity of Iron and Copper Role of Kuppfer Cells. *Biometals*, **16**, 103-111.
- Vural, N. (1994). Toksikoloji, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yay. No: ss. 56-57.
- Wang, H., Wei, W., Wang, N.P., et al. (2005). Melatonin ameliorates carbontetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stres, *Life Sci.*, **77**:1902-1915.
- Warner, D.S., Sheng, H., Batinic, İ. (2004). Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol.*, **207**:3221-3231.
- Williams, A.T. and Burk, R.F. (1990). Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of freeradical-mediated injury. *Semin Liver Dis*; **10**: 279-284.
- Williams, R. (1998). Treatment of Fulminant Hepatitis. Zuckerman A.T, (Eds), *Viral*

- Hepatitis*, London, Churchill Livingstone, 477-488.
- Wiseman, H., Halliwell, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J.* **313**: 17-29.
- Yalçın, I., Şener, E., Özden S, Ozden T, Aking A, Yıldız S, (1986), *J. Pharm. Sci.*, 11, 257.
- Yalçın, A., Erlaçın, S., Yüce, G., Onat, T. (1997), CCl4 uygulanan sıçanlarda karaciğer GSH, GST ve Selenyum Düzeyleri. *Ege Tıp Dergisi*; **36** (1-2): 13-15.
- Yanbeyi, S. (1999). Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88.
- 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*.
- Yardım-Akaydın, S., Sepici, A., Özkan, Y., Torun, M., Şimşek, B., Sepici, V. (2004). Oxidation of uric acid in Rheumatoid Arthritis: Is Allontoin a marker of oxidative stress? *Free Radical Researche* **38**(6), 623-628.
- Yılmaz, S., Bahçecioglu, İ.H. (2000). Karbon tetraklorür ile Siroz Oluşturulmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Enzim ve Piruvat Kinaz Aktiviteleri, *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* **24**: 25–28.
- Yılmaz, S., Temizer Ozan, S. (2003) Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, **28**, 252-256.
- Yoon, Y., Song, J., Hong, S.H., Kim, J.Q. (2000). Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease. *Clin Chem. Oct*; **46** (10):1626-30.
- Yoshikawa, T., Naito, Y., Kishi, A., Tomii, T., Kaneko, T., Linuma, S., Ichikawa, H., Yasuda, M., Takahashi, S., Kondo, M. (1993). Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut*. **34**: 732-7.
- You, M. and Crabb, D.W. (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.

Zámocký, M. and Koller, F. (1999) Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and *in vitro* mutagenesis. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **72**: 19–66.

Zeashan, H., Amresh, G., Singh, S., Rao, CV. (2008), “Hepatoprotective activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals”. *Food and Chemical Toxicology*, **46**: 3417-3421.

Zimmerman, H.J. (1978). Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals in the liver. *Appleton-Century-Crofts*, New York.

Zimmerman, B.J. Granger, D.N. (1994) Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc.*,

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mesut AYDINGÖZ
Doğum Yeri ve Tarihi : Elazığ-1974
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0 505 6987174 - mesut2323@yahoo.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : 1991-Elazığ Lisesi
Lisans : 1995- Gazi Üni.
Yüksek Lisans : 2005- AKÜ

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : 18 yıl - Final Dergisi Dershaneleri

Yayımları (SCI ve diğer) :

1. Afyonkarahisar bölgesinde bulunan kaplıca sularının mevsimsel analizi, 2005,
Yüksek lisans tezi
2. Jeotermal Enerji ve Afyon Bölgesinin Jeotermal Enerji Potansiyeli, 2005,
Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2 (1), 39-48.