

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP)
DOKTORA PROGRAMI

PARASETAMOL İLE İNDÜKLENMİŞ DENEYSEL
AKUT KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
İNCİR (FİCUS CARİCA) ÇEKİRDEĞİ YAĞININ
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

GÜL TAŞLI YEŞİLÇAYIR
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. GÖKHAN CESUR

AYDIN-2021

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TPF-18014 proje numarası ile desteklenmiştir.

KABUL ve ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ...Fizyoloji(Tıp)....
Anabilim DalıDoktora..... Programı öğrencisiGül TAŞLI YEŞİLÇAYIR
tarafından hazırlanan “Parasetamol İle İndüklenmiş Deneysel Akut Karaciğer Toksisitesi
Üzerine İncir (Ficus Carica) Çekirdeği Yağının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” başlıklı
tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/04/2021

UNVAN, ADI SOYADI, KURUMU

İMZA

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Gökhan CESUR

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.....

Üye : Prof. Dr. Rauf Onur EK

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.....

Üye : Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.....

Üye : Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi.....

Üye :Doç. Dr. Onur ELMAS

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi.....

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(Ünvanı, Adı Soyadı)
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca, öncelikle yardımını, engin hoşgörüsünü ve güleryüzünü hiçbir zaman esirgemeyen, destek ve motivasyona ihtiyaç hissettiğimde kapısını her daim çalabildiğim çok sevdiğim danışman hocam Prof. Dr. Gökhan CESUR'a; tecrübelerinden ve bilgisinden feyz almaya çalıştığım, asistanlığım boyunca iyi günümde kötü günümde yanımda olduğunu hissettiğim sevgili hocam Prof. Dr. Rauf Onur EK' e, kendisiyle çok çalışma fırsatım olamasa da, kapısını her daim çalabileceğimi bildiğim sayın hocam Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ'ye;

Çalışmamın deney prosedürlerini uygularken birçok şeyi beraber öğrendiğimiz, bana yardım eden arkadaşlarım, Ayşegül MAVİ BULUT, Ahu KARANFİL ve Havane KELEKÇİO' ya; Histoloji Anabilim Dalı' ndan Cevat GENCER ve YİĞİT CAN ÇİFTÇİ' ye;

Tüm bu süreçte her daim yanımda olan, en büyük destekçim, canım arkadaşım Didem BAKAY İLHAN' a; her soruma anında yanıt veren güleryüzlü arkadaşım Fulden CANTAŞ TÜRKİŞ'e;

Fizyoloji Anabilim Dalındaki tüm asistanlık sürem boyunca her ikisini de bir iş arkadaşından daha çok dost ve kardeş olarak gördüğüm; Cenk ORAK ve aynı zamanda tez çalışmamın her aşamasında kendisinden öğrendiğim bilgi ve deneyimleri kullandığım, Ferhat ŞİRİNYILDIZ'a;

Bu zorlu süreçlerin tüm yükünü birlikte çektiğimiz canım eşim hayat arkadaşım, Hamit Eray YEŞİLÇAYIR, canım annelerim Gülgün TAŞLI ile Leyla YEŞİLÇAYIR'a ve aslında birlikte geçireceğimiz güzel vakitlerinden çaldığım için biraz da üzgün olduğum evlatlarım Gülce YEŞİLÇAYIR ve Mustafa Tuna YEŞİLÇAYIR' a, teşekkürü bir borç bilmekteyim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER.....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Parasetamol (Asetaminofen, C ₈ H ₉ NO ₂ , N-Asetil-P-Aminofenol).....	2
2.1.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri	2
2.1.2. Parasetamolün Biyotransformasyonu ve Biyoaktivasyon Mekanizması	3
2.1.3. Parasetamolün Terapötik Kullanımı	4
2.1.4. Parasetamolün Yan Etkileri	5
2.1.5. Parasetamol Toksisitesi	6
2.1.6. Parasetamol Toksisitesinde Klinik Bulgular, Tanı ve Tedavi	10
2.2. Karaciğer Hastalıklarında Tamamlayıcı (Komplementer) Tedavi	18
2.2.1. Karaciğer Koruyucu Bitkiler	20
2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	23
2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri; Oluşum Mekanizması ve Fonksiyonu	23
2.4. Antioksidanlar	24
2.4.1. Doğal Antioksidanlar.....	25
2.5. Ficus Carica (İncir)	26
2.5.1. Ficus Carica Tarihçesi	27
2.5.2. İncir Üretimi ve İhracatı	27
2.5.3. İncirin İçeriği	29
2.5.4. İncirin Kullanım Alanları	30

2.5.5. İncirin Terapötik Etkileri	30
2.6. İncir Çekirdeği Yağı (Fig Seed Oil)	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. Yöntem	36
3.1.2. Biyokimyasal Analizler	39
3.1.3. Histopatolojik Analizler	52
3.1.4. İstatistiksel Analizler	52
3.2. Gereç	52
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	52
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
4. BULGULAR	56
4.1. Biyokimyasal Bulgular	56
4.1.1. Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeyleri	57
4.1.2. Alanin Aminotransferaz (ALT) Düzeyleri	59
4.1.3. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Düzeyleri	60
4.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Düzeyleri	62
4.1.5. Malondialdehit (MDA) Düzeyleri	63
4.1.6. Miyeloperoksidaz (MPO) Düzeyleri	64
4.2. Histopatolojik Bulgular	66
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR	85
EKLER	96
EK-1. Etik Kurul Kararı	96
EK-2. Bilimsel Etik Beyanı.....	97
ÖZGEÇMİŞ	98

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALP :	Alkalen fosfataz
ALT :	Alanin Aminotrasferaz
APAP :	Parasetamol, Asetaminofen,N-asetil-p-aminofenol,
AST :	Aspartat Aminotransferaz
CAT :	Katalaz
CCl₄ :	Karbon Tetraklorür
COX :	Siklooksijenaz
GGT :	Gama Glutamil Transpeptidaz
GPx :	Glutasyon peroksidaz
GSH :	Glutasyon
GSH-Red :	Glutasyon Redüktaz
GSSG-RX :	Glutasyon Redüktaz
GST :	Glutasyon S transferaz
H₂O₂ :	Hidrojen Peroksit
İM :	İntramuskuler
İP :	İntraperitoneal
İV :	İntravenöz
KoA :	Koenzim A
LDH :	Laktat Dehidrogenaz
MDA:	Malondialdehit
MPO:	Myeloperoksidaz
NAC :	N-asetil sistein

NADPH :	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NAPQI :	N-Asetil-P-Benzokinonimine
nm :	Nanometre
NO⁻:	Nitrik Oksit
NSAİİ:	Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar
OH :	Hidroksil Radikali
ONOO⁻ :	Peroksinitrit
PBS :	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
ROS :	Serbest Oksijen Türleri
SOD :	Süperoksit dismutaz

ŞEKİLLER

Şekil 1.	JNK, P53 Ve Nrf2 Dahil APAP ile İndüklenen Oksidatif Stresin Düzenlenmesinde Bazı Moleküllerin Rolü	14
Şekil 2.	APAP Karaciğer Hasarında Onarım ve Rejenerasyon Basamakları.....	17
Şekil 3.	Serbest Radikal Oluşumunda Endojen ve Ekzojen Kaynaklar	23
Şekil 4.	Dünya İncir İhracatında İlk On Ülke, 2016 (Web_2)	28
Şekil 5.	İncir İhracatı Yapılan Ülkeler(Web_3)	29
Şekil 6.	AST Standart Eğri Grafiği	42
Şekil 7.	ALT Standart Eğri Grafiği	44
Şekil 8.	LDH Standart Eğri Grafiği	45
Şekil 9.	MPO Standart Eğri Grafiği	47
Şekil 10.	MDA Standart Eğri Grafiği	49
Şekil 11.	GPx Standart Eğri Grafiği	51
Şekil 12.	AST Düzeyleri Anova Grafiği	58
Şekil 13.	ALT Düzeyleri Anova Grafiği	60
Şekil 14.	LDH Düzeyleri Anova Grafiği	61
Şekil 15.	GPx Düzeyleri Anova Grafiği	63
Şekil 16.	MDA Düzeyleri Anova Grafiği	64
Şekil 17.	MPO Düzeyleri Anova Grafiği	65
Şekil 18.	Sentrilobüler Nekroz Ortalama Skor Grafiği	72
Şekil 19.	İnfiltrasyon Ortalama Skor Grafiği	72
Şekil 20.	Dejenerasyon Ortalama Skor Grafiği	73
Şekil 21.	Sinuzoidal Dilatasyon Skor Grafiği.....	73

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Ficus Carica(Web_1).....	26
Resim 2.	Wistar Albino Türü Sıçanlar	36
Resim 3.	İntrakardiyak Yolla Kan Alma İşlemi.....	37
Resim 4.	Sıçanlara Orogastrik Gavaj Yöntemi İle Apap Uygulaması.....	39
Resim 5.	Mikroplate Okuyucu.....	40
Resim 6.	Aspartat Aminotransferaz Aktivite Kiti.....	41
Resim 7.	Otomatik Pipet.....	53
Resim 8.	Oneva İncir Çekirdeği Yağı.....	55
Resim 9.	APAP Grubuna Ait Hematoksilen- Eozin İle Boyanmış Preparat Görüntüsü	66
Resim 10.	YDİY Grubuna Ait Preparat Görüntüsü.....	67
Resim 11.	Kontrol Grubuna Ait Preparat Görüntüsü.....	68
Resim 12.	DDİY Grubuna Ait Preparat Görüntüsü.....	69
Resim 13.	YDİY Grubuna Ait Kontrol Grubuna Çok Benzer Preparat Görüntüsü.....	70
Resim 14.	APAP Grubuna Ait Preparat Görüntüsü.....	71

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Karaciğer Sağlığına Etkili Doğal Ürünler.....	20
Tablo 2.	İncir Çeşitli Kısımlarının Besin İçerikleri.....	30
Tablo 3.	İncir Çekirdeği Yağı Yağ Asidi İçerikleri.....	33
Tablo 4.	Üç Ayrı Bölgeden Toplanan İncir Çekirdeği Yağının Yağ Asidi İçerikleri.....	34
Tablo 5.	İncir Çekirdeği Yağı Özellikleri.....	35
Tablo 6.	İncir Çekirdeği Yağı İçeriği.....	54
Tablo 7.	Gruplara göre ALT, AST, LDH, GPx, MDA ve MPO Değerleri Ortalama Dağılımı.....	56
Tablo 8.	Bonferroni Analizi Tablosu.....	57
Tablo 9.	AST Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	57
Tablo 10.	ALT Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	59
Tablo 11.	LDH Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	60
Tablo 12.	GPx Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	62
Tablo 13.	MDA Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	63
Tablo 14.	MPO Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma	65

ÖZET

PARASETAMOL İLE İNDÜKLENMİŞ DENEYSSEL AKUT KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE İNCİR (FİCUS CARİCA) ÇEKİRDEĞİ YAĞININ KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Taşlı Yeşilçayır G, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (Tıp), Doktora Tezi, Aydın, 2021

Amaç: Parasetamol ile indüklenmiş akut karaciğer toksisitesi üzerine incir çekirdeği yağının (İÇY) olası koruyucu etkilerinin araştırılması, olası koruyucu etkilerinin bulunması halinde parasetamol toksisitesi tedavisine yeni bir hepatoprotektif ajan eklemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda; kontrol grubu, parasetamol+düşük doz incir çekirdeği yağı (DDİY) grubu, parasetamol+yüksek doz incir çekirdeği yağı (YDİY) grubu ve hepatotoksisite (APAP) grubu, olmak üzere 40 adet Wistar Albino erkek rat kullanıldı (n=10). DDİY ve YDİY gruplarına yedi gün boyunca sırasıyla 3 ml/kg ve 6 ml/kg olmak üzere İÇY orogastrik gavaj ile verildi. Yedinci gün, hepatotoksisite modeli oluşturmak için kontrol grubu hariç diğer gruplara bir doz 2 mg/kg APAP oral yolla uygulandı. Toksikasyonun 24.saatinde, kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Biyokimyasal, histopatolojik veriler uygun istatistiksel yöntemlerle incelendi.

Bulgular: Serum AST, ALT, LDH / doku MDA, MPO, GPx düzeyleri ile sentrilobüler nekroz, infiltrasyon, dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon histopatolojik bulguları incelendi. APAP grubunda, kontrol grubuna kıyasla AST, ALT, LDH, MDA düzeyleri yüksek saptanırken; GPx ve MPO değerleri düşük saptandı. (p<0,05). YDİY grubunda AST, ALT, LDH değerlerinde toksisite grubuna göre anlamlı düşüş görüldü. DDİY grubunda ise ALT ve LDH değerlerinde anlamlı düşüş mevcuttu (p<0,05). DDİY ve YDİY gruplarına bakıldığında ise hiçbir bulguda anlamlı istatistiksel farklılık görülmedi. İÇY verilen gruplarda sentrilobüler nekroz görülmezken, infiltrasyon bulgusu ise YDİY grubunda azalmış görüldü (p<0,05).

Sonuç: Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre parasetamol ile indüklenmiş akut karaciğer toksisitesi üzerine incir çekirdeği yağının hepatoprotektif etkisi mevcuttur.

Anahtar Kelimeler: Ficus Carica, Hepatoprotektif, Hepatotoksisite, İncir Çekirdeği Yağı, Parasetamol.

ABSTRACT

THERAPEUTIC EFFECTS OF FIG (FICUS CARICA) SEED OIL ON PARACETAMOL INDUCED ACUTE HEPATOTOXICITY

Taşlı Yeşilçayır G, Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences,
Physiology (Medicine), Doctoral Thesis, Aydın, 2021

Objective: Investigation of possible protective effects of fig seed oil (FSO) on paracetamol-induced acute liver toxicity is to add a new hepatoprotective agent to paracetamol toxicity treatment if possible protective effects are found.

Materials and Methods: In our study; Forty Wistar Albino male rats were used as control group, paracetamol + low dose fig seed oil (DDY) group, paracetamol + high dose FSO (HDI) group and hepatotoxicity (APAP) group (n = 10). FSO was given to DDİY and YDİY groups by orogastric gavage as 3 ml / kg and 6 ml / kg for seven days. On the seventh day, 2 mg / kg APAP was administered orally as a single dose to the other groups except the control group to establish a hepatotoxicity model. Blood and liver tissue samples were taken at the 24th hour of intoxication. Biochemical and histopathological data were analyzed using appropriate statistical methods.

Results: Serum AST, ALT, LDH / tissue MDA, MPO, GPx levels and histopathological findings: centrilobular necrosis, infiltration, degeneration and sinusoidal dilatation were examined. AST, ALT, LDH, MDA levels were found to be higher in the APAP group compared to the control group; GPx and MPO values were lower. (p <0.05). There was a significant decrease in AST, ALT, and LDH values in the YDİY group compared to the toxicity group. In the DDİY group, there was a significant decrease in ALT and LDH values (p <0.05). No statistically significant difference was observed in any of the findings in the DDİY and YDİY groups. While no centrilobular necrosis was observed in the groups given fig seed oil, infiltration findings were decreased in the YDİY group (p <0.05).

Conclusion: According to the results of our study, fig seed oil has a hepatoprotective effect on acute liver toxicity induced by paracetamol.

Keywords: Ficus Carica, Hepatoprotective, Hepatotoxicity, Fig Seed Oil, Paracetamol.

1. GİRİŞ

Akut karaciğer toksisitesi, karaciğer fonksiyonlarının aniden tam veya tamamına yakın bir şekilde kaybıyla karakterize klinik bir durumdur. Parasetamol en sık akut karaciğer toksisitesine neden olan ilaçtır. Parasetamolün en ciddi yan etkisi, yüksek doza bağlı olarak oluşan ölümcül hepatik nekrozdur. Toksikiteyi azaltan etkenler olarak; antioksidanlar (E vitamini), hepatik enzim inhibitörleri (simetidin) ve redükleyici ajanlar (askorbik asit) bulunmuştur. Doğal antioksidanların büyük çoğunluğu ise bitkisel kaynaklıdır. İncir, fazlaca aspartik asit, glutamin aminoasitleri, potasyum, askorbik asit, A vitamini, karbonhidrat ve pek çok fenolik antioksidan madde içerir ve içerdiği 50'den fazla bileşik nedeniyle tüketimi, birçok hastalığa karşı insan sağlığını koruyucu etki göstermektedir (Ribechini ve diğerleri, 2011).

Saoudi ve El Feki' nin 2012 yılında yaptıkları çalışmalarında; incirin kökü içerdiği fenoller, esansiyel yağ asitleri, flavanoidler nedeniyle seçilmiş ve alkolle indüklenen karaciğer hasarı çalışmalarında profilaktik olarak önemli derecede koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Aghel ve diğerleri (2011), karbontetraklorürle oluşturdukları karaciğer toksisitesinde incir yaprak ekstraktının karaciğer üzerinde histolojik olarak normale yakın lobuler görüntüleri, daha az olan yağ dejenerasyonları ve daha az nekrozun görüldüğünü bulmuşlardır. İncir çekirdeği yağı ile ilgili ise yeterli literatüre rastlanmamıştır.

Klinik uygulamalarda parasetamol aşırı alımı sonrası antidot olarak kullanılan N-acetylsistein (NAC) başarılı bir tedavi olsa da, nadiren de olsa bazı yan etkileri bulunmaktadır. Bu yan etkilerin çoğu ürtiker, yüzde kızarıklık, kaşıntı gibi minör reaksiyonlar olmasına rağmen, hipotansiyon ve anjiyodem gibi ciddi reaksiyonlar oluşturabilmektedir. Yan etki oluştuğunda alternatif bir tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın amacı, Aydın ve İzmir çevresinde fazlaca üretimi yapılan incirin, henüz keşfedilmemiş kısmı olan çekirdeklerinden soğuk press yöntemiyle elde edilmiş yağın, parasetamol ile indüklenmiş akut karaciğer toksisitesi üzerine olumlu etkilerinin araştırılarak; ölümcül olabilen parasetamol zehirlenmelerinde ve kronik parasetamol tüketimi sonucu olan hepatotoksisitelere varolan tedaviye alternatif sağlayabilmektir. Böylece tıbbi kullanıma hepatoprotektif yeni bir ajan eklenecek, sonuç olarak da bölgemiz için önemli kalkınma sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parasetamol (Asetaminofen, C₈H₉NO₂, N-asetil-p-aminofenol)

Parasetamol bir para-aminofenol türevi ve fenasetinin aktif metaboliti olup diğer isimleriyle asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol (APAP) olarak da bilinir. Molekül ağırlığı 151,2 g/mol'dür. Beyaz renkli ve kristal yapıda olan molekülün kapalı formülü C₈H₉NO₂'dir. Fizyolojik pH'da anyonize formda bulunan ve zayıf bir asit olan APAP' ın etanol, metanol, sodyum hidroksit, aseton, etil asetat ve suda çözünebilir özelliği vardır (Ajith ve diğerleri, 2007). İlk kez Harmon Northrop Morse tarafından 1877 yılında p-nitrofenolü asetik asitle indirgenmesiyle bulunmuştur (Bertolini ve diğerleri, 2006). 1877 yılında bulunan bu molekül tıbbi kullanıma 1893 yılında girebilmiş ve yaygın kullanılmaya 1950'li yıllarda başlamıştır. Brodie ve Axelrod, 1948 yılında yaptıkları çalışmada parasetamolün asetanilid gibi toksik olmadığı bildirilmiştir. 1955 yılında 'Tylenol' adıyla ABD'de ve 1956 yılında da 'Panadol' adıyla İngiltere'de piyasaya sürülmüştür. Günümüzde ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak en yaygın kullanılan ilaçlardan biridir (Hawkins ve Golding, 1995). Dünyada birçok ülkede reçetesiz satılan ilaç, ülkemizde de yaygın kullanım alanına sahiptir. Terapötik dozlarda kullanıldığında çocuk ve erişkinlerde güvenilir bir ilaç olarak kabul görmektedir (Kittisupamangkol, 2009; Boyland ve Chasseaud, 1969). Bununla birlikte aşırı doz alındığında potansiyel ilerleyici sentrilobüler karaciğer nekrozuna neden olduğu bilinmektedir (Davidson ve Eastham, 1966; Lee, W. M., 2004).

2.1.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri

Parasetamol sentetik non-opiod olan bir p-aminofenol derivesi olup ağrı kesici ve ateş düşürücüdür. Molekül formülü de C₈H₉NO₂'dir ve bu özellikleri nedeniyle Asetaminofen olarak adlandırılır. Moleküler ağırlığı 151,2 g/mol, erime noktası 169°C, yoğunluğu 1,263 gr/cm³ sudaki çözünürlüğü 1,4 gr/100 ml'dir(20°C) (Lee, 2004; Madenoğlu ve Bozoğlu, 2009; Akçam ve Çalışkan, 2014).

Parasetamol, zayıf antienflamatuar özellikte bir bileşiktir. Bunun nedeni olarak siklooksijenaz (COX) enzimlerinin okside formunun parasetamol tarafından inhibe edilmemesi düşünülmüştür. Klasik antienflamatuar etkili ilaçlar (Nonsteroid antienflamatuar ilaçlar – NSAİİ gibi), bu basamağı inhibe ederek etki gösterirler (Deniz, 2016).

Parasetamol aspirine eşit derecede analjezik ve ateş düşürücü etki gösterdiğinden çocuklarda kullanımı fazladır. Antienflamatuar etkinliğinin zayıf olması nedeniyle enflamasyon bağlı endikasyonlarda kullanılmaz. Ancak NSAİİ ile birlikte kullanımında analjezik etkiyi arttırdığına dair yayınlar mevcuttur. Periferik dokularda zayıf bir COX inhibitörüdür. Parasetamolün antitrombotik etkisi zayıftır ve bu nedenle kanama zamanını değiştirmez (Lauterburg ve diğerleri, 1983; Hinson, 1983; Potter ve Hinson, 1987).

2.1.2. Parasetamolün Biyotransformasyonu ve Biyoaktivasyon Mekanizması

Parasetamol oral yoldan alındığında emilimin çoğu ince barsakta olmak üzere mideden de az miktarda emilir. Besinlerle alındığında emilimi azalabilir. Kandaki konsantrasyonu 20-30 dakikada pik değerine ulaşır. Plazma proteinlerine %5 gibi düşük bir oranla bağlanabilir. Yarılanma ömrü 2-2.5 saattir. Vücut sıvılarına ve dokulara dağılımı ise eşit oranda gerçekleşir. İlk işleme uğradığı yer karaciğer olup, %80-90'ı burada metabolize edilir (Graham ve Scott, 2005). Parasetamolün oral yolla alımında biyoyararlanımı %79-89 olup gastrointestinal emilim hızlı ve tamamen olmak üzere gerçekleşir (Shahroor ve diğerleri, 2000). Parasetamol terapötik dozda alındığında, karaciğerde metabolize edilerek sülfat ve glukronid ile konjuge edilir, inaktif bileşiklere dönüştürülmüş olur. Alınan parasetamolün %2-4'ü değişmemiş halde, %85-90'ı ise sülfat ve glukronid bileşikleri halinde idrarla atılır. Geri kalan %4-6'lık kısım ise hepatiksitokrom P-450 enzim sistemi yoluyla metabolize edilir (Miller ve diğerleri, 1976). Bu enzim sisteminde CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 enzimleri yer alır. En önemlileri CYP2E1'dir.

Memelilerde iyi korunmuş bir sitokrom P-450 olan CYP2E1, etanol ve birçok düşük molekül ağırlıklı toksin ve kanser şüpheli ajanı metabolize eder. Homolog rekombinasyon ile CYP2E1 ekspresyonundan yoksun bir fare türü üretilmiş ve bu farelere, toksik doz asetaminofen verilmiş ve bunlarda hepatotoksik etkilerin daha az görüldüğü bulunmuştur. Bu da CYP2E1'in ilacın metabolik dönüşümüne karşı sorumlu olan başlıca enzim olduğunu gösterir (Lee, H. S. ve diğerleri, 1996).

Bu yolak üzerinden oluşan aktif metabolit olan N-asetil-benzokinonimin (NAPQI) olup, toksik dozda parasetamol alımında toksisiteden sorumludur. Terapötik dozlarda ise oluşan bu metabolit, glutatyon ile bağlanarak toksik olmayan bir konjugata dönüşüp idrarla atılır (Miller ve diğerleri, 1976).

Parasetamol, COX inhibitörleri ile benzerlik taşısa da, onlar gibi periferik dokuda antiinflamatuvar özellik göstermemesi COX inhibisyonundan farklı bir etki mekanizmasının olduğunu düşündürmüştür (Boutaud ve diğerleri, 2002; Swierkosz ve diğerleri, 2002, İlkaya ve diğerleri, 2013). Parasetamolün, santral sinir sisteminde oluşturduğu etkiyi buradaki COX sistemini inhibe ederek oluşturduğu düşünülmektedir (Clissold, 1986). Bilinen COX-1 ve COX-2 enzimlerinden farklı bir varyant beyin ve omurilikte saptanmış COX-3 olarak adlandırılmış ve parasetamolün buna etki ettiği savunulmuştur (Swierkosz ve diğerleri, 2002). Bununla birlikte serotoninerjik sistemle dolaylı etkileşim yoluyla etki ettiğini savunanlar da vardır (Carlsson ve ark, 2002).

Etki mekanizmasının henüz açıklanamamış olması, yapısı ve endikasyonlarının farklı olması gibi nedenlerle nonsteroid antiinflamatuvar ilaç sınıfına dahil değildir. Aspirin ve ibuprofen gibi yaygın kullanılan NSAİİ'lerden farklı olarak mideye etmez ve böbrek fonksiyonlarına etkisi az görülür. Kan pıhtılaşma mekanizmasına etkisiz olduğundan kanama pıhtılaşma zamanını uzatmaz. Gebelikte klinik dozlarda endikasyon halinde kullanılabilir. Gebelik kategorisi B'dir. NSAİİ gibi fetusa etki ederek fetal ductus arteriosusun kapanmasını engellemez. Suçiçeği geçiren çocuklarda ateş düşürmek için aspirin kullanımı sonrası gelişen Reye Sendromuna neden olmaz. Opioid analjezikler gibi duygu-durum değişikliği ya da bağımlılık yapmaz. Bu özellikleri nedeniyle sık tercih edilen bir ilaçtır (Heymann, 1986).

2.1.3. Parasetamolün Terapötik Kullanımı

Parasetamol dünyada en çok kullanılan analjezik ve antipiretiklerden biridir. Enflamasyon kaynaklı olmayan hafif ve orta şiddetli ağrıları gidermek için kullanılır. Terapötik dozlarda kullanıldığında oldukça güvenilir bir ilaçtır. Bununla birlikte aşırı doz alındığında potansiyel ilerleyici sentrilobüler karaciğer nekrozuna neden olduğu bilinmektedir (Davidson ve Eastham, 1966; Lee, W. M. 2004). Sadece Türkiye'de 300'den fazla ilaçta etken madde olarak rol alır (Emet ve Yayla, 2016).

Tedavi dozu çocuklarda 10-15 mg/kg olup (günde 3-4 kez), günlük önerilen doz en çok 50-90 mg/kg'dır. Erişkinlerde ise tedavi dozu 325-1000 mg/kg olup, günlük önerilen doz en çok 4 gr'dır (Lancaster ve diğerleri, 2015).

Endikasyonlarının içinde varolan baş ağrısı, miyalji, eklem ağrıları, postoperatif ağrılar gibi ağrıların giderilmesinde tercih edilir. Antienflamatuar etkisinin çok çok az olmasına rağmen, güçlü antipiretik ve analjezik ilaçlardandır. İyileştirici etkisi çabuk başlar ama kısa sürer. Trombosit fonksiyonunu bozmadığı için kanama zamanını uzatmaz ve antikoagülan kullanan hastalarda iyi bir alternatif sunar. Günlük kullanım dozu günde 3-4 kez 0,5-1 gr olup, kafein, kodein, efedrin gibi maddelerle kombine preparatları mevcuttur (Graham ve Scott, 2005).

2.1.4. Parasetamolün Yan Etkileri

Parasetamol tedavi dozlarında iyi tolere edilebilmektedir. Ancak her ilaç gibi bazı yan etkilere neden olabilir. Oral ve rektal alımda sıklık belirtilmemiş olmakla birlikte, dermatolojik yan etkilerinde cilt döküntülerine neden olabilir. Endokrin ve metabolik yan etkiler olarak serum bikarbonat, kalsiyum, sodyum miktarını azaltırken; klor, üre, glukoz seviyelerini yükseltebilir. Genitoüriner sistemde nefrotoksisite, akut böbrek yetmezliğine (kronik yüksek doz alımında) neden olabilirken, karaciğeri etkileyerek ALP ve bilirubin seviyelerini yükseltebilir. Bu etkiler dışında anemi, lökopeni, nötropeni, pansitopeni, nadiren de hipersensitivite reaksiyonuna neden olabilir. IV kullanımda ise, >%10 sıklıkla, bulantı ve kusma, %1-%10 sıklıkla hipertansiyon, hipotansiyon, periferik ödem, taşikardi, baş ağrısı, uykusuzluk, ajitasyon, anksiyete, iştahsızlık, konstipasyon, diyare, karın ağrısı, deri döküntüsü ve kaşıntı, transaminaz düzey artışı, dispne, hipoksi gibi yan etkiler oluşturabilir. Anafilaksi ve hipersensitivite reaksiyonları ise tüm formlarda %1'den az görülmüştür.

Parasetamolün ölüme kadar ilerleyebilen ciddi karaciğer toksisitesine yol açabileceği unutulmamalıdır. Hepatotoksisite genellikle aşırı asetaminofen alımı ile ilişkilidir ve sıklıkla asetaminofen içeren birden fazla preparatın alımı nedeniyle gelişir.

Güvenilir parasetamol kullanımı için dikkat edilmesi gereken durumlar ise; alkol kullanımı, G6PD eksikliği, karaciğer hastaları, hipovolemi durumu, malnutrisyon ve açlık durumları, böbrek yetmezliği varlığıdır (UpToDate, 2021).

2.1.5. Parasetamol Toksisitesi

Terapötik dozda alındığında parasetamolün büyük bir kısmı glukuronik asit ya da sülfatla doğrudan konjuge edilir. Geri kalan kısmı P-450 sistemi tarafından parasetamolün reaktif metaboliti olan N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) dönüştürülür (Nelson, 1990). NAPQI, glutatyon (GSH) ile kendiliğinden reaksiyona girer ya da GSH-S-transferaz tarafından GSH-adduct formuna katalize edilir (Chen ve diğerleri, 2003). Böylece parasetamol metabolizmasındaki en erken etki sitozol ve mitokondrideki hepatoselüler GSH seviyesindeki belirgin düşüştür (Mitchell ve diğerleri, 1973). GSH tükendiğinde, artakalan NAPQI özellikle hücresel proteinlerde çeşitli hedeflerle reaksiyona girecektir (Jollow ve diğerleri, 1973). Mitokondrial proteinlerle oluşan bu kovalent bağlanma mitokondriyal oksidan strese neden olarak ciddi anlamda mitokondriyal disfonksiyona neden olur (Jaeschke ve diğerleri, 2003; Ramsay ve diğerleri, 1989). Nükleer DNA fragmantasyonu takiben mitokondride peroksinitrit oluşumu gözlenir (Cover ve diğerleri, 2005).

Terapötik dozlarda alındığında dahi karaciğer enzimlerinde ılımlı yükseklik yapabilen parasetamol, aşırı dozlarda alımında karaciğerde ciddi hasarlara yol açarak, karaciğer yetmezliği ve ölüme neden olabilir. Parasetamolün toksik dozları bir defada 10 gr ve üzeri ya da 150mg/kg olarak belirlenmiştir. 4 g/gün kronik alımda da hepatotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Barlet, 2004). Toksik etkileri başta karaciğer olmak üzere böbrekte de ortaya çıkabilir. Parasetamol doz aşımı, insan ve deney hayvanlarında hepatik nekroz ve lezyon, böbrek hasarı veya hatta ölüme yol açmıştır (Yoon ve diğerleri, 2016).

2.1.5.1. Parasetamolün Karaciğer Üzerine Etkileri

İlaç ve toksinlerin biyotransformasyonunda ana rolü karaciğer üstlenir. Hepatotoksisite karaciğer hasarı için kullanılan bir terimdir. Bu hasara, çeşitli toksinler, endüstriyel bileşikler, böcek ilaçları ve çeşitli farmasötik ajanlar neden olabilir. Karaciğer hasarına neden olan bu maddelere hepatotoksin adı verilir (Çolak, 2011).

2.1.5.1.1. Karaciğer

Karaciğer, multipl fonksiyonları olan vücutta büyük bir hacim kaplayan solid bir organdır. Karın boşluğunun sağ üst kadranını doldurur ve kotlarca da korunur. Dört adet lobu mevcuttur. Bu loblar; lobus hepatis dexter, lobus hepatis sinister, lobus quadratus ve lobus caudatus olarak isimlendirilir.

Karaciğer, hem ekzokrin hem de endokrin fonksiyonlara sahiptir. Ana görevleri, protein sentezi, safra salgılanması, detoksifikasyon, vitaminlerin ve demirin depolanması, A vitamini üretimi, glikozun glikojen şeklinde depolanması şeklinde özetlenebilir. İnce barsaklardan vena porta yolu ile sindirilen besinlerin taşınımını ve depolanmasını sağlar. Karaciğere gelen kanın %70-80'i bu yolla sağlanır. Diğer kısmı ise karaciğerin oksijenasyonuna yarayan hepatik arter ile sağlanır. Karaciğer toksisitesine neden olan hepatotoksinlerin çoğu ince barsak yoluyla alınır (Yayla, 2014).

Rat karaciğeri ise beş loba sahiptir. Sol lateral, sol medial, sağ lateral, sağ medial ve caudat lob olarak adlandırılan her lobun kendine ait kapsülü bulunmakta olup, loblar sadece porta hepatis düzeyinde birleşmektedirler. Ratların safra keseleri yoktur ve safra salınımı uzun bir safra kanalı ile pankreas içinden duodenuma dökülecek şekilde sağlanır.

Karaciğeri oluşturan, hepatosit, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreler ve safra kanalı epitel hücreleri olmak üzere beş tür hücre yapısı bulunmakta olup karaciğerin %80'ini hepatositler kaplamaktadır. Rat karaciğeri ve insan karaciğerinin temel yapıları benzerlik göstermektedir (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.5.1.2. Karaciğer Hasarı Türleri

Karaciğer hasarı türleri hepatotoksinin türüne, dozuna ve maruz kalış süresine bağlı olarak (akut veya kronik) değişir. Literatürde parasetamol, karbontetraklorür, sisplatin ve siklofosfamid ile oluşturulmuş deneysel hepatotoksisite modelleri mevcuttur.

Hepatotoksisite iki farklı mekanizma ile meydana gelir; intrinsek ve idiyosenkrazik. Bu reaksiyonlar tek başlarına hepatotoksisiteye neden olabileceği gibi kombine etki ile de neden olabilirler. İntrensek mekanizmada etki direkt hepatotoksinin hücreleri etkilemesi ya da

indirekt olarak metabolitlerinin hasarı ile meydana gelir. İdiosenkrazik yolla meydana gelen hepatotoksisite ise önceden tahmin edilemez doz bağımsızdır ve diğer hastalıklarla karışabilir (Arıcı, 2008).

Karaciğer hasarında beş farklı yolak söz konusudur. Birinci yolak hücre içi iyon dengesinin bozulması ile oluşur, böylece ilaçlar kovalent bağ ile hücre içi proteinlere tutunur. Hücre içi kalsiyum dengesi bozulur ve aktin fibrinleri parçalanır. Böyle hücre zarı yıkılır, hücre parçalanır.

İkinci yolak safra kanaliküllerinin hasarlanmasıdır. Safra kanalikülünün membran transport proteininin etkilenmesi ya da villus yapısının bozulması neticesinde oluşur. Böylece safra stazı oluşur kolestaz meydana gelir. Safra asitlerinin birikimi ise apoptozis nedenidir.

Üçüncü yolak, hepatosellüler reaksiyonlarla immunitenin aktiflenmesi neticesinde oluşur. İlaçlar immun yanıt oluşturmazsa da metabolitleri çeşitli enzimlere bağlanarak antijen gibi davranırlar. Sitokin salınımına ve T hücre yanıtına neden olarak sitolize sebebiyet verir.

Dördüncü yolak, hücre ölümü sonrası kaspazların aktifleşmesi ile apoptozisin meydana gelmesidir.

Beşinci yolak ise mitokondriyal disfonksiyondur. Serbest yağ asitleri metabolize olamayıp, laktat ve reaktif oksijen radikallerinin birikmesine neden olarak, mitokondriyal DNA'nın zedelenmesine neden olur. Aerobik metabolizma yapılamayınca anaerobik metabolizma ile laktik asidoz ve trigliserid birikimi meydana gelir bu da hücre içi yağ vakuolizasyonuna neden olur (Lee, W. M., 2003).

2. 1. 5. 1. 3. Parasetamolün Karaciğer Toksisitesi

Parasetamol hepatotoksisitesinin altında yatan çok sayıda yolak ve sistem yer almaktadır. Bunlar arasında, APAP metabolizması, oksidatif stres, endoplazmik retikulum (ER) stresi, otofaji, steril inflamasyon, mikro dolaşım bozukluğu ve karaciğer onarımı ve rejenerasyonu bulunur (Yan ve diğerleri, 2018). Oksidatif stres özellikle önemli bir mekanizmadır. Parasetamolün CYP450 enzim sistemi tarafından NAPQI'e oksidasyonundaki artış serbest oksijen radikallerin üretiminde artışa neden olur. Hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri bu metabolizma neticesinde oluşur. Oluşan hidroksil radikalleri lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu yapar. Yapılan çalışmalarda katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzim aktivitelerinin azaldığı, glutatyon gibi maddelerin azaldığı

gösterilmiştir. N-asetil-benzokinon-imin, yüksek oksidatif kapasitesi ile tiyol gruplarını okside ederek ve proteinlerin sülfidril gruplarının oksidasyonu ile protein-protein ve protein-GSH arasında disülfid bağı oluşturarak hücre fonksiyonlarında kayıp ve hücre ölümüne neden olmaktadır (James ve diğerleri, 2003)

Yapılan çalışmalarda peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türlerinin düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Bu hepatotoksin GSH/GPx tarafından detoksifiye edilen bir madde olmasına karşılık aşırı üretimi ile bu mekanizma yetersiz kalır ve proteinleri nitratlayıp, lipid peroksidasyonuna yol açar. Mitokondride ise bu madde C-jun-N-terminal kinaz translokasyonuna neden olarak hücre geçirgenliğini artırır. Mitokondri dışına çıkan sitokrom C, endonükleaz G, apoptoz indükleyici faktör (AIF) hemen hücre DNA fragmentasyonunu başlatır.

Makrofaj aktivasyonu da hepatotoksisite oluşumunda önemli bir unsur olup, parasetamol ile indüklendikleri ve böylece çeşitli superoksit radikallerini ve sinyal moleküllerini salgıladığı bilinmektedir.

Özetle başta lipid peroksidasyonu olmak üzere sözü geçen mekanizmalar aşırı doz parasetamol alımında hepatotoksisiteden sorumludur (Jaeschke ve diğerleri, 2002).

Bazı çalışmalar, Nrf2 aracılı gen düzenlemesinin, APAP aşırı dozunun neden olduğu karaciğer hasarını önlemek için önemli olduğunu göstermektedir. Oksidatif stres, ARE genlerinin ekspresyonuna izin veren Nrf2 ve Keap1 arasında kesintili bir etkileşime yol açar. Nrf2-null fareler, yabani tip hayvanlara kıyasla APAP kaynaklı karaciğer hasarına daha fazla maruz kalır iken, ve Keap1-knock down fareleri, APAP doz aşımına karşı dirençlidir (Klaassen ve Reisman, 2010). Özellikle, Nrf2, GSH sentezini indükleyerek, hepatik hücreleri NAPQI tarafından oluşturulmuş oksidatif hasar üzerine koruyucu etki yapar (Reisman ve diğerleri, 2009).

2.1.5.2. Parasetamolün Böbrek Üzerine Etkileri

Tüm parasetamol zehirlenmelerinin %2'sinde, karaciğer etkilenmesi olanların %5'inde, karaciğer yetmezliğine giren hastaların ise %50'sinde akut böbrek yetmezliği (ABY) gelişir. ABY, kan üre ve kreatin düzeyinin artması ile birlikte, proteinüri, hematüri ve idrar tetkiklerinde granüler ve epitelyal hücre kümelerinin görülmesi ile kendini gösterir (Emet ve Yayla, 2016).

Renal toksisite mekanizmasında COX, N-deasetilaz ve CYP450 enzimlerini içeren yollar önemli rol üstlenmişlerdir. Toksikasyon sonucu oluşan hasar renal proksimal tübüllerde meydana gelmektedir. Böylece glomerüler filtrasyon hızı düşmektedir. Parasetamol böbreklerde asetilasyona uğrayarak p-aminofenole dönüşür ve toksik etkisini gösterir. Parasetamol kaynaklı böbrek toksisitesi ve nefrotoksosite oluşumunda GSH konjugatları ile CYP450'nin rol oynadığı, bu enzim sisteminde de CYP2E1'in önemli olduğu düşünülmektedir (Bessem ve Vermeulen, 2001).

Oluşan NAPQI, GSH bağlama kapasitesini aşar ve tübüler nekroz oluşumuna neden olarak akut böbrek yetmezliğine sebebiyet vermektedir (Mazer ve Perrone, 2008). NAPQI hücre membranlarına ve sülfidril proteinlere bağlanarak toksisite oluştururken, p-aminofenol de makromoleküllere kovalent bağlanarak renal hasara neden olmaktadır. Analjezik nefropatisine en sık sebep olan ilaçlardan biri parasetamoldür (Mugford ve Tarloff, 1993).

GSH yetersizliği parasetamol kaynaklı renal toksisitede önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum hepatorenal sendroma neden olur (Loh ve Ponampalam, 2006). Parasetamol hem böbrek hem de karaciğerde metabolize olurken, nefrotoksitenin böbrekte GSH kaynağına bağlı olarak oluştuğu, hepatotoksiteden bağımsız geliştiği bildirilmiştir (Masson ve diğerleri, 2000).

2.1.6. Parasetamol Toksisitesinde Klinik Bulgular, Tanı ve Tedavi

Evre 1 (30dk-24 saat): Bulantı-kusma, solukluk, terleme, letarji görülebilir. Laboratuvar olarak normaldir.

Evre 2 (24-72 saat): Evre 1 semptomları kaybolmuş klinik olarak iyileşmiş gibidir. Ancak karaciğer aminotransferaz enzimlerinde yükselmeler oluşur, sağ üst kadranda ağrısı ve hepatomegali görülebilir. Protrombin zamanı ve bilirubin değerlerinde artış ve oligüri, renal fonksiyon bozukluğuna rastlanabilir.

Evre 3 (72-96 saat): Evre 1'deki semptomlar geri dönebilir, sarılık, konfüzyon, hepatik ensefalopati ve kanama diyatezi gelişebilir. Karaciğer aminotransferazlarında belirgin artış oluşur. Bariz karaciğer yetmezliği olanların %50'si renal yetmezliğe de girer. Ölüm hepatik yetmezlik, multiorgan yetmezliği ve serebral ödem sebebiyle meydana gelebilir (Maha ve diğerleri, 2019).

Evre 4 (4 gün-2 hafta): Evre 3'ü hayatta kalarak tamamlayanlar sekel kalmadan iyileşirler. Hastaların %70-80'i bu aşamayı tamamlar, %1-2'si ölümcül hepatik yetmezliğe girer. Tedavi almamış ciddi yetmezlikli hastalar 4-18 gün içinde yaşamını yitirir (Maha ve diğerleri, 2019).

Tanı klinik bulgulara göre ve laboratuvar bulgularına bakılarak konulur. Laboratuarda; parasetamol düzeyine, karaciğer fonksiyon testlerine, böbrek fonksiyon testlerine, arteriyel kan gazı, serum laklat düzeyi ve anyon açığına bakılır (Maha ve diğerleri, 2019).

Kan parasetamol düzeyi parasetamol alımını takiben 4. ve 16.saatte venöz kandan bakılır. Rumack-Matthew nomogramına göre 4.saatte 200 µg/ml parasetamol düzeyi üzeri ve 16.saat parasetamol düzeyi 25 µg / ml üzeri gelen hastaların %60'ında toksisite gelişir (McGovern ve diğerleri, 2015). Tedavi yaklaşımlarından bazıları eğer ölçülebiliyorsa 4.saat parasetamol düzeyine göre planlanır (Maha ve diğerleri, 2019).

Karaciğer fonksiyon testlerinden aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) değerlerine bakılır. Bu değerler 24.saatte yükselip, 72.saatte pik değerine ulaşır. Ciddi zehirlenmelerde 12.-16. saatlerde yükselmeler tespit edilir. AST ve ALT değerleri 1000 IU/l'den fazla saptanabilir (Farrell ve Defendi, 2018). Böbrek fonksiyon testlerinde ise kan üre azotuna (BUN) ve kreatinin değerlerine bakılır.

Yeterli sıvı tedavisinin ardından alınan kan gazında pH<7,3 ise ve laktat düzeyi 3,5 üzeri ise mortalite göstergesidir. Artmış anyon açığı saptanabilir (Maha ve diğerleri, 2019).

Parasetamol zehirlenmesini tedavi etmek için hastanın klinik durumuna bağlı olarak çeşitli tedavi yöntemleri vardır. Bu yöntemler parasetamolün gastrointestinal sistemden emiliminin engellenmesi (dekontaminasyon) ve parasetamolün metabolitlerin oluşumunu önlenmesi ya da detoksifiye edilmesi amaçlı antidotların/tedavilerin verilmesi şeklinde başlıklandırılabilir.

Aşırı dozda parasetamol alan insanlarda müdahalelerin yararlarını ve zararlarını değerlendiren randomize klinik çalışmaların derlendiği Chiew Al ve arkadaşlarının 2018'de yayınladığı makalede müdahaleler gastrik lavaj, ipecacuanha veya aktif kömür veya çeşitli ekstrakorporeal tedaviler veya panzehirler olarak sınıflandırılmıştır.

Değerlendirilen 11 randomize klinik çalışma ve toplam 700 katılımcının yer aldığı çalışmalar incelenmiş ve çalışılan çeşitli tedavi yöntemleri arasında dekontaminasyon, ekstrakorporeal önlemler ve parasetamolün toksik metabolitini detoksifiye etmek için antidotlar; metionin, sisteamin, dimercaprol veya asetilsistein verilmesine rastlanmıştır.

Ayrıca bazı hastalara diyaliz ve karaciğer transplantasyonu yapılmıştır. Literatürde en toksik metabolit N-asetil-p-benzokinonimin aktivasyonunu azaltmak için sitokrom P-450'yi inhibe eden ajanların randomize klinik çalışmasına rastlanmamıştır.

Parasetamol aşırı alımının mevcut tedavi yöntemi dünya çapında, esas olarak gözlemsel çalışmalara dayanan intravenöz veya oral asetilsistein uygulanmasını içerir. Bu gözlemsel çalışmalardan elde edilen sonuçlar, anlamlı olmasa da asetilsistein ile tedavinin morbiditede bir azalmaya yol açtığını ve bununla birlikte düşük kanıt düzeyleri nedeniyle, farklı tedavileri karşılaştıran randomize klinik çalışmaların daha fazla yapılması gerektiğini vurgulamıştır. Ayrıca parasetamol kaynaklı hepatotoksisitenin önlenmesi için genellikle kullanılan N-Asetilsistein (NAC)'nin bazı olgularda tedaviye yanıt alınmadığı ya da anafilaksi geliştiği kaydedilmiştir (Mant ve diğerleri, 1984; Tripathi, 2008).

Genel kabul görmüş tedavi yaklaşımı ilaç alımının ilk birinci saati içerisinde acil servise başvurmuş hastalardan bilinç durumu stabil ve havayolunu koruyabilen hastalara 1g/kg (max 50 gr) aktif kömür verilmesi, sonrasında eğer bakılabiliyorsa 4.saat kan parasetamol düzeyi ölçümü sonrasında Rumack-Matthew nomogramının sınır çizgisinin üzerinde kalanlara NAC verilmesi şeklindedir (Farrel ve Defendi, 2018). Dargan ve Jones 2002 yılında yaptıkları çalışmada, karaciğer transplantasyonu endikasyonu olarak, resusitasyona yanıtız metabolik asidoz (pH<7,3), renal yetmezlik varlığı (kreatinin> 300mikromol/L), koagülopati görülmesi (INR>6,5, PT>100sn), evre 3-4 ensefalopati görülmesi şeklinde bildirmişlerdir.

Ülkemizde ise parasetamol düzeyi ölçümü birçok merkezde yapılamamakta olup, toksik doz parasetamol alımında NAC tedavisi başlanmaktadır. Günümüzde, çalışmalar karaciğer fonksiyonunu korumak ve karaciğerin hastalıklarını tedavi etmek için doğal ürünleri kapsamlı bir şekilde araştırmaktadır.

2.1.6.1. Mitokondriyal Oksidatif Sistemi Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

Parasetamol toksisitesinde NAPQI'in ana hedefi bazı mitokondriyal proteinlerdir. NAPQI ayrıca mitokondriyal elektron taşıma zincirinin (ETC) kompleks I/II'sine müdahale ederek elektronların oksijene sızmasına neden olur ve böylece süperoksit radikalleri oluşturur. Süperoksit radikalleri bir kez oluştuktan sonra, mitokondri içinde manganez süperoksit dismutaz (MnSOD) ile hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene (O₂) parçalanır veya

peroksinitrit (ONOO^-) oluşturmak için endojen nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girer. Daha sonra H_2O_2 doğrudan GSH tarafından detoksifiye edilir veya hepatositlerde katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve peroksiredoksin (Prx) gibi bir takım antioksidan enzimlerle atılır. Mitokondride oluşan ONOO^- , GSH ile reaksiyona girerek detoksifiye edilir. Sonuç olarak, GSH bu aşırı serbest radikallere yanıt olarak tükenmekte, bu da nitrotirosin protein eklentilerinin oluşumuna ve mitokondriyal DNA'da hasara neden olan ONOO^- birikimine yol açmaktadır. Parasetamol ilişkili hepatotoksisite oluşumunda mitokondriyal oksidatif stresin hayati rolü göz önüne alındığında, bu yol üzerinden tedavide tek standart antidot olarak NAC kullanılır ve esas olarak NAPQI'nin detoksifikasyonunu arttırmak için GSH'yi yenileyerek etki eder (Yan ve diğerleri, 2018).

NAC oksidatif hasar fazında uygulandığında, mitokondride reaktif oksijen türleri ve peroksinitrit üretilirken hepatoselüler GSH tükendiğinde GSH'ı yenileyerek koruyucu etkiler uygular. Ayrıca karaciğerdeki fazla NAC, Krebs döngüsü için enerji substratları sağlayabilir, böylece hepatic ATP seviyelerinin korunmasını destekleyebilir ve mitokondriyal fonksiyonu iyileştirebilir. Tartışmasız olarak NAC, APAP doz aşımı sonrasında hepatotoksisiteye karşı tedavinin temel dayanağıdır; bununla birlikte, yan etkileri ve dar terapötik penceresi nedeniyle dezavantajları da vardır. Genel olarak, NAC'ın olumsuz etkileri hayatı tehdit edici değildir. Başlangıç infüzyonu ile bulantı, kusma ve anafilaktoid reaksiyonlar görülebilir. NAC tedavisin asıl handikapı, alımı takip eden 8 saat içinde uygulanmazsa etkinliğinin çok azalmasıdır. Hepatotoksisite için potansiyel terapötik hedefler olarak işlev görebilen JNK, p53 ve Nrf2 (Şekil 1) dahil APAP ile indüklenen oksidatif stresin düzenlenmesinde bazı moleküllerin rol oynadığı bulunmuştur (Yan ve diğerleri, 2018).

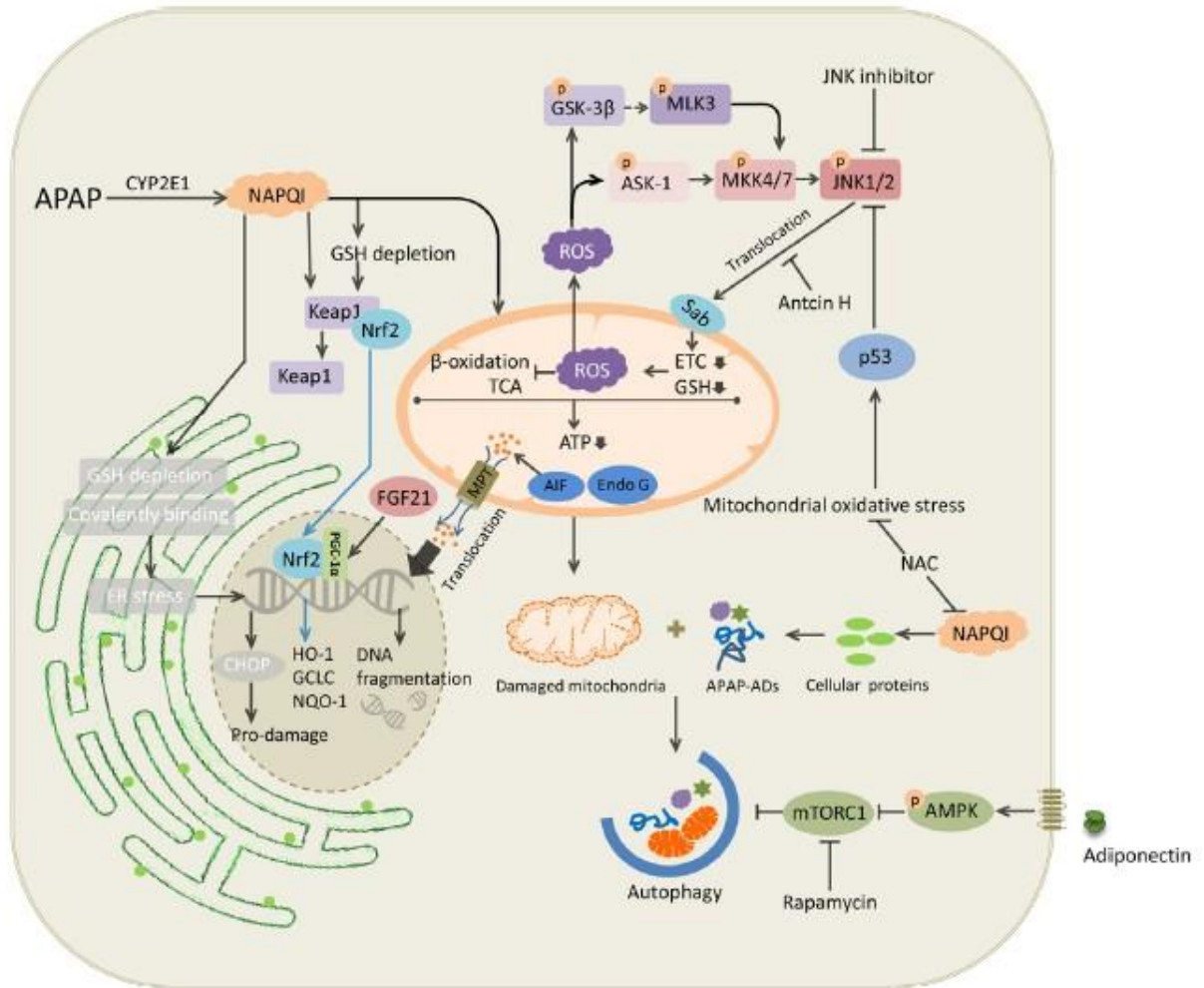
2.1.6.1.1. C-Jun-N-terminal kinaz (JNK)

Biriken NAPQI'in mitokondrideki GSH'ı tüketmesi sonucu, mitokondriden sitoplazmaya H_2O_2 salınımı olur. Bu da tioredoksinin oksikleyerek sinyal düzenleyici kinaz 1(ASK-1)' den ayrılmasına sebep olup, apoptozisi başlatabilir. ASK-1'in aktifleşmesi JNK yolunu aktifler. Aktive olan p-JCK mitokondriye yeniden giderek SH3 homology-associated BTK-binding protein (Sab)'a bağlanarak fosforile olur. Bu etkileşim, ETC işlev bozukluğuna ve ROS salınımının artmasına neden olan intramitokondriyal Src'nin inaktivasyonuna yol

açar. ROS, yukarı akım mitojenle aktifleştirilen protein kinazları aktive etmeye devam eder ve daha sonra JNK'yı fosforile eder. JNK'nin sürekli aktivasyonu mitokondriyal ROS'u güçlendirir ve kendi kendini sürdüren bir aktivasyon döngüsü oluşturur.

Sonuç olarak membran potansiyeli bozulması ve ATP eksikliği, Mitochondrial Permeability Transition (MPT) porunun açık kalmasına neden olur. Endonükleaz G'de dahil olmak üzere bazı mitokondriyal proteinler hücre içine geçerek DNA'yı parçalayıp nekroza sebep olur (Yan ve diğerleri, 2018). Anthcin H isimli ilaç JNK'ya yarışmalı inhibitör olarak etki ederek tedavide etkin bulunmuştur. Ancak yüksek maliyetleri sebebiyle klinik kullanıma geçememiştir (Yan ve diğerleri, 2018).

M. Yan et al.



Şekil 1. JNK, p53 ve Nrf2 dahil APAP ile indüklenen oksidatif stresin düzenlenmesinde bazı moleküllerin rolü (Yan ve diğerleri, 2018)

2.1.6.1.2. P53

P53 tümör baskılayıcı protein, hücrel stres ve DNA hasarı gibi çeşitli uyaranlara yanıt olarak hücre döngüsü, apoptoz, yaşlanma ve metabolizmanın modülasyonunda önemli bir rol oynar. Hücre hasarı onarılabilecek düzeyde ise yaşama yönelik düzenlemeler yaparken, hasar onarılamayacak ise hücrenin ölümünü planlayarak hasarı yok eder. Dolayısıyla, beklenildiği gibi p53, APAP hepatotoksitesindeki oksidatif stres ile aktive edilir ve patogenezdaki rolü hasar düzeyine özeldir. JNK'yı inhibe ettiği gibi hücre rejenerasyonunu da geciktirir, böylece uygun tedavi hedefi olmayabilir (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.1.3. Nrf2

P53'ten başka, hepatotoksik APAP dozlarını takiben oksidatif strese yanıt olarak diğer birçok telafi edici sağkalım yanlısı sinyalleme yolları aktive edilir. Bunlar arasında en köklü olan, NAPQI tarafından indüklenen kelk benzeri ECH ile ilişkili protein 1'in (Keap1) redoks durum değişiklikleri ile aktive edilen nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) gibi görünmektedir. Mekanik olarak, Nrf2 aktivasyonu, mikrozomal epoksit hidrolaz, hem oksigense-1 (HO-1), NADPH: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO-1) ve glutamat sistein ligazını (GCL) gibi antioksidan enzimlerin transkripsiyonel aktivasyonuna yol açar. Bu antioksidanlar NAPQI'yi detoksifiye eder. Nrf2 yoksun farelerde parasetamol toksisitesinin daha aşırı gözükmesi bu yolu tedavi hedefi kılmıştır. Bu yolağa etki eden bir sürü doğal molekül çalışılmış, ancak hiçbiri NAC ile yarışmamıştır. Bu yüzden mitokondriyal yolları hedef alan tedavilerin daha başarılı olacağı düşünülmüştür (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.2. Otofajiyi Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

Otofaji, lizozomal degradasyon yoluyla; katlanmış veya toplanmış proteinler, birikmiş lipitler, aşırı veya hasarlı organeller de dahil olmak üzere istenmeyen sitoplazmik içerikleri ve zararlı patojenleri yok ederek yenilemeyi sağlayan hücrel bir süreçtir. Bu nedenle, APAP'ın neden olduğu şiddetli hücrel strese yanıt olarak hücrel homeostazı korumak için koruyucu bir mekanizma görevi gören otofajinin aktive olması şaşırtıcı değildir. Otofaji mekanizması belirsiz olsa da Rapamisin adlı ilaç, otofajiyi indükleyerek toksisiteyi azaltır (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.3. Endoplazmik Retikulum(ER) Stresini Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

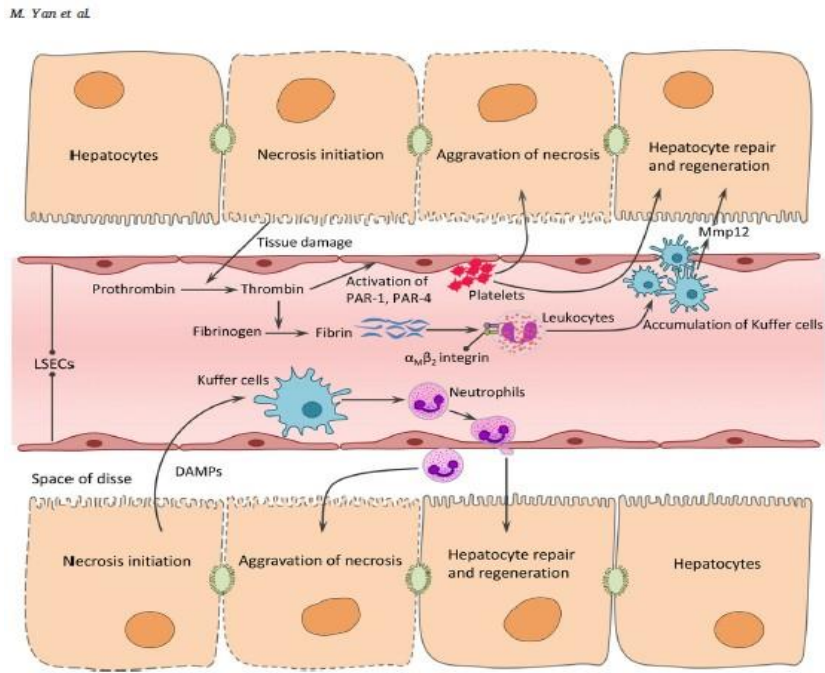
ER stresi alkolik karaciğer hastalığı, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, iskemi-reperfüzyon hasarı ve kolestatik karaciğer hastalığı gibi çeşitli hepatik hasar modellerinde görülebilir. Bozulmuş protein katlama süreci sonrası başlayan bu süreç NAPQI'nin ER proteinlerine kovalent bağlanması ile tetiklenir. Endoplazmik retikulumdaki GSH eksikliği, eIF2 alfanın fosforilasyonuna ATF6'nın ve CHOP'un aktivasyonuna neden olur. CHOP prohasar role sahiptir. Bu veriler ışığında, CHOP'u inhibe etmek için yapılan müdahaleler, karaciğer hasarının önceden görüldüğü APAP zehirlenmesi hastalarının tedavisinde potansiyel terapötik stratejiler olabilir (Şekil 1) (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.4. Glukoz ve Lipid Metabolizmasını Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

APAP aşırı dozunun neden olduğu mitokondri hasarı, kaçınılmaz olarak karaciğerde birçok metabolik değişikliğe yol açar. Yapılan metabolik çalışmalar parasetamol hepatotoksisitesinde karaciğer glukoz ve glikojenin tükendiğini göstermiştir. Bunun nedeni ATP yokluğuna yanıt olarak sitrik asit siklusunun ve yağ asidi betaoksidasyonunun bozulması gösterilmiştir. Tüm bunlar glikoliz artışına neden olur. APAP tarafından indüklenen GSH tükenmesi, oksidatif pentoz fosfat yolu akışını arttırmak için glikoz-6-fosfat dehidrojenazı allosterik olarak aktive ettiği bilinen hücresel NADPH / NADP⁺ oranlarının azalmasına yol açar. Bununla uyumlu olarak, fruktoz ve fruktoz-1,6 difosfatın, yüksek ATP seviyelerini koruyarak APAP ile tedavi edilen sıçan karaciğer dilimlerinde hücre hasarına karşı koruduğu bulunmuştur. Ancak yeterli enerji ile apoptozis de indüklenebilir. Yukarıda belirtildiği gibi, yağ asidi oksidasyonu, peroksizomal aktivitenin telafi edici artışı ile birlikte APAP tedavisi ile inhibe edilir. Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör α (PPAR α), yağ asidi katabolizmasını destekleyen peroksizomal ve mitokondriyal enzimleri kodlar ve APAP toksisitesine karşı koruyucu etkileri birkaç çalışmada doğrulanmıştır. PPAR α 'nın koruyucu etkilerinin yağın katabolizmasındaki rolüne bağlı olabileceği tahmin edilse de yeni bir çalışmada bu korumanın kısmen PPAR α hedef gen mitokondriyal ayrılma proteini 2'nin (UCP2) antioksidan fonksiyonundan kaynaklandığını göstermiştir(Şekil 2)(Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.5. Steril Enflamasyonu Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

Box-1 proteini, mitokondriyal DNA, ürik asit ve ATP gibi DNA fragmanlarını içeren parçaların salınması ile hepatosit nekrozu başlar. Bu bağışıklık uyarıcı faktörler, pro-enflamatuar sitokinleri (TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10) ve kemokinleri (MCP 1, MIP-2 ve IL-8) salgılatır. Sonuç olarak, nötrofiller ve daha sonra monositler aktive olur ve karaciğeri hasar alanına taşınır. Tartışmasız olarak, APAP doz aşımı akut inflamatuvar yanıtı tetikler.



Şekil 2. APAP Karaciğer Hasarında Onarım ve Rejenerasyon Basamakları (Yan ve diğerleri, 2018)

Bununla birlikte, APAP'a verilen bu yanıtın patofizyolojik rolü, karaciğer hasarının ilerlemesine katkıda bulunmasına veya toksisiteye karşı hücresel savunma görevi görmesine rağmen tartışmalıdır. Resolvin isimli bir ilacın bu mekanizmayla parasetamol alımını takiben 12.saatte bile etkili olduğu bildirilmiştir. Ancak geç onarım ve yenilenme için gerekli olan enflamasyonun baskılanması erken dönemde yarar gibi görünmesine karşın geç dönemde zarar verebileceği düşünülmüştür (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.6. Mikrodolaşım Bozukluğuna Yönelik Tedavi Yöntemleri

Hepatosellüler hasara ek olarak, mikrodolaşım bozukluğu da patogeneizde rol oynar. Karaciğer sinüsoidal endotel hücreleri (LSEC'ler), insan ve hayvan modellerinde hepatositlerden daha önce hasarlanır. LSEC'ler ve hepatosit hasarı koagülasyonun bozulmasına ve trombositopeye yol açar. Tedavide bu yüzden heparin denenmiş ve genlere etki edecek ilaçlar denenmiştir. Heparinin APAP toksisitesini erken dönemde azalttığı görülmüştür. Antikoagülasyonun AILI'yı hem pozitif hem de negatif olarak düzenleyebileceği göz önüne alındığında, hemostatik sistemi hedefleyen terapötik stratejiler belirsizliğini korumaktadır ve gelecekte ele alınması gerekmektedir (Yan ve diğerleri, 2018).

2.1.6.7. Karaciğer Onarımı ve Rejenerasyonu Hedefleyen Tedavi Yaklaşımları

APAP aşırı dozunun neden olduğu hücresel stres ve doku hasarı, sonuçta hepatotoksisite hastalarında nihai sonucun kritik bir belirleyicisi olan telafi edici karaciğer onarımı ve rejenerasyonuna yol açar. Hepatotoksisiteden kurtulmada yararlı ve önemli olmasına rağmen, bu sürecin spesifik detayları ve mekanizmaları tam olarak incelenmemiştir.

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), karaciğerde yüksek oranda eksprese edilmiş bir tirozin kinaz reseptörüdür ve ligandları, hepatositler için doğrudan mitojenlerdir. Bu nedenle, EGFR'nin APAP doz aşımından sonra karaciğer rejenerasyonunu desteklediği saptanması şaşırtıcı değildir. Erken dönemde yapılan EGFR inhibisyonu sonrası hepatotoksisitede azalma görülmesi bu mekanizmanın ikili bir rolünün olduğunu ve tedavide kullanılmasının pek mümkün olmadığını gösterir (Yan ve diğerleri, 2018).

2.2. Karaciğer Hastalıklarında Tamamlayıcı (Komplementer) Tedavi

Karaciğer hastalıkları kompleks birçok sistemi de etkilediği için tedavide birçok konu dikkate alınmalıdır. Komplementer ve alternatif tıp geniş bir alan olup giderek artan ve kullanılmaya çalışılan deneyimlerin arttığı bir konudur. Alternatif ve tamamlayıcı tedaviler kişinin bağışıklık sistemini güçlendirmek, hastalık ilerlemesini önlemek ve hastaların hayat kalitesini ve yaşam sürelerini artırmak için kullanılmaktadır. Hastalar arasında da tahmin edilenden daha fazla kullanılmaktadır (Günşar, 2017).

Suudi Arabistan'dan yapılan araştırmada hastaların %50'sinin tamamlayıcı ve alternatif tedaviler kullandığı görülmüş ve çoğunun bu tedavilerden olumlu etki gördüklerine inandıkları bildirilmiştir (Al-zahim ve diğerleri, 2013). Kullanılan bitkisel ilaçların çoğu tek başına yan etki göstermezken klasik ilaç tedavileri ile birlikte alındıklarında yan etki gösterme olasılıkları artmaktadır (Guan ve He, 2013).

Entegre tıp, yan etki ve güvenilirlik açısından tıbbi kanıtların olduğu, klasik tedavi ile tamamlayıcı ve alternatif tıbbın birlikte kullanılması şeklindedir. Örneğin otoimmün hepatitte klasik prednisolon ve azathiopyrine tedavisine destek olarak kurkumin kullanılmaktadır ve olumlu etkileri çok sayıda makalede bildirilmiştir (Gupta ve diğerleri, 2013). Metabolik hastalıklar içinde de karaciğer yağlanması olan hastalar sıklıkla diyet ve egzersiz ile kilo kaybı dışında tedavi arayışlarına girmektedirler. Nonoperatif değerlendirilen karaciğer tümörleri olan hastalar da en sıklıkla alternatif tedavi arayışları içerisine girmektedirler (Günşar, 2017).

Hepatik hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin rolü ve inflamasyonun rolü iyi bilinmektedir. Sonuç olarak, bu basamakların engellenmesi geri çevrilmesi, karaciğer hastalıklarını engelleme ve tedavide umut vadeci tedavi stratejilerini oluşturur. Binlerce yıldır insanlar ilaç olarak gıda ve gıda olarak ilaç inancına sahiptir. Bitkiler, sağlığa yararlı özellikleri ve ilaç etken madde olabilmeleri nedeniyle son zamanlarda dikkat çekmiştir (Saoudi ve El Feki, 2012).

Tıbbi bitki özleri kullanımı, geniş yelpazede karaciğer hastalıkları, iskemi-reperfüzyon hasarı, ateroskleroz, hipertansiyon, hemorajik şok, diyabetes mellitus ve kanser tedavilerinde giderek artmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Karaciğer Sağlığına Etkili Doğal Ürünler (Saoudi ve El Feki, 2012).

Kategori	İsim	Tür isimleri	Özellikli bileşenleri	Karaciğere yararları
Sebzeler	Pancar	Beta vulgaris	Betaın	Kloretik
	Brokoli	Brassica oleracea	Diindolylmethane, glucoraphanin	Antiviral, antikanser
	Havuç	Daucus carota	Beta karoten ve diğer karotenler	Antioksidatif özellikler
	Kara Lahana	Brassica oleracea	Diindolylmethane, sulforaphane	Antikanser, antiinflamatuvar
	Marul	Brassica oleracea	Bazı reçineler	Kolesterol düşürücü
	Tatlı patates	Ipomoea batatas	Beta karoten, lif	Karaciğer koruyucu
	Patates	Dioscorea alata	Diosgenin	Hepatomegali engelleyici
	Lahana	Brassica oleracea	Glukozinolatlar	Alkol etkilerini tersine çevirici
Meyveler	Avokado	Persea americana	Adinopektin	Hipolipidemik aktivite
	Muz	Musa acuminata	Pektin	Siroz önleyici
	Kiraz	Prunus avium	Metil jasmonate	Antioksidan aktivite
	İncir	Moraceae ficus	Fumarik asit, fisin	Yağlanma önleyici
	Limon	Citrus limon	Naringin, sitrik asit	Karaciğer koruyucu
	Papaya	Carica papaya	Likopen, danielone	Antioksidan aktivite
	Nar	Punica granatum	Punicalagins (pomegranate ellagitannins)	Antikanser
	Karpuz	Citrullus lanatus	Sitruilin, likopen	Antitoksik, hipoglisemik
Buğdaygiller	Arpa	Hordeum vulgare	Kafeik asit, p-kumarik asit	Yağlanma önleyici
	Mısır	Zea mays	Lutein, linolik asit	Antioksidatif aktivite
	Esmer pirinç	Oryza sativa	Antosiyaninler, tokoferoller	Antiinflamatuvar etkiler
	Yulaf	Avena sativa	Ergotionin	Antioksidatif aktivite
	Buğday	Triticum stivum	Alkylresorcinols, ferulik asit	Artmış yağ metabolizması
	Darı	Sorghum bicolor	p-hidroksibenzaldehit, metil ferulate	Antioksidatif aktivite

2.2.1. Karaciğer Koruyucu Bitkiler

Silimarin (Silybum marianum); Çeşitli karaciğer ve safra yolları hastalıklarında 200 yıldan fazla kullanılmakta olan Güney Avrupa ve Asya’da bulunan deve dikenini bitkisi olarak anılan doğal bitkilerdendir. Eski Yunan ve Roma’da bu bitki geleneksel tedavilerde çeşitli karaciğer hastalıkları ve sinek ısırıkları için kullanılmıştır. Günümüzde ise Almanya’da özellikle toksik hepatit ve sirozda tedaviye ek olarak kullanılmaktadır. Bu bitki yüzyıllardır kullanılmış olmasına rağmen 1968 yılında yapılan bir çalışmada deve dikenini içindeki silimarin maddesinin karaciğer için etken yararlı madde olduğu gösterilmiştir. Silimarin bir flavonolignans olup en aktif bileşeni silybindir. Ağız yolu ile alınan silimarin safra ile atılır. Antioksidan, antifibrotik, anti lipit-peroksidatif, antiinflamatuvar, membran stabilazör immünmodülatör, karaciğer yenilenmesine etkili özellikler gösterdiği ve glukuronidasyonu artırarak ve glutatyon eksikliğine karşı koruyucu etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı çeşitli karaciğer hastalıklarında kullanılmaktadır. Alkolik sirozdebeklenen yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Silimarin etanol ekstrakte edilmiş

olarak 250 750 mg dozlarında kapsül veya tablet şeklinde üretilmektedir. Günlük doz miktarı değişik olmakla birlikte 2-3 kez alınması önerilmektedir. Silybinin intravenöz formları Avrupa’da onaylı olarak Amanita Phalloides mantar zehirlenmesinde kullanılmaktadır (Lee, J. K. ve diğerleri, 2011; Xiong ve Guan, 2017).

1145 katılımcıdan oluşan bir çalışmada, süt devedikeni (Silybum marianum) elde edilen bitkisel bir ürün olan silimarinin ileri kronik hepatit C hastaları üzerindeki etkileri incelendi. Sonuçlar silimarin kullanımının hepatit C virüsü RNA seviyeleri veya serum alanin aminotransferaz üzerinde hiçbir etkisi olmadığını, ancak silimarin kullanıcılarında daha iyi yaşam kalitesi indekslerinin ve daha az karaciğer semptomlarının gözlemlendiğini göstermiştir (Guan, 2015).

Uzun Biber (Fructus Piperis Longi) ;Çin’de ve Ayurveda tıbbında (eski Hint Tıp Bilimi) uzun yıllardır kullanılan ucuz ve kolay bulunan bir bitkidir. Antioksidan özellikleri ile inflamasyonda, hepatotoksitede, diyabette, obezitede, kanser ve depresyonda faydalı etkileri vardır. Alkol ekstrakte edilmiş hali serum transaminaz, alkalin fosfataz, gama glutamil transpeptidaz, bilirubin düzeylerini olumlu etkileyerek karaciğer fonksiyonlarını iyileştirici özellik göstermiştir ve hepatit B enfeksiyonunun tedavisinde olumlu etkileri bulunmuştur (Lee ve diğerleri, 2011; Kumar ve diğerleri, 2011).

Holy Basil: Çin, Yunan Roma tıbbında özellikle karaciğer koruyucu bir bitki olarak bilinen Ocimum Sanctum L (Labiatae, hint dilinde Tulsi) yeşil bir bitki olarak, pirinçle veya deniz ürünleri ile tüketilebilir. Bu bitkinin, analjezik, antiinflamatuvar, ateş düşürücü, stres giderici, karaciğer koruyucu, immünmodülatör, lipid düşürücü ve antitümör etkileri vardır. Belirgin bir yan etkisi görülmemiştir. Silimarin ile birlikte kullanıldığında sinerjistik etki gösterir (Kumar ve diğerleri, 2011).

Sho-Saiko-To (Xiao-Chai-Hu-Tang ve Minor Bupleurum Formülü): Uzun yıllardan beri Çin’de özellikle kronik hepatitlerde kullanılan Amerika Gıda ve İlaç Dairesi’nin [FDA (Food and Drugs Administration)] onayladığı ilk bitkisel üründür. Hepatosellüler karsinom gelişme riskini azaltmaktadır. 1500 yıllık kullanım geçmişi olan bu madde Japonya’da kronik hepatitlerin tedavisinde rehberlere girmiştir ancak uzun süre kullanımında interstisyel pnömoni ve hatta ölüme yol açması ile kullanımına kısıtlama getirilmiştir (Lee, J. K. ve diğerleri, 2011).

Meyan Kökü (Licorice): Yapılan deneysel çalışmalarda ve siroz araştırmalarında karaciğer rejenerasyonunu artırdığı ve fibrozisi azalttığı gösterilen gıda tatlandırıcısı olarak

kullanılan bitkisel bir ilaçtır (Rajesh ve Latha, 2004). Tıbbi kullanımda jel, tablet, krem sıvı veya toz şeklindedir. Yemeklerden 20 dk önce 2-4 ml veya günde 3 kez 380-1.140 mg önerilmektedir. Karaciğer koruyucu etkisi nedeniyle, Japonya’da kronik viral hepatit ve sirozda intravenöz olarak kullanılmaktadır. Görülen en önemli yan etkisi, kortizol metabolizmasını böbreklerde inhibe edip minerolokortikoid reseptörlerin uyarılması sonucunda ortaya çıkan ödem etkisidir. Diğer ilaçlarla etkileşimlerine dikkat edilmelidir (Rajaratnam ve diğerleri, 2014)

Kahve ;Birçok çalışmada kahvenin karaciğer testlerini düzelttiği, siroz ve hepatosellüler karsinom gelişim riskini azalttığı gösterilmiştir. Günde ikiden fazla kahve tüketimini karaciğer hastalıklarının ilerlemesini önlediği ve yağlı karaciğer hastalığında koruyucu olduğu görülmüştür. İçerdiği kafein ile uyanıklık ve biliş durumunu uyarıcı özellik gösterir. Tüm dünyadaki yoğun tüketilen popüler içeceklerdendir ve antioksidan özelliği mevcuttur (Yeşil ve Yılmaz, 2013).

Sıçanda alüminyum klorür tarafından indüklenen hepatotoksistide elma polifenol ekstraktının karaciğer oksidatif üzerinde hepatoprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir. Geleneksel çin tıbbında koyu yeşil yapraklı bitkilerin karaciğer koruyucu olduğu kabul edilmektedir. Yeşil arpa yapraklarından elde edilen bir flavonoid, saponarin adlı maddenin güçlü antioksidan etkileri kanıtlanmıştır. Yine geleneksel çin tıbbında kullanılan maş yeşil fasulyenin karaciğer koruyucu etkileri bilinmektedir. In vivo çalışmalar, yeşil çay yapraklarının karaciğer kanseri için güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğunu kanıtladı. Karaciğer tümörlü sıçanlarda, yeşil çay ekstraktı ile tedavi uygulanmış ve güçlü antitümör aktivitesi sağlanmıştır. Narenciye (greyfurt, limon, mandalina, portakal) ve turpgiller (lahana, brokoli, karnabahar, tere gibi sebzeler)’in, karaciğer malignensi üzerine olumlu etkileri bildirilmiştir. Kimyon tohumu yağları, hepatobiliyer komplikasyonlar dahil olmak üzere birçok rahatsızlık için yaygın olarak kullanılmaktadır ve yararları gösterilmiştir. Soğangillerin (Sarımsak, pırasa, soğan, yeşil soğan) ise çeşitli karaciğer koruyucu etkileri olduğu kanıtlanmıştır. İspanyol karaturp, karaciğer kanseri hücrelerinde detoksifikasyon enzimlerinin güçlü bir indükleyicisi olduğu kanıtlanmış eşsiz glukofafalin içerir. Phyllanthus urinaria, potansiyel antioksidatif özelliklere sahip bitkisel bir ilaçtır ve hem hücre kültürlerinde hem de farelerde steatohepatiti, belki de oksidatif stresi azaltarak, iltihabı hafifleterek ve lipit birikimini azaltarak iyileştirdiği kanıtlanmıştır. Simaroubaceae (Picrasma Quassoides) tropik ağaçlar ve çalılar ailesidir ve karbon tetraklorür kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (Guan, 2015).

2.3. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Normal fizyolojik koşullarda, hücrelerde sürekli oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile onlarla etkileşime geçen antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROS lehine bozulması yani hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif stres olarak tanımlanır (Sies ve Cadenas, 1985).

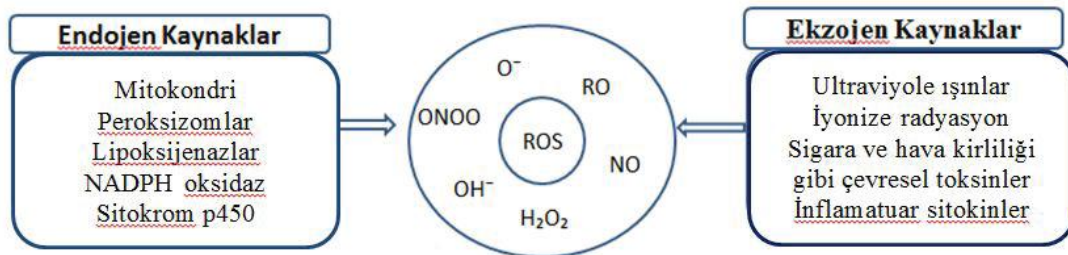
Serbest radikallerin birikmesi ile oluşan oksidatif stresin, Parkinson, Alzheimer, Huntington, Amyotrofik lateral skleroz, immün sistem bozuklukları, diyabet, kanser, kardiyovasküler bozukluklar kanser ve yaşlanma ile meydana gelen bir sürü dejeneratif hastalık gibi birçok patolojiye neden olduğu düşünülmektedir (Pisoschi, 2015; Pervival, 1998)

2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri; Oluşum Mekanizması ve Fonksiyonu

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküler yapılar olarak tanımlanır. Bu moleküller oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu oluşan kısa ömürlü ve güçlü oksidan özellikte oksijen metabolitleridir. Bu serbest oksijen radikalleri başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla birleşir. Böylece organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur (Poljsak ve diğerleri, 2011). Serbest oksijen radikalleri, endojen ve ekzojen reaksiyonlar sonucu oluşur (Şekil 3).

Endojen: Aerobik metabolizma kullanan tüm organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak oluşur. Mitokondriyal elektron transportu, bütün sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ve oksidatif fagositoz (enfeksiyon) reaksiyonlarında serbest oksijen radikalleri oluşur.

Ekzojen: Toksinler (kimyasallar, sigara, alkol), hava kirliliği, güneş ışını, X-ray ışınları etkisi ile serbest oksijen radikalleri oluşur (Karakan ve Nazlıkul, 2017).



Şekil 3. Serbest Radikal Oluşumunda Endojen ve Ekzojen Kaynaklar (Aslankoç ve Arkadaşları, 2019)

Biyomembranlar ve hücre içi organeller membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin olması nedeniyle oksidanların saldırılarına duyarlıdırlar. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Mercan, 2004).

2.4. Antioksidanlar

Antioksidan, hücrede lipit, protein ve DNA gibi oksidasyona uğrayabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen / geciktirebilen maddelere denir. Bahsi geçen mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak onların zararlı etkilerini giderir ve hücresel düzeyde meydana gelen hasarı engeller. Antioksidan maddeler dört farklı mekanizma ile antioksidan aktivitelerini sürdürür (Sies ve Cadenas, 1985).

1-Temizleme etkisi; Serbest oksijen radikallerini yakalayarak ya da onları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirirler. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder (Halliwell, 2000).

2-Baskılama etkisi; Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirir ya da etkilerinin veya reaksiyon hızlarının azaltılması ile etki gösterirler. Vitaminler ve flavonoidler etkilerini bu yolla gösteren moleküllerdir (Lopez ve Denicola, 2013).

3-Onarma etkisi; Serbest radikallerin lipitler, proteinler ve DNA gibi yapılar üzerinde oluşturdukları biyolojik hasarı onararak fonksiyon görürler (Pisoschi ve Pop, 2015)

4-Zincir koparma etkisi; Serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerinin engellenmesi şeklinde etki ederler (Valko ve diğerleri, 2007).

Antioksidanların bir kısmı, vücuda dışarıdan diyetle alınırken (enzimatik olmayan) bir kısmını ise endojenik olarak (enzimatik) üretir. Katalaz, süperoksit dizmutaz ve glutatyon peroksidaz, vücudun serbest radikallere karşı ürettiği birinci basamak enzimatik antioksidanlardır (Ighodaro ve Akinloye, 2019).

Sağlık açısından önemli enzimatik olmayan dışarıdan ağız yolu ile alınan antioksidanlar; A, E ve C vitaminleri, fenolik maddeler, resveratrol, kuersetin ve kateşin gibi flavonoidlerdir. Birçok çalışma, enzimatik antioksidanların (SOD, CAT, GPx) ve enzimatik olmayan antioksidanların (C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit ve diğerleri) oksidatif strese karşı korunmasında çeşitli rolleri olduğunu göstermiştir (Karakan ve Nazlıkul, 2017).

Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla, organizmada doğal olarak bulunan savunma sistemlerinin bir kısmı ya da antioksidan özellik gösteren bazı farmakolojik ajanlar da kullanılmakta ve bu bileşikler, ekzojen savunma sistemleri olarak adlandırılmaktadır (Yazıcı ve Köse, 2004)

2.4.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal birçok ürünün antioksidan özelliği bulunmaktadır. Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle barındırdıkları flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Polifenoller; flavonoidler, fenolik asitler, taninler, stilbenler(resveratrol) ve lignanlar gibi alt gruptan oluşmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin; çeşitli antialerjik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antitrombotik özellikleri gösterdiği gibi kardiyovasküler hastalıklar, kanser, osteoporoz, diyabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklarda da koruyucu etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bazı bitki fenolikleri son zamanlarda antioksidan olarak kabul edilmektedir bu sebeple ilaç sanayide ve ticarete kullanılmaktadırlar. Bu açıdan diyetle koruyucu etki sağlayan bu antioksidanların gıdalardaki biyolojik mevcudiyetinin ve alınması gereken düzeylerinin bilinmesi önemli görülmektedir (Kolaç ve Gürbüz, 2017)

2.4.1.1. Fenolik Bileşikler

Bir aromatik halkaya bağlı bir veya birden fazla hidroksil grubu içeren kimyasal moleküllerdir. Bitki metabolizmanın ikincil ürünü olan bu maddeler bunları içeren bitkiler tüketildikçe antioksidan özellikleri ile yararlı etkiler gösterirler. Serbest radikallerin

oluşmasını engelleyerek, metalleri bağlayarak ve lipid peroksidasyonunu engellerler (Durmaz, 2002). Redoks özellikleri yüksektir, indirgeyicidirler ve hidrojen kaynağıdır (Can ve diğerleri, 2005).

Flavanoidler, fenolik bileşiklerdendir ve bu grubun en önemli antioksidanlarıdır. Bitkilerde, sebze ve meyvelerde bolca bulunur. Antioksidan özelliklerini, ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonlarından şelatlar oluşturarak ve serbest radikalleri yakalayarak gösterirler (Can ve diğerleri, 2005).

2.4.1.2. Tokoferoller

E vitamini; hücre membranlarını, lipid peroksidasyondan korumada anahtar rol oynar. Yağda çözünür ve dört tokoferol ve dört tokotrienol olmak üzere 8 moleküler formu mevcuttur. Antioksidan özelliği en fazla olan alfa tokoferoldür ve etkisini serbest radikalleri tutarak ve lipid peroksil radikallerini temizleyerek gösterir. Tokoferoller, tüm gıdalarda eser miktarda bulunur. Isıya karşı dirençli olmaları önemli bir özellikleridir (Tüzün ve Garip, 2005).

2.5. Ficus Carica (İncir)

Ficus carica fig olarak anılır. Ficus, dünyadaki tropik ve subtropikler iklimlerde meydana gelen yaklaşık 800 çeşit karasal ağaç, çalılık, hemiepipit, dağcı ve sürüngen türüyle, anjiyopermlerin en büyük türlerinden birini oluşturur (Resim 1).



Resim 1. Ficus Carica (Web_1)

2.5.1. Ficus Carica Tarihçesi

İncir kültürü Anadolu'da insanlık tarihi kadar eski dönemlere dayanan kültür meyveleri içinde, en eski gelişme tarihine sahip meyvelerden biridir. İncirin anavatanı Türkiye olup, buradan Suriye, Filistin ve daha sonra da Ortadoğu üzerinden Çin ve Hindistan'a yayılmıştır. Dünyada oldukça sınırlı sayıda ülkede incir üretimi yapılmakta olup, buna bağlı olarak kuru incir üreten ülke sayısı da oldukça azdır (TC Ticaret Bakanlığı, 2020)

2.5.2. İncir Üretimi ve İhracatı

Türkiye Üretimi:

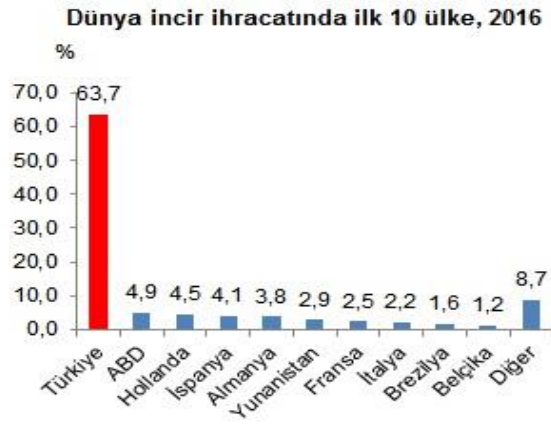
İncir, Akdeniz kıyılarının tipik meyvesidir. Yetiştirme açısından en uygun ekolojik koşulları Ege Bölgesindeki Büyük ve Küçük Menderes havzalarında bulmuş, en fazla çeşit zenginliğini de bu bölgelerde göstermiştir. Özellikle İzmir ve Aydın en önemli üretim bölgeleridir. Ege bölgesi dışında üretilen incirler ekseriyetle taze olarak tüketilirken, Ege Bölgesinde üretilen incirlerin büyük bölümü kurutularak değerlendirilmektedir. Türkiye İstatistik Kurumunun 2015 yılı verilerine göre, Türkiye'de 9,7 milyonu meyve veren olmak üzere, toplam 10,7 milyon adet incir ağacı bulunmaktadır. Bu ağaçlardan elde edilen taze incir miktarı yılda ortalama 205–300 bin ton arasında değişmektedir. Türkiye'de birçok incir çeşidi yetiştirilmesine rağmen, özellikle “Sarı Lop” adı verilen incir çeşidi; büyüklüğü, tadı, etli oluşu, açık rengi ve yumuşak kabuğu ile dünyada kurutmaya en uygun türlerden birisi olarak nitelendirilmektedir. Bu incir çeşidinin ülkemizdeki en önemli üretim alanı, İzmir ve Aydın civarındadır. Ülkemiz incir üretiminin %90'ından fazlasını sarı lop çeşidi incirler oluşturmaktadır. Toplama işlemi tamamlanan taze incirler, ağaçtan veya metalden yapılan yastıklara veya karton tekneler üzerine serilerek, güneş altında 2–4 gün süre ile kurutulur. Kurutma işlemi incirin depolama süresini artırdığı gibi, besin değerini de artırmaktadır.

İncirin yetiştirilmesi için en elverişli bölgeler Büyük ve Küçük Menderes havzalarıdır. İncirin %80'i Aydın çevresinde Büyük ve Küçük Menderes ovalarında yetişir. Burada daha çok kurutmalık incir yetiştiriciliği yapılmaktadır. İncir, her ne kadar subtropik bir meyve olsa da geniş ekolojik uyum kabiliyeti nedeniyle ülkemizin tüm sahil kuşağında yetiştirilmektedir. Bu doğrultuda, Marmara, Akdeniz, Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri gibi bazı bölgelerimizde de sofralık incir yetiştiriciliği yapılmaktadır. (T.C. Ticaret Bakanlığı Esnaf, Sanatkârlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, 2020)

Dış Ticaret:

Ülkemiz, dünya kuru incir ihracatında da birinci sırada yer almakta olup, dünya ihracatının yaklaşık %65'i Türkiye'den yapılmaktadır. Kuru incir sektöründe yer alan diğer önemli ihracatçı ülkeler İran, İspanya, ABD ve Yunanistan'dır. Ülkemiz kuru incir ihracatına ilişkin veriler incelendiğinde ise Fransa ve Almanya'nın en önemli ithalatçılar olduğu göze çarpmaktadır. Bu iki ülkenin toplam ithalattan aldıkları pay %28 düzeyindedir. Bu ülkeleri, ABD, İngiltere ve İtalya takip etmektedir (Tarım ve Orman Müdürlüğü, 2020).

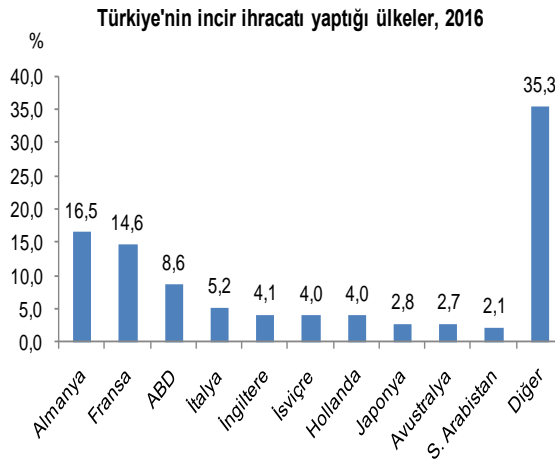
TÜİK Türkiye verilerine göre, 2016 yılında dünya incir ihracatının %63,7'sini gerçekleştirerek ilk sırada yer aldı (Şekil 4). 2016 yılı dünya toplam incir ihracatı 392 milyon dolar olurken, söz konusu yılda Türkiye yaklaşık 250 milyon dolarlık incir ihracatı gerçekleştirdi. Toplam incir ihracatında en yüksek paya sahip diğer ülkeler sırasıyla; %4,9 ile ABD, %4,5 ile Hollanda, %4,1 ile İspanya, %3,8 ile Almanya ve %2,9 ile Yunanistan oldu.



Şekil 4. Dünya İncir İhracatında İlk On Ülke, 2016(Web_2)

Türkiye'nin 2016 yılı incir ihracatının %87'sini kurutulmuş incir, %13'ünü ise taze incir oluşturdu. 2014 yılında 280 milyon dolara ulaşan incir ihracatı, 2015 yılında %10,1 azalarak 252 milyon dolara geriledi. 2016 yılında da bir önceki yıla göre %1,1 gerileyen ihracat 249,5 milyon dolar oldu.

Türkiye 2016 yılında dünyanın 96 ülkesine incir ihracatı gerçekleştirdi. İhracat yapılan ülkeler arasında Almanya %16,5 pay ile ilk sırada yer alırken, bu ülkeyi sırasıyla %14,6 pay ile Fransa, %8,6 pay ile ABD, %5,2 pay ile İtalya, %4,1 pay ile İngiltere ve %4'er pay ile İsviçre ve Hollanda takip etti (Şekil 5).



Şekil 5. İncir İhracatı Yapılan Ülkeler(Web_3)

Dünya kuru incir üretimine ilişkin veriler incelendiğinde, Türkiye'nin yaklaşık %47'lik bir payla ilk sırada yer aldığı görülmektedir. 2016 yılı itibariyle ülkemizi sırasıyla İran, ABD ve Yunanistan takip etmektedir.

2.5.3. İncirin İçeriği

Taze incirler yaklaşık %12 oranında şeker ihtiva ederken, kurutulduktan sonra şeker oranı %50'ye yükselmektedir. Yüksek kalori değeri, mineral maddeler ve besin maddeleri içeriğiyle gıda maddeleri arasında özel bir yeri olan kuru incirin çok çeşitli tüketim alanları mevcuttur.

Ficus Carica proteolitik enzimleri, amino asitleri, mineralleri ve şekerleri, triterpenleri ve organik asitleri içeren bir meyvedir. Ficus Carica fenollerce, esansiyel yağlarca, flavonoidlerce zengindir (Tablo 2).

Tablo 2. İncirin Çeşitli Kısımlarının Besin İçerikleri (Mopuri ve Diğerleri, 2018)

Örnek	Toplam polifenoller(mg/g GAE)	Toplam flavanoidler(mg/g QE)
Meyve		
Hexane	10.34±0.57	8.46±1.1
Etil asetat	44.67±2.51	36.17±2.5
Etanol	104.67±5.51	81.67±4.0
Aqueous	66.6±1.63	42.33±2.5
Yaprak		
Hexane	-	-
Etil asetat	12.22±0.124	9.24±0.215
Etanol	54.14±4.325	24.52±1.202
Aqueous	32.45±5.058	24.05±3.021
Kök		
Hexane	-	7.665±1.025
Etil asetat	15.302±3.202	12.025±2.302
Etanol	48.361±1.253	26.325±2.402
Aqueous	28.605±2.035	19.256±1.115

2.5.4. İncirin Kullanım Alanları

Kuru incir, uluslararası pazarlarda, çerezlik olarak tüketildiği gibi pasta imalatında, çeşitli yemeklerin yapımında, dilimlenmiş olarak ekmek imalatında, şekerli mamuller imalatında ve meyve karışımlarında kullanılmaktadır. Doğrudan tüketimi tercih edilmeyenlerden pekmez, hurda incirlerden de etil alkol üretilmektedir. Etil alkolün üretimi esnasında incir çekirdekleri de boya, kozmetik ve ilaç sanayinde değerlendirilmektedir.

2.5.5. İncirin Terapötik Etkileri

Çeşitli incir türleri, geleneksel tıpta kullanılmaktadır. İncirler, geleneksel olarak metabolik, kardiyovasküler, solunumsal, spazm giderici, antiinflamatuvar tıbbi yararları için kullanılır. Çeşitli toplumlarca yaprakları ve meyveleri, laksatif, uyarıcı, öksürük giderici, sakinleştirici, ve mukolitik olarak kullanılır. Yapraklarının kaynatılması hemoroide iyi gelirken, meyvelerinin tüketimi özellikle çocuklar için laksatif özellik göstermesi nedeniyle yaygındır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, incir antioksidanlarının plazmadaki lipoproteinleri oksidasyondan koruyabildiği ve tüketimden 4 saat sonra plazma antioksidan kapasitelerinde önemli bir artış sağladığı bildirilmiştir.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada Ficus Carica kökü ekstraktının, metanol kaynaklı karaciğer hasarına karşı profilaktik olarak önemli bir koruma sergilediği gösterilmiş ve serum transaminazları, ALP ve LDH'de toksinin aracılık ettiği artışın azalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Yine sıçanlarla yapılmış başka bir hepatotoksisite çalışmasında hücre toksisitesi için iyi bilinen bir işaretleyici olan laktat dehidrogenaz düzeyinin Ficus Carica sayesinde anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada Ficus Carica ekstresinin, antioksidan etkileri artırmasıyla metanol kaynaklı oksidatif stresin azalttığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, oksidatif stresin indüksiyonundan önce veya sonra antioksidanlar uygulandığında oksidatif hasarın nötralize edildiği hipotezi ile hemfikiridir. Ficus carica kök ekstraktı ile tedavinin artmış lipid peroksidasyonu azalttığı ve SOD, CAT ve GPx düzeylerini düşürdüğü gerçeği, incir kök ekstraktını lipidlerin metanolle peroksidasyonunu önleyebileceğini gösterdi. Dahası, bu bulgular, hepatosit bütünlüğünü ve işlevini sürdürmede Ficus Carica'nın yararlı etkisini desteklemiştir (Saoudi ve El Feki, 2012).

Mopuri ve diğerleri 2018 yılında, Ficus Carica'nın çeşitli bölümlerinin antioksidan, antidiyabetik ve antilipojenik etkilerini in vitro etkilerini araştırdıkları çalışmada; Ficus Carica meyve, yapraklar ve kök kabukları ekstrakte ettiler ve toplam polifenol ve flavonoid içeriklerine baktılar. Ekstraktların antioksidatif, antidiyabetik (alfa amilaz ve alfa glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu) ve antiobesojenik (antilipaz) aktivitelerini incelediler.

Sonuçlara göre meyve etanollü ekstrakt, diğer tüm ekstraktlara kıyasla yüksek miktarda polifenol ve flavonoid (104 ve 81 mikrogram/ml) içerir. F. Carica meyvesinin etanolik ekstraktının aktivitesi, antioksidatif, antidiyabetik ve antiobesojenik etkiler açısından bitkinin diğer tüm ekstrelerinden ve parçalarından önemli ölçüde ($p < 0.05$) daha yüksek olduğunu buldular. Meyve etanolik ekstraktının antioksidatif (134 mikrogram/ml) ve alfa

glukozidaz, alfa amilaz ve pankreatik lipaz aktivitesinin bitkinin diğer tüm ekstraktlarından daha iyi olduğunu gösterdiler. Bu çalışmanın sonuçları, F. Carica'nın meyvesinin etanolik ekstraktının, potansiyel antidiyabetik ve antiobesojenik ajanlara sahip olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada, F.Carica'nın yaprakları ayrıca iyi antioksidan, antiinflamatuvar ve hepatoprotektif aktivite göstermiştir.

Gond ve Khadabadi (2008) Ficus Carica'nın gölgede kurutulmuş yapraklarını, petrol eteri kullanılarak ekstre etti ve rifampisin ile muamele edilmiş sıçanlarda antihepatotoksik aktivite açısından araştırdı. Petrol eter ekstraktı tedavisi ile sıçanlarda rifampisin tedavisinin neden olduğu biyokimyasal, histolojik ve fonksiyonel değişikliklerin anlamlı şekilde tersine döndüğü ve bu durumun umut verici hepatoprotektif aktiviteye işaret ettiğini gösterdiler. Ficus Carica özü ile tedavi edilen grupta AST, ALT seviyelerinde anlamlı bir azalma ve histopatolojik bir iyileşme gözlemlendi. 1998 yılında Serraclara ve diğerleri Tip 1 diyabetik hastalarda incir yaprağı kaynağının hipoglisemik etkisinin ve 2000 yılında Canan ve diğerleri diyabetli sıçanların kolesterol seviyelerini düşüren Ficus Carica yapraklarının bir özütünü kullandılar. Bu farmakolojik özelliklerin muhtemelen bu bitki özütlerindeki fenolik bileşiklerin yüksek içeriğinden kaynaklandığını düşündüler.

Literatür detaylı incelendiğinde incir bitkisinin çeşitli kısımları üzerinde çalışmalara rastlansa da, incir çekirdeği ile ilgili henüz yayınlanmış bir çalışma yoktur. Mevcut incir çalışmalarında incirin meyvesinin, yapraklarının ve köklerinin hepatoprotektif etkisinin olması çekirdeğinde de aynı etkilerinin olabileceğini düşündürmüştür. Bu sebeple dünyadaki üretiminin birinciliğine sahip Aydın ili için, bu çalışma incir çekirdeğinin olası hepatoprotektif etkilerinin bulunması halinde umut vaat edici olmaktadır.

2.6. İncir Çekirdeği Yağı (Fig Seed Oil)

İncir çekirdekleri büyük, orta veya küçük gibi boyut olarak büyük farklılıklar gösterir ve sayıları meyve başına 30 ila 1600 arasındadır (Lansky ve diğerleri 2008; Badgujar ve diğerleri 2014). Örneğin, bir meyve başına ortalama çekirdek sayısı 420'dir ve "Sarı Lop" incir çeşitleri için 1000 tohum ağırlığı 1,28 gr'dır (Çalışkan ve diğerleri, 2012). İncirde çok sayıda yenilebilir çekirdek vardır ve tozlaşmadıkça genellikle içi boşurlar. Kuru incirin kendine has cevizli tadı da çekirdeklerinden elde edilir. Günümüzde incir çekirdekleri, yemeklik yağ ve kayganlaştırıcı kaynak olarak kullanılabilir (Badgujar ve diğerleri, 2014).

Tablo 3. İncir Çekirdeği Yağı Yağ Asidi İçerikleri

Yağ asitleri	%
Palmitik asit C16:0	5.0-9.0
Stearik asit C18:0	2.0-4.0
Oleik asit C18:1 (n-9)	14.0-24.0
Linoleik asit C18:2 (n-6)	20.0-35.0
α - linolenik asit C18:3 (n-3)	32.0-50.0
γ – linolenik asit C18:3 (n-6)	0.17
Araşidik asit C20:0	En çok 0.7
Eikosenoik asit C20:1 (n-9)	0.5
Behenik asit C22:0	En çok 0.5

Güven ve diğerlerinin 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada *Ficus Carica* tohumlarından yağ, 30°C'yi geçmeyen ortamlarda ısıl işlem görmeden soğuk press yöntemi ile gaz ve sıvı kromatografisi kullanılarak elde edilmiştir. Yağ sabit yağdır ve belirgin bir koku ve tada sahip berrak, sarı bir sıvıdır. Kuru tohumlar %30 sabit yağ içerir. İçerdiği yağ asitleri şu şekildedir: Oleik-%18.99, linoleik-% 33.72, linolenik-% 32.95, palmitik-%5.23, stearik-%2.1.8, araşidik-%1.05, α -linolenik(n-3) asit, bitkisel Omega 3 kaynağıdır (Tablo 3). Oküler sağlık için önerilen besinlerden biri Omega 3 yağ asitleridir. Polifenoller, flavonoidler ve antosiyaninlerin yüksek antioksidan kapasitesi vardır. İncirin antosiyanin içeriği, sağlıklı kan lipit seviyelerinin korunmasına yardımcı olabilir ve obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanserlerin önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir (Güven ve diğerleri, 2019).

Nakilcioğlu-Taş'ın 2019'da yaptığı çalışmada üç ayrı lokasyondan alınan incir örnekleri incelenmiş olup, incir çekirdeği yağında 14 yağ asidi tespit edilmiştir (Tablo 4). Germencik lokasyonundaki incir tohumları en yüksek PUFA ve en düşük SFA'ya sahip örnek olarak bulunmuştur. İncir tohumu yağı, besin açısından zengin, sağlıklı bir yağdır. W-3 (α -linolenic ve cis5, 8, 11, 14, 17-eikosapentaenoik asit), (linoleik asit) yağ asitleri ve W-6 içermesi nedeniyle ticari bir kaynak olarak kabul edilebilir.

Tablo 4. Üç Ayrı Bölgeden Toplanan İncir Çekirdeği Yağının Yağ Asidi İçerikleri (Güven ve Diğerleri, 2019)

Yağ asidi	İsim	Yer		
		İncirliova	Germencik	Nazilli
C16:0	Palmitik asit	7.40±0.380	3.58±0.25	7.00±0.130
C16:1	Palmitoleik asit	0.06±0.003	0.06±0.003	0.05±0.001
C17:0	Heptadekanoik asit	0.06±0.003	0.06±0.002	0.06± 0.001
C18:0	Stearik asit	3.38±0.020	3.73±0.180	2.97±0.330
C18:1n9c	Oleik asit	16.82±0.070	17.79±0.030	16.97±0.050
C18:2n6c	Linoleik asit	32.81±0.750	37.95±0.78	31.80±0.470
C20:0	Araşidik asit	0.02±0.003	0.03±0.001	0.02±0.001
C18:3n6	γ – linolenik asit	37.87±0.160	41.8±0.96	39.09±0.140
C20:1	cis-11- eikosenoik asit	0.26±0.010	0.18±0.010	0.23± 0.030
C18:3n3	α – linolenic asit	0.30±0.020	0.25±0.20	0.30±0.030
C21:0	heneikosenoik asit	0.04±0.002	0.08±0.005	0.04±0.005
C20:3n6	cis-8, 11,14- eikosatrienoik asit	0.09±0.004	0.04±0.005	0.09±0.001
C24:0	lignoserik asit	0.03±0.004	0.04±0.001	0.03±0.001
C20:5n3	cis-5,8,11,14,17-eikosapentanoik asit	0.39±0.040	0.24±0.030	0.11±0.010
Σ SFAs		10.98±0.260	7.10±0.140	10.24±0.32
Σ MUFAs		17.22±0.15	17.05±0.30	17.48±0.32
Σ PUFAs		71.80±0.110	75.85±0.15	72.28±0.002

Güven ve diğerlerinin 2019’da yaptığı çalışmada ise yağ bileşimi gaz kromatografisi ile belirlenen incir tohumu yağının 9 ana yağ asidi içerdiği bulunmuştur. Karbon sayısı 16’dan az olan doymuş yağ asitlerinin yüzde alanlarının toplamı %0,3’ten fazla değildir. Yağ verimi %22,7’dir. Sekiz E vitamini izomerinin tam spektrumu 4 tokoferol ve 4 tokotrienol içerir. Bu çalışmada incir tohumu yağında yüksek oranda γ-tokoferol (4,267 ppm) tespit edilmiştir. En baskın sterol beta-sitosteroldür (% 66.43) (Tablo 5).

Tablo 5. İncir Çekirdeği Yağı Özellikleri (Güven ve diğerleri, 2019)

İncir çekirdeği yağı tokoferol içeriği			
	α- tokoferol (ppm)	γ – tokoferol (ppm)	δ- tokoferol (ppm)
İncir çekirdeği yağı	157	4.267	147
Toplam tokoferoller	4.571		
İncir çekirdeği yağı sterol içeriği			
Steroller	% sterol içeriği içindeki payı		
Campesterol	2.99		
Stigmasterol	2.18		
Clerosterol	0.68		
Beta-sitosterol	66.43		
Delta-5-avenasterol	20.15		
Sitosterol	1.18		
Delta-7-stigmasterol	1.28		
Delta-7-avenasterol	5.07		
Total sterol	6.516.20 mg/kg		
Antioksidan kapasite			
Yağ	% Antioksidan kapasite		
İncir çekirdeği	52.54		
Fenolik içerik			
Yağ	Fenolikler (GAE/100 g oil)		
İncir çekirdeği	79.5 mg		

Nakilcioğlu-Taş (2019) yılında yaptığı çalışmada sarı lop incir tohumu çeşitlerinin yakın bileşimleri belirlemiştir. Bu çalışmada, incir tohumlarının yağ ve karbonhidrat bakımından zengin olduğu görülmüş, içerdiği başlıca mineraller Ca, K ve P olarak bulunmuştur. Diğer çalışmalara benzer bu çalışmada da incir çekirdeği yağı, doymuş yağ asitlerinden daha fazla miktarda doymamış yağ asitlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen bulgular dikkate alındığında, incir tohumlarının ilaç takviyesi olarak kullanılması mümkün olabilir ve incir tohumlarının ticarileştirilmesi ön plana çıkabilir.

Bu yağ asitleri insan sağlığına önemli katkılar sağlar ve esansiyel yağ asitleri olarak bilinirler. İncir çekirdeği yağındaki doymamış yağ asitlerinin miktarının doymuş yağ asitlerinden daha yüksek olması önemlidir. Örneklenen tüm yağlar, değişken seviyelerde antioksidan aktivite gösteren önemli bir fenolik içeriğe sahip olduğunu göstermiştir. İncir çekirdeği yağının sahip olduğu fenolik içerik sayesinde yüksek süpürme aktivitesi ile antikarsinojenik, antioksidan, antimutajenik, serbest radikalleri tutan ve lipid peroksidasyonunu inhibe eden özellikler gösterir. İncir tohumu yağının içerdiği E vitamini, tüm hücre zarlarını serbest radikal hasarından korur ve endotel fonksiyonu C-reaktif protein (CRP) seviyelerini azaltır. Sonuç olarak, F. Carica çekirdeği yağları, yüksek mono ve çoklu doymamış yağ asitleri, uçucu yağ bileşenleri, sterol ve tokoferol içeriği ile takviyeler için iyi bir hammadde olabilir (Güven ve diğerleri, 2019)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

22/05/2017 tarihli Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısının 2017/040 sayılı kararı ile bu çalışmanın yürütülmesinde sakınca görülmediği onaylanmıştır (Ek-1) Örneklem sayısı literatürdeki benzer çalışmalar baz alınarak yapılan G-Power analizi kullanılarak belirlenmiştir.

3.1. Yöntem

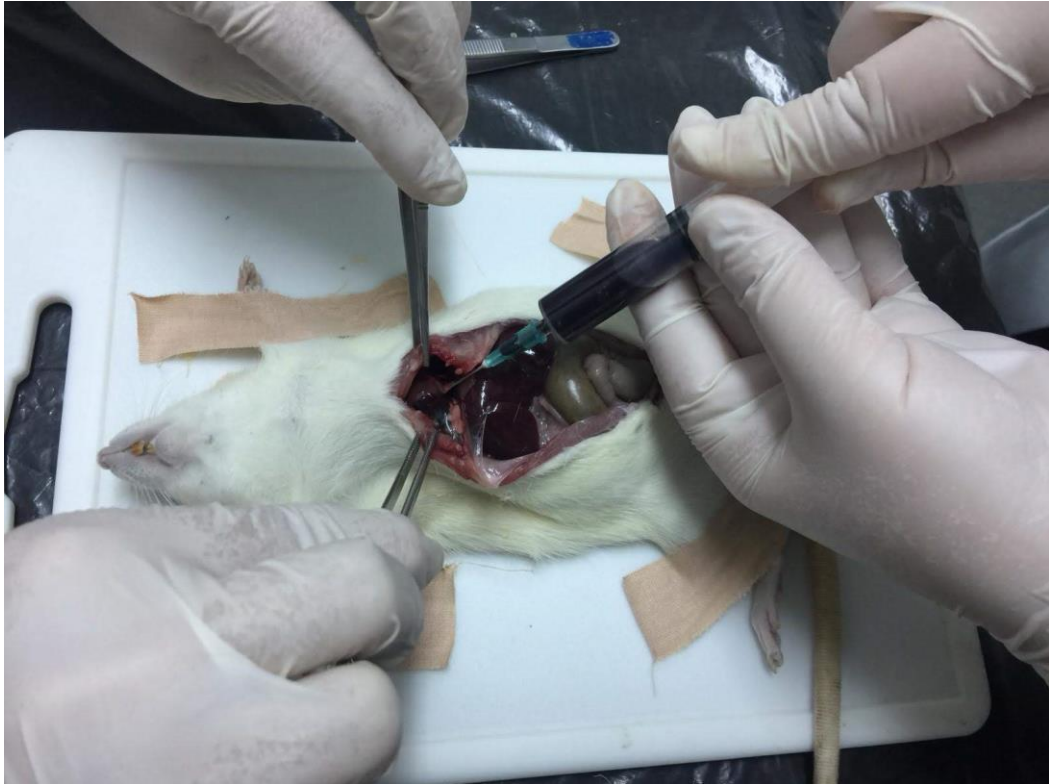
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim Merkezinden temin edilen ortalama 200-250 gram ağırlığındaki 40 adet genç erişkin erkek Wistar Albino türü sıçan kullanıldı (Resim 2). Çalışmada denek olarak kullanılacak hayvanlar şeffaf kafesler içerisinde en çok dört hayvan aynı kafeste olacak şekilde, $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ çevre sıcaklığı, 12/12 saat aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, bağıl nem oranı (%40–50) ve havalandırması kontrol edilen semiklimatize laboratuvar koşulları tutuldu ve deney prosedürleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvar'ında gerçekleştirildi. Tüm hayvanlar işlemden 24 saat öncesine dek standart pellet sıçan yemi yeme imkanına (ad libitum) sahip idi. Su içmeleri ise kısıtlanmadı.



Resim 2. Wistar Albino Türü Sıçanlar

Sıçanlar; kontrol grubu, parasetamol + düşük doz incir çekirdeği yağı (DDİY) grubu, parasetamol + yüksek doz incir çekirdeği yağı (YDİY) grubu ve hepatotoksisite (APAP) grubu, olmak üzere dört gruba ayrılarak incelendi (n=10). Çalışmada incir çekirdeği yağı olarak, soğuk press yöntemiyle elde edilmiş Oneva, Türkiye İncir Çekirdeği Yağı kullanıldı.

Kontrol grubu hariç tüm gruplara hepatotoksisite oluşturmak için ilgili literatürler taranarak optimal parasetamol dozu olan 2 g/kg dozunda parasetamol (Parol 500 mg tablet, Atabay Kimya Sanayi ve Ticaret A.Ş.) 2 ml ılık çeşme suyunda çözündürülerek orogastrik gavaj yöntemi ile verildi. Bu işlemden 24 saat sonra, bütün hayvanlar ketamin (75 mg/kg- intraperitoneal yolla) ve ksilazin (10 mg/kg- intraperitoneal yolla) ile anestezi altına alındı. Sıçanlar derin anestezi altındayken batın ve toraksları vertikal insizyon ile açılıp intrakardiyak yol ile kalpten 2 ml olacak şekilde kanları alındı (Resim 3) ve ardından biyokimyasal ve histolojik incelemeler için kullanılacak karaciğerler doku örnekleri alındıktan sonra servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildiler.



Resim 3. İtrakardiyak Yolla Kan Alma İşlemi

Sıçanlardan alınan kan örneklerinden serum ayırma basamakları uygulanarak elde edilen serum örnekleri ependorflara alınarak biyokimyasal analizlere uygun hale getirildi ve bu serum örnekleri biyokimyasal analizlerin yapılacağı güne kadar -80°C'lik dondurucuda saklandı. Alınan karaciğer doku örnekleri ise her hayvanın aynı anatomik bölgesinden alınıp, biyokimyasal analiz için analiz günü gelene kadar serum örnekleri gibi, -80°C'lik dondurucuda saklandı. Histolojik inceleme için alınan karaciğer doku örnekleri ise %10'luk formaldehit çözeltisi içinde 24°C'lik oda sıcaklığında saklandı.

3.1.1. Deney Grupları

3.1.1.1. Kontrol Grubu

Bu gruptaki sıçanlara, diğer gruplara uygulanan gavaj işlemleri aynı protokolle uygulandı ve incir çekirdeği yağı yerine 2 ml çeşme suyu günün aynı saatinde yedi gün boyunca verildi. Toksisitenin yapıldığı yedinci gün ise diğer gruplara toksisite oluşturmak için verilen parasetamol yerine bu gruba parasetamol çözücüsü olarak 2 ml ılık çeşme suyu verildi. Sekizinci gün diğer gruplarla birlikte kontrol grubu da kurban edildi.

3.1.1. 2. Parasetamol + Düşük Doz İncir Çekirdeği Yağı (DDİY) Grubu

Bu gruptaki sıçanlara, 7 gün boyunca 3ml/kg incir çekirdeği yağı (Oneva) günde bir kez günün aynı saatinde orogastrik yol kullanılarak gavaj işlemiyle verildi. Yedinci gün, son incir çekirdeği yağı verilmesinin bir saat sonrasında, sıçanlara 2g/kg (2 ml çeşme suyu içinde) parasetamol gavaj yoluyla verilerek hepatotoksisite modeli oluşturuldu ve bu işlemden sonraki 24. saatte hayvanlar kurban edildi.

3.1.1. 3. Parasetamol+Yüksek Doz İncir Çekirdeği Yağı (YDİY) Grubu

Bu gruptaki sıçanlara, 6 ml/kg incir çekirdeği yağı (Oneva) 7 gün boyunca, günde bir kez aynı saatte orogastrik yolla gavaj yapılarak verildi. Yedinci gün, son incir çekirdeği yağı verilmesinden bir saat sonrasında yine aynı yolla hepatotoksisite oluşturmak üzere 2g/kg parasetamol verildi ve sekizinci gün parasetamol uygulamasının 24. saatinde hayvanlar kurban edildi.

3.1.1. 4. Hepatotoksisite (APAP) Grubu

Bu gruptaki sıçanlara deneyin başlamasının yedinci gününde, hepatotoksisite oluşturmak için 2 ml ılık çeşme suyu içerisinde çözüldürülen 2 g/kg parasetamol verildi (Resim 4) ve hepatotoksisitenin oluşmasının ardından 24. saatte yani sekizinci gün sıçanlar sakrifiye edildi.



Resim 4. Sıçanlara Orogastrik Gavaj Yöntemiyle APAP Uygulaması

3.1.2. Biyokimyasal Analizler

Hayvanlardan alınan ve analiz gününe dek saklanan serum örnekleri analiz edilecekleri gün -80°C 'lik dondurucudan alınıp çözüldürüldüler. Serum örnekleri aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) düzeylerini elde etmek için Biovision marka rat elisa kitleri ile yönergelerine uygun şekilde hazırlanıp, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fizyoloji Laboratuvarında bulunan 'Diagnostic Automation, Inc./ELx800TM' marka mikropate okuyucu yardımı ile analiz edildi (Resim 5).



Resim 5. Mikroplate Okuyucu

Biyokimyasal analizler için saklanan doku örnekleri ise analizlerin yapılacağı gün çözündürüldü. Dokuların homojenizasyonu: Deney grubu ve kontrol grubundaki karaciğer dokuları ilgili Biovision marka elisa kitlerinin yönergelerinde önerilen miktar kadar tartıldıktan sonra ‘Ultra Turnax, IKA-WERKE, Germany’ marka doku homojenizatörü ile ayrı ayrı homojenize edildi. Homojenizatlar 1500 dönel hız (rpm)’de 15 dakika boyunca 4°C’de santrifüj edildikten sonra kitler içindeki tampon ve kimyasallarla yönergeye uygun işleme tabi tutuldu ve doku miyeloperoksidaz (MPO), doku malendialdehit (MDA) ve doku glutasyon peroksidaz (GPx) düzeylerini ölçmek için ‘Diagnostic Automation, Inc./ELx800TM’ marka model otomatik mikroplate okuyucuda çalışıldı.

3.1.2.1. Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeyi Ölçümü

Aspartat aminotransferaz (AST), aynı zamanda glutamat oksalaasetat transaminaz (SGOT) olarak da bilinen bir transaminazdır. Alanin aminotransferaza benzer ancak, karaciğere daha spesifiktir. Klinik kullanımda, genel olarak karaciğer hastalıklarında artış gösteren bir karaciğer fonksiyon testi olarak rol alsa da; miyokart infarktüsü gibi kardiyak patolojilerde, akut pankreatitte, akut hemolitik anemide, ciddi yanıklarda, akut böbrek yetmezliğinde, kas-iskelet sistemi hastalıklarında ve travmalarda artış gösterir.



Deney hayvanlarından elde edilen kan serumları, AST düzeylerinin ölçülebilmesi için, analiz edilecekleri gün çözündürüldü ve Biovision marka aspartat aminotransferaz (AST/SGOT) aktivite kolorimetrik tetkik kiti (K753-100) kullanıldı (Resim 6). Bu AST kiti, aspartat üzerinden bir amino grubu, alfa-ketoglutarat üzerine aktararak çalışır. Tepkime sonucu oluşan glutamat maximum 450 nm dalga boyunda ışık altında ölçülebilir renk değişikliğine uğrar. Böylece AST düzeyleri dolaylı olarak hesaplanmış olur.

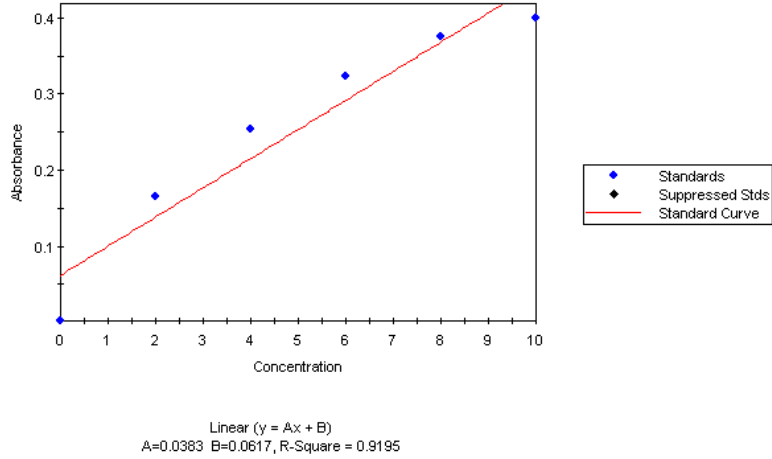


Resim 6. Aspartat Aminotransferaz Aktivite Kiti

AST kiti içerisinde; AST Assay Buffer, AST Enzyme Mix, AST Developer, AST substrate, Glutamate standardı, AST Positive Control olmak üzere, altı adet kimyasal bulunmaktadır.

Reaktifleri hazırlamak için; bir vial AST enzim mikst üzerine 220 mikrolitre distile su, bir vial developer üzerine 820 mikrolitre distile su, AST substrat üzerine 1.1 ml assay buffer, AST pozitif kontrol üzerine 100 mikrolitre distile su eklendi. Reaktifler hazırlandıktan sonra AST tetkik protokolüne başlandı.

Standart ölçümleri; 1 mM glutamat oluşturmak için, 0.1 M'lık glutamat standardından 10 mikrolitre alındı ve üzerine 990 mikrolitre assay buffer eklendi. Her bir kuyucuğa, 0, 2, 4, 6, 8, 10 mikrolitre bu karışımdan eklendi. Ve her bir kuyucuk 50 mikrolitre olacak şekilde assay buffer ile tamamlandı. Ölçüm sonrası, standart kuyucuklarından elde edilen standart eğrisi aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. AST Standart Eğri Grafiği

Deney hayvanlarından elde edilen serumlardan alınan her 10 mikrolitre örnek, kuyucuklara aktarıldı ve her bir kuyucuk 40 mikrolitre Assay buffer ile 50 mikrolitreye tamamlandı. 80 mikrolitre assay buffer + 2 mikrolitre enzim mikst+ 8 mikrolitre developer+ 10 mikrolitre AST substrat reaktifleri bir ependorfıta karıştırılarak reaksiyon karışımı oluşturuldu ve önceden mikroplate üzerindeki kuyucuklara aktarılmış, pozitif kontrol, standartlar ve örnekler üzerine 100'er mikrolitre olacak şekilde eklendi.

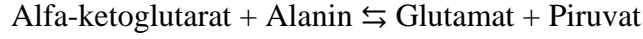
Mikroplate 37°C de inkubasyona bırakıldı. Ölçümler Diagnostic Automation, Inc./ELx800TM' marka mikroplate okuyucu yardımı ile 450 nm dalga boyunda olacak şekilde inkubasyonun 10.dakikası (T1) ve 60.dakikasında (T2) gün ışığından korunarak yapıldı. T2'de elde edilen değer A2, T1'de elde edilen değer A1 olarak isimlendirildi. A2- A1 kitte verilen glutamat standart eğrisine ($y = 0.0781x + 0.2062$ $R^2 = 0.9917$) yerleştirilerek, karşılığı olan glutamat düzeyi (B nmol) bulundu. Bulunan değerler AST düzeyini bulmak için formüle yerleştirilip AST değerleri mU/ml cinsinden hesaplandı.

$$\text{AST activity} = \frac{B}{(T2-T1)} * V = \text{mU/ml}$$

(V= kuyucuklara konulan örnek hacmi ml cinsinden)

3.1.2.2. Alanin Aminotransferaz (ALT) Düzeyi Ölçümü

Alanin aminotransferaz aynı zamanda serum glutamik piruvik transaminaz olarak da adlandırılan bir transaminazdır (SGPT). ALT serumda bulunabileceği gibi, çeşitli organlarda da bulunur ancak genel olarak karaciğer ile ilişkilendirilmiştir. Klinik kullanımda daha çok karaciğer fonksiyon testi olarak kullanılır. Aşağıdaki tepkimeyi katalizler.



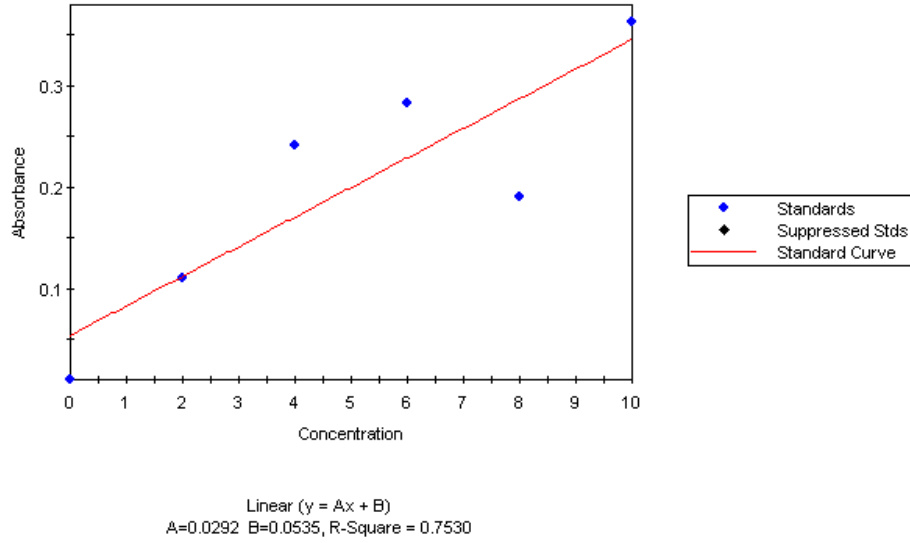
Deney hayvanlarından elde edilen kan serumları, ALT düzeylerinin ölçülebilmesi için, analiz edilecekleri gün çözündürüldü ve Biovision marka alanin aminotransferaz (AST/SGOT) aktivite kolorimetrik tetkik kiti (K752-100) kullanıldı. Bu ALT kiti, alanin üzerinden bir amino grubu, alfa-ketoglutarat üzerine aktararak bir reversible transaminasyon reaksiyonu meydana getirir. Tepkime sonucu piruvat ve glutamat oluşur. Piruvat maximum 570 nm dalga boyunda ışık altında ölçülebilir renk değişikliğine uğrar. Böylece ALT düzeyleri dolaylı olarak hesaplanmış olur.

ALT kiti içerisinde; ALT Assay Buffer, OxiRed(in DMSO), ALT Enzyme Mix, ALT substrate, Pyruvate standard, ALT Positive Control olmak üzere, altı adet kimyasal bulunmaktadır.

Reaktifleri hazırlamak için; bir vial ALT enzim mikst üzerine 220 mikrolitre distile su, ALT substrat üzerine 1,1 ml assay buffer, ALT pozitif kontrol üzerine 100 mikrolitre distile su eklendi. Reaktifler hazırlandıktan sonra ALT tetkik protokolüne başlandı.

Standart ölçümleri; 1 nmol/mikrolitre piruvat standartı oluşturmak için 10 mikrolitre standart üzerine 990 mikrolitre ALT assay buffer eklendi. Her bir kuyucuğa, 0, 2, 4, 6, 8, 10 mikrolitre bu karışımdan eklendi. Ve her bir kuyucuk 20 mikrolitre olacak şekilde assay buffer ile tamamlandı. Kolorimetrik yöntemle ölçüm sonrası, standart kuyucuklarından elde edilen standart eğrisi aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 7).

ALT 14.03.19



Şekil 7. ALT Standart Eğri Grafiği

Deney hayvanlarından elde edilen serumlardan alınan her 10 mikrolitre örnek, kuyucuklara aktarıldı ve her bir kuyucuk 10 mikrolitre Assay buffer ile 20 mikrolitreye tamamlandı. 86 mikrolitre assay buffer + 2 mikrolitre OxiRed probe + 2 mikrolitre enzim mikst+ 10 mikrolitre ALT substrat reaktifleri bir ependorfıta karıştırılarak reaksiyon karışımı oluşturuldu ve önceden mikroplate üzerindeki kuyucuklara aktarılmış, pozitif kontrol, standartlar ve örnekler üzerine 100'er mikrolitre olacak şekilde eklendi.

Mikroplate 37°C de inkubasyona bırakıldı. Ölçümler Diagnostic Automation, Inc./ELx800TM' marka mikroplate okuyucu yardımı ile 570 nm dalga boyunda olacak şekilde inkubasyonun 10.dakikası (T1) ve 60.dakikasında (T2) gün ışığından korunarak yapıldı. T2'de elde edilen değer A2, T1'de elde edilen değer A1 olarak isimlendirildi. A2- A1 kitte verilen piruvat standart eğrisine ($y = 0.1048x + 0,0382$) yerleştirilerek, karşılığı olan piruvat düzeyi (B nmol) bulundu. Bulunan değerler ALT düzeyini bulmak için formüle yerleştirilip ALT değerleri mU/ml cinsinden hesaplandı.

$$\text{ALT activity} = \frac{B}{(T2-T1)} * V = \text{mU/ml}$$

(V= kuyucuklara konulan örnek hacmi ml cinsinden)

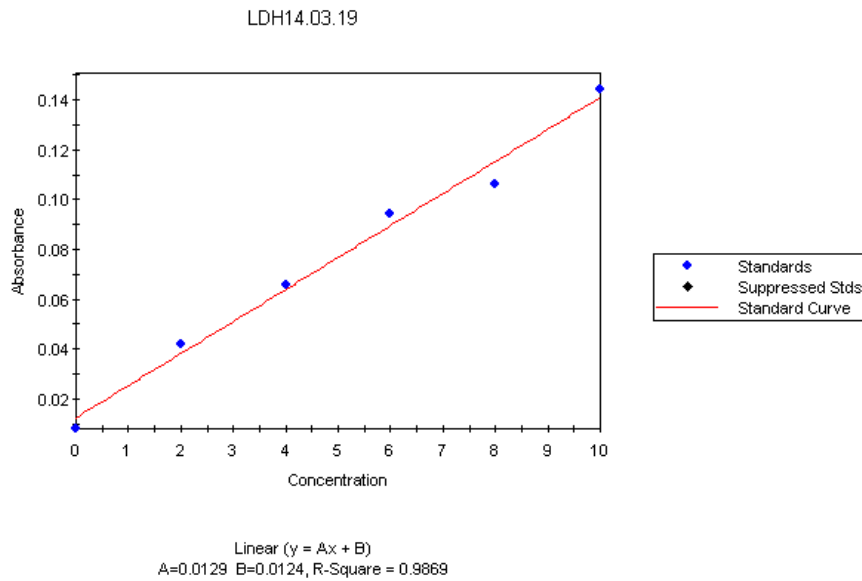
3.1.2.3. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Düzeyi Ölçümü

Laktat dehidrogenaz(LDH), çeşitli canlı dokularda yaygın rastlanan bir oksidoredüktazdır. LDH, piruvat ve laktatın, NADH ve NAD⁺ dönüşümünü katalizler. Hastalanan ya da hasarlanan dokular kana LDH salgılar. LDH açıkça saptanabilen bir enzim olduğu için hasarın derecesini belirlemede sıklıkla kullanılan bir parametredir. Serum örneklerinin LDH düzeylerini belirlemek için NAD'ı NADH'a indirgeme mekanizmasının kullanıldığı Biovision marka, laktat dehidrogenaz aktivite kolorimetrik tetkik kiti (K726-500) kullanıldı.

LDH kiti içerisinde; LDH Assay Buffer, LDH substrate mix, NADH standart, LDH positive control olmak üzere dört adet kimyasal bulunmaktadır.

Reaktifleri hazırlamak için; bir vial substrat mikst üzerine 1,1 ml distile su, 1 vial NADH Standart üzerine 0,4 ml distile su, LDH pozitif kontrol üzerine 200 mikrolitre assay buffer eklendi. Reaktifler hazırlandıktan sonra LDH tetkik protokolüne başlandı.

Standart ölçümleri; hazırlanan reaktif standart çözeltisinden 0, 2, 4, 6, 8, 10 mikrolitre olacak şekilde kuyucuklara eklenip, toplamda 50 mikrolitre olacak şekilde assay buffer ile tamamlandı. Kolorimetrik yöntemle ölçüm sonrası, standart kuyucuklarından elde edilen standart eğrisi aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. LDH Standart Eğri Grafiği

Deney hayvanlarından elde edilen serumlardan alınan her 10 mikrolitre örnek, kuyucuklara aktarıldı ve her bir kuyucuk 40 mikrolitre assay buffer ile 50 mikrolitreye tamamlandı. 48 mikrolitre assay buffer + 2 mikrolitre substrat mix çözeltisi reaktifleri bir ependorfta karıştırılarak reaksiyon karışımı oluşturuldu ve önceden mikroplate üzerindeki kuyucuklara aktarılmış, pozitif kontrol, standartlar ve örnekler üzerine 50'şer mikrolitre olacak şekilde eklendi.

Mikroplate 37°C'de inkubasyona bırakılmadan önce 'Diagnostic Automation, Inc./ELx800TM' marka mikroplate okuyucu yardımı ile 450 nm dalga boyunda olacak şekilde okutuldu. İnkubasyonun 30.dakikasında ise ikinci okutma işlemi uygulandı. T2'de elde edilen değer A2, T1'de elde edilen değer A1 olarak isimlendirildi. A2- A1 kitte verilen NADH standart eğrisine ($y=0.0761x+0.0226$, $R^2=0.9981$) yerleştirilerek, karşılığı olan NADH düzeyi (B nmol) bulundu. Bulunan değerler LDH düzeyini bulmak için formüle yerleştirilip LDH değerleri mU/ml cinsinden hesaplandı.

$$\text{LDH activity} = B / (T2-T1) * \text{Sample dilution} = \text{mU/ml}$$

(V= kuyucuklara konulan örnek hacmi ml cinsinden)

3.1.2.4. Doku Miyeloperoksidaz (MPO) Düzeyi Ölçümü

Miyeloperoksidaz (MPO) nötrofiller tarafından sentezlenen bir peroksidazdır. Nötrofilin azurofilik granüllerinde depolanan bir lizozomal proteindir. Miyeloperoksidaz nötrofil sekresyonlarına (mukus, püvy gibi) yeşil renk veren, heme zincirine sahiptir. MPO, klorid anyonundan ve hidrojen peroksidazdan hidroklorik asit (HCIO) üretimini katalizler. Bir okside edici ajan olan hidrojen peroksidazı(H₂O₂) kullanarak, tirozini tirozil radikaline okside eder. Dokulardan alınan örnekler bu tepkimeye taurin ekleyerek TNBS ile reaksiyonun sonrasında renk veren taurin kloramin meydana gelmesi prensibine dayanan Biovision marka, miyeloperoksidaz (MPO) aktivite kolorimetrik tetkik kiti (K744-100) kullanılarak çalışıldı.

MPO kiti içerisinde; MPO Assay Buffer, DTNB Probe(100 mM), TCEP(50 mM), MPO Substrate, Stop Mix, MPO Positive Control olmak üzere altı adet kimyasal bulunmaktadır.

Reaktifleri hazırlarken,

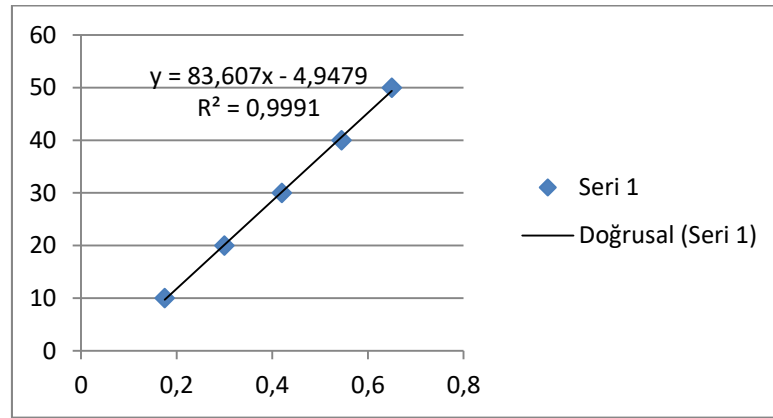
TNB Reaktif/ Standard reaktifi için; her bir kuyucuğa 0,5 mikrolitre DTNB probe aktarıldı, üzerine 0,5 mikrolitre TCEP eklendi. Ardından her bir kuyucuğu toplamda 50 mikrolitre olacak şekilde assay buffer ile tamamlandı.

MPO substrate reaktifi için; MPO substrattan 5 mikrolitre alınıp, 300 mikrolitre distile su ile karıştırıldı.

Stop Mix reaktifi için; bir vial stop mix 200 mikrolitre distile suda çözündürüldü.

MPO positive control reaktifi için; bir vial MPO pozitif kontrol 100 mikrolitre MPO assay buffer ile karıştırıldı. Reaktifler hazırlandıktan sonra MPO tetkik protokolüne başlandı.

Standart ölçümleri; hazırlanan reaktif standard çözeltisinden 0, 10, 20, 30, 40, 50 mikrolitre olacak şekilde kuyucuklara eklenip, toplamda 150 mikrolitre olacak şekilde assay buffer ile tamamlandı. Kolorimetrik yöntemle ölçüm sonrası, standart kuyucuklarından elde edilen standart eğrisi aşağıdaki grafikte gösterilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. MPO Standart Eğri Grafiği

Hayvanlardan alınan ve -80°C'de saklanan dokular analiz gününde çözündürüldü. Her bir dokudan 1 gr alınıp 4 ml assay buffer içinde homojenize edildi. Ardından 10 dk boyunca 13000 g hızda santrifüj edildi. Her bir supernatanttan 10 mikrolitre alınarak kuyucuklara eklendi. Her bir kuyucuğa 40 mikrolitre MPO assay buffer eklendi. Aynı işlem kontrol örneği için ve background kontrol kuyucukları içinde yapıldı.

Reaksiyon karışımı oluşturmak için, 40 Mikrolitre MPO assay buffer ve 10 mikrolitre MPO substrate eklendi.

Sample background kontrol karışımı için ise; 40 mikrolitre MPO assay buffer ve 10 mikrolitre distile su eklendi. Örnek kuyucuklarına ve pozitif kontrol kuyucuklarına 50 mikrolitre reaksiyon karışımından eklendi.

Örnek background kontrol kuyucuklarına ise 50 mikrolitre background kontrol karışımından eklendi. Standart kuyucuklarına ekleme yapılmadı. Hazırlanan mikroplate 25°C de 60'dk inkubasyona bırakıldı. Bu süre sonunda her bir kuyucuğa 2 mikrolitre stop mix eklendi ve 10 dk daha inkubasyon yapıldı. İşlem bitince 412 nm ışık boyunda olacak şekilde ölçüm yapıldı ve elde edilen verilerden sample background verilerinden sample verileri çıkarılıp çıkan sonuç TNM standart eğrisi grafiği ($y= 0.0151x+0.0536$) yararlanılarak B nmol değeri olan TNM düzeyi bulundu. B değeri verilen formüle yerleştirilip mU/ml cinsinden bulunan değerler gr U/g dokuya çevrilerek ölçüm neticelendirildi.

$$\text{Sample MPO activity} = (B / T * V) * \text{sample dilution faktor} = \text{nmol/Min/ml} = \text{mU/ml}$$

(T: ilk inkubasyon süresi/dk – V kuyucuklara eklenen örnek hacmi)

3.1.2.5. Doku Malendialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

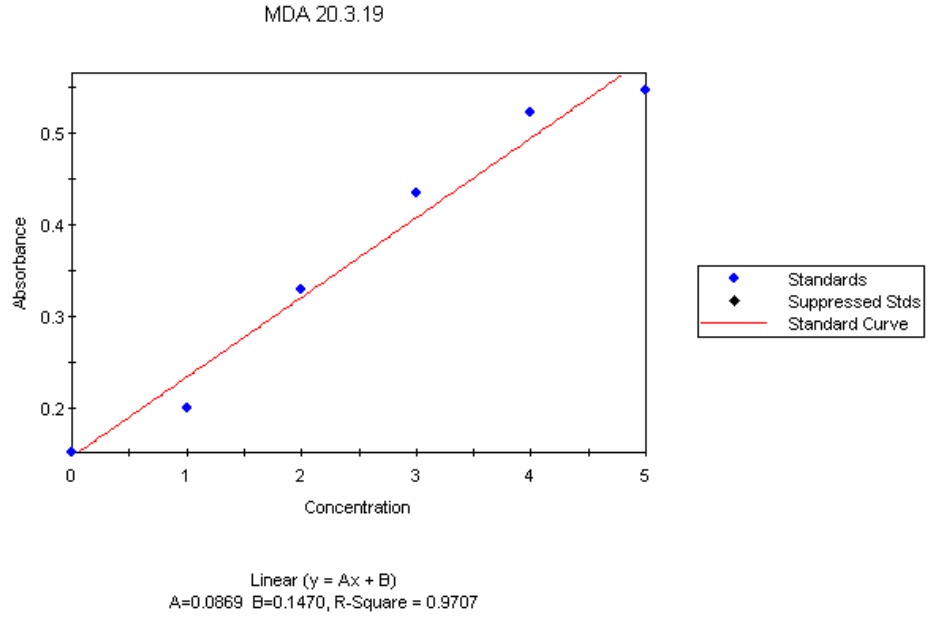
Patofizyolojik süreçlerde meydana gelen oksidatif stresin esas mekanizmasını oluşturan lipid peroksidasyonun meydana getirdiği kantitatif ölçülebilir bir üründür. Oksidatif hasarın şiddetini anlayabilmek için lipid peroksidasyon sonucu oluşan maddelerin ölçümü oldukça yararlıdır. MDA' nın tiobarbiturik asit (TBA) ile tepkime vermesi sonucu ortaya çıkan MDA-TBA'nın kolorimetrik ölçülebilmesi esasına dayanan Biovision marka Lipid peroksidasyon (MDA) kolorimetrik tetkik kiti (K739-100) kullanılarak doku örneklerinde MDA düzeyi tespit edildi.

MDA kiti içerisinde; MDA Lysis Buffer, Phosphotungstic Acid Solution, BHT(100X), TBA, MDA Standard (4,17 M) olmak üzere beş adet kimyasal bulunmaktadır.

Reaktifi hazırlamak için, bir vial TBA üzerine 7,5 ml glasiyal asetik asit eklenip karıştırıldı, ardından temiz başka bir tüp içerisinde tüm karışım toplamda 25 ml olacak şekilde distile su ile dilüe edildi.

MDA standartlarını ölçümleri; 0,1 M MDA çözeltisi oluşturmak için 10 mikrolitre MDA Standard üzerine 407 mikrolitre distile su eklendi. Hazırlanan çözülden 20 mikrolitre alınıp üzerine 980 mikrolitre distile su eklendi ve sonuçta 2 mM'lık MDA Standard çözeltisi

elde edildi. Kolorimetrik analiz için bu solusyondan 0, 2, 4, 6, 8, 10'ar mikrolitre alınıp toplam hacim 200 mikrolitre olacak şekilde distile su ile dilue edildi. İşlem sonucunda elde edilen standart eğrisi aşağıdaki gibidir (Şekil 10).



Şekil 10. MDA Standart Eğri Grafiği

Analiz günü çözündürülen karaciğer örneklerinden 10 mg alınıp buz üzerinde 300 mikrolitre MDA lysis buffer içinde homojenize edildi. Sonra 13000 g hızda 10 dk santrifüj edildi. Her bir supernatanttan 200 mikrolitre alınıp tüplere aktarıldı.

Reaksiyonu başlatmak için örnek ve standartlar dahil her bir tüpün üzerine 600 mikrolitre TBA reaktifinden eklendi ve 95°C de 60 dk inkubasyona bırakıldı. 60 dk sonrasında oda ısısına soğutulan her bir tüp 10 dk buz banyosuna kondu ve ardından her bir tüpten 200'er mikrolitre alınıp kuyucuklara konuldu. Kolorimetrik yöntemle mikroplate okuyucu tarafından 534 nm ışık altında sonuçlar okundu. Çıkan sonuçlar MDA standart eğrisi ($y=0.2116x + 0.0045$, $R^2=0.9996$) üzerine yerleştirilerek A nmol değeri bulundu. Kitte verilen formüle A değeri yerine bulunan MDA değeri konulup, nmol/ mg cinsinden MDA düzeyleri hesaplandı.

$$C = [(A/(mg))] *4*D = nmol/mg$$

(C: MDA amount, mg : kullanılan doku miktarı, 4: düzeltme kat sayısı, D: dilusyon faktör)

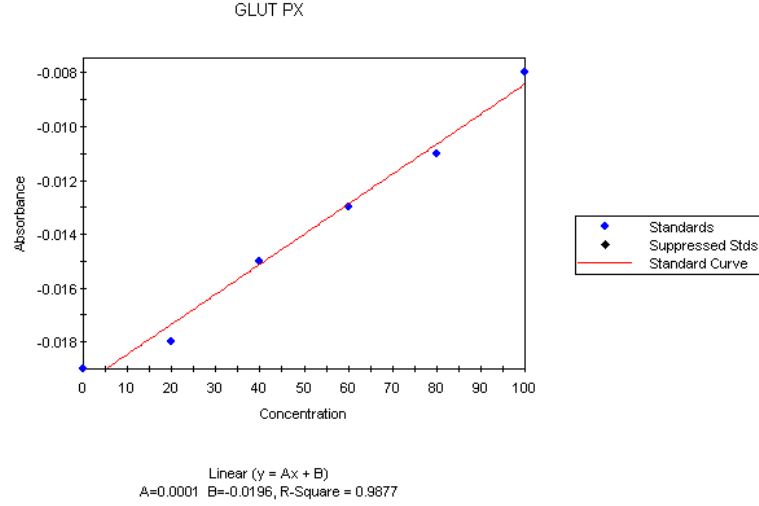
3.1.2.6. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Düzeyi Ölçümü

Glutasyon peroksidaz organizmaları oksidatif hasarın etkilerinden koruyan önemli bir enzimdir. GPx oksidasyona uğramış glutasyonu (GSSG), glutatyonu (GSH) indirger. Bu işlemi yaparken aynı zamanda lipid hidrojen peroksitleri alkole dönüştürürken, serbest hidroken peroksiti de suya çevirerek fonksiyon görür. Bir kaç izoenzimi bulunur ve farklı hücre gruplarında farklı substratlara spesifiktir. Düşük GPx seviyeleri, serbest radikallerin üretildiği hastalıkları işaret eder. Okside glutasyonu glutatyonu indirgeme tepkimesine cumene hidroperoksit ve glutasyon redüktaz eklenerek elde edilen NADPH'ın kolorimetrik ölçüme uygun olması prensibine dayanan Biovision marka glutasyon peroksidaz (GPx) aktivite tetkik kiti (K762-100) kullanılarak GPx ölçümleri yapıldı.

Kit içerisinde; GPx Assay Buffer, NADPH, Glutathione Reductase(GR), Glutathione(GSH), Cumene Hydroperoxide, GPx Positive Control olmak üzere altı adet kimyasal bulunmaktadır. Reaktifleri hazırlanırken;

Bir vial NADPH üzerine 0,5 ml distile su eklenip, 40 mM'lık NADPH çözeltisi elde edildi. Bir vial GR 0,22 ml assay buffer ile dilüe edildi. Bir vial GSH üzerine 0,22 ml assay buffer eklendi. Bir vial cumene hidroperoksit, 1,25 ml assay buffer eklenerek dilüe edildi. Bir vial GPx pozitif kontrol ise, 100 mikrolitre assay buffer ile karıştırıldı.

Standart hazırlamak için, 40 mM'lık NADPH çözeltisinden 25 mikrolitre alınıp, 975 mikrolitre distile su ile karıştırılıp, 1 mM'lık NADPH standardı elde edildi. 0, 20, 40, 60, 80, 100 mikrolitre kadar kuyucuklara konulup, toplamda 100 mikrolitre olacak şekilde üzerlerine Assay buffer eklendi. 340 nm ışık altında kolorimetrik yöntemle okunup aşağıdaki standart eğri elde edildi (Şekil 11).



Şekil 11. GPx Standart Eğri Grafiği

Analiz günü çözüldürülen her bir doku örneğinden 0,1 g alınıp, 0,2 ml soğuk assay buffer içerisinde homojenize edildi. Homojenatlar 10000 g hızla 15 dk santirifüj işleminden geçirildi. Buz üzerinde tutulan supernatantlardan 10 mikrolitre alınıp kuyucuklara aktarıldı ve ardından 40 mikrolitre assay buffer eklenerek 50 mikrolitreye tamamlandı.

Reaksiyon karışımı oluşturmak için; 33 mikrolitre assay buffer + 3 mikrolitre 40 mM NADPH solusyonu + 2 mikrolitre GR solusyonu + 2 mikrolitre GSH solusyonu karıştırıldı. Daha önceden hazırlanmış pozitif kontrol, reagent kuyucukları da dahil olmak üzere tüm kuyucuklara 40'ar mikrolitre eklenerek, mikroplate 15°C'de oda ısısında inkubasyona bırakıldı. Ardından tüm kuyucuklara GPx reaksiyonunu başlatmak için cumene hidroperoksit solusyonundan 10 mikrolitre eklendi. Mikroplate okuyucu ile ilk okuma (T1) yapıldıktan sonra 25°C'de 5 dk inkubasyon sonrası ikinci okuma gerçekleştirildi. T1'de okunan değerlerden (A1), T2'de okunan değerler çıkarılarak, bulunan değer, kitte verilen NADPH standart eğrisi ($y = 0.0163x + 0.0336$) formülüne yerleştirilerek, nmol cinsinden NADPH değerleri (B nmol) bulundu. Bulunan B değerleri aşağıdaki formüle yerleştirilerek GPx düzeyleri mU/ml cinsinden hesaplanıp, U/gr cinsine çevrildi.

$$\text{GPx Aktivite} = \frac{[B / (T2 - T1) * V]}{\text{Sample Dilution Factor}} = \text{mU/ml}$$

(V: Kuyucuklara eklenen örnek hacmi)

3.1.3. Histopatolojik Analizler

Sakrifikasyon gününde sıçanlardan alınan karaciğer dokularının analizi ADÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. İncelenecek dokulara, etanol ve ksilen aşamaları uygulanarak dehidrasyon yapıldı, ardından bu dokular parafin bloklarına gömülerek, mikrotom (Leica model RM 2135; Leica, Almanya) yardımıyla 5 mikronluk kalınlıklar elde edilecek şekilde kesildi ve hematoksilin-eozin boyama tekniği kullanılarak boyandı. Boyanan preparatlar, ışık mikroskobu düzeyinde ‘Olympus B*51’ mikroskopa monte edilen ‘Olympus DP20 Digital kamera’ ile görüntülendi ve histopatolojik inceleme için hazır hale getirildi.

3.1.4. İstatistiksel Analizler

Biyokimyasal verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statics Version 22 paket programında yapıldı. Laboratuvar değerleri normal dağılım özelliğinde olduğundan (Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk $p>0,05$) verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında One Way Anova (Post hoc Bonferroni) istatistiksel analizleri kullanıldı. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Histopatolojik skorlamaların istatistiksel analizi ise www.socscistatistics.com web adresinden yararlanılarak yapıldı. Kruskal-Wallis ile grupların istatistiksel incelemesi yapıldıktan sonra grupları birbiriyle karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı.

3.2. Gereç

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

Deney prosedürleri esnasında, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarı, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarı, Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvar’ında bulunan aşağıdaki cihazlar kullanıldı:

- Santrifüj (Hettich Zentrifügen Mikro 200R UK, San Bio Medikal)
- Santrifüj (Hettich Zentrifügen Rotina 420)
- Vorteks (Labnet International Inc. Edison NJ, USA)
- Hassas terazi (SARTORIUS AG BP 610, GERMANY)
- Derin Dondurucu (-80) (SANYO MDF U5186S, JAPAN)
- Elisa Okuyucu (Diagnostic Automation, Inc. DAR800)
- İnkübasyon Cihazı (Microtec.Type Ak 120, Infors Ag Switzerland)
- Homojenizasyon cihazı (Ultra – Turrax T8 IKA- Werke SİGMA- ALDRICH)
- Otomatik pipetler (Ependorf) (Resim 7)
- Olympus BX20 Mikroskop
- Etüv (Nüve, EN055)
- Mikrotom (Leica RM 2135)
- Buzdolabı (İndesit)



Resim 7. Otomatik Pipet

3.2.2.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel prosedürler esnasında ve sonrasında gerçekleştirilen analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve kitle:

- NaCl (sodyum klorur) (Merck, 6400)
- Etanol absolute (Sigma, 32221)
- Ketamin (Alfasan international B.V. Holland)
- Ksilazin (Alfazyne % 2 Alfasan Holland)
- AST Kiti (Aspartate Aminotransferase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, Catalog # K753-100)
- ALT Kiti (Alanine Aminotransferase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, Catalog # K752-100)
- LDH Kiti (Laktate Dehidrogenase Acitivity Colorimetric Assat Kit, BioVision, Catalog # K726-500)
- MPO Kiti (Myeloperoxidase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, Catalog #K744-100)
- MDA Kiti (Lipid Peroxidation Colorimetric/Fluorometric Assay Kit, BioVision, Catolog #K739-100)
- GSH-Px Kiti (Glutathione Peroxidase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, Catolog #K762-100)
- Hematoksilen (Haematoxyclin Mayer's, Bio-optica, Catolog # 05-06002/L)
- Eozin (Eosin Aqueous, Bio-optica, Catolog # 05-10002/L)
- Formaldehit (Formaldehyde Solution Min. 37% Stabilized with About 10% Methanol, Merck, Catolog # 1.040.022.500)
- Ksilen (Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure, Tekkim, Catolog # TK.090270.01000)
- Parafin (Parafin Boncuk 56-58 C, Tekkim, Catolog # TK.200661.05004)
- Sıçan yemi (Bil-Yem Gıda San. Ve Tic. Ltd Şti. Standart rat yemi)
- İncir Çekirdeği Yağı (Oneva, Türkiye) :

Soğuk presslenmiş incir çekirdeği yağı ONEVA (İstanbul, TÜRKİYE) isimli üreticiden temin edildi (Resim 8). Üreticinin temin ettiği majör tespit edilebilen yağ asitleri kompozisyon analizi aşağıda sunuldu (Tablo 6). DDİY grubu sıçanlar ile YDİY grubu sıçanlara 7 gün boyunca sırasıyla 3ml/kg ve 6ml/kg incir çekirdeği yağı uygulandı.

Tablo 6. Oneva İncir Çekirdeği Yağı İçeriği

İÇERİK	MİKTARI
Asitlik (%FFA)	0,96 – 1.96
Linolenik (n-3) C18:3	% 45.3-48.3
Linoleik (n-6) C18:2	% 33-38
Oleik (n-9) C18:1	% 7.3-8.2
Palmitik C16: 0	% 6-8.3
Stearik C18: 0	% 3.1-4.6



Resim 8. Oneva İncir Çekirdeği Yağı

4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Yapılan tek yönlü varyans analizinde ALT, AST, LDH, GPx, MDA ve MPO değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$) (Tablo 7)

Tablo 7. Gruplara Göre ALT, AST, LDH, GPx, MDA Ve MPO Değerleri Ortalama Dağılımı

Değişkenler	GRUPLAR				F	P
	Kontrol	DDİY	YDİY	APAP		
ALT (mu/ml)	115,86±17,14	108,71±16,25	124±36,46	238,29±20,93	45,346	<0,001
AST (mu/ml)	53,29±16,94	83,57±10,2	63,88±20,82	88,14±13,75	7,346	0,001
LDH (mU/ml)	62±17,52	81,57±9,91	94,14±11,28	143,43±25,55	28,472	<0,001
GPx (U/g)	57,86±26,69	27,57±10,16	32,57±7,16	25,57±12,58	6,092	0,003
MDA (nmol/mg)	43,86±27,83	106±43,14	85,43±52,2	125,57±45,23	4,626	0,011
MPO (U/g)	18,57±2,07	17,75±5,82	18,88±3,48	25,14±1,95	5,841	0,003

Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için yapılan Bonferroni analizinde;

Kontrol grubu olguların AST, GPx ortalamaları ile DDİY grubu olguların AST, GPx ortalamaları arasında;

Kontrol grubu olguların LDH, GPx ortalamaları ile YDİY grubu olguların LDH, GPx ortalamaları arasında;

Kontrol grubu olguların ALT, AST, LDH, GPx, MDA ve MPO ortalamaları ile APAP grubu olguların ALT, AST, LDH, GPx, MDA ve MPO ortalamaları arasında;

DDİY grubu olguların ALT, LDH ve MPO ortalamaları ile APAP grubu olguların ALT, LDH ve MPO ortalamaları arasında;

YDİY grubu olguların ALT, AST, LDH ve MPO ortalamaları ile APAP grubu olguların ALT, AST, LDH, MPO ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Tüm grupların sonuçlarının birleştirildiği Bonferroni analizinin tablosu aşağıda verilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Bonferroni Analizi Tablosu

		ALT	AST	LDH	GPx	MDA	MPO
Kontrol	DDİY	1,000	0,010	0,263	0,010	0,075	1,000
	YDİY	1,000	1,000	0,011	0,041	0,500	1,000
	APAP	<0,001	0,003	<0,001	0,006	0,010	0,019
DDİY	Kontrol	1,000	0,010	0,263	0,010	0,075	1,000
	YDİY	1,000	0,159	1,000	1,000	1,000	1,000
	APAP	<0,001	1,000	<0,001	1,000	1,000	0,005
YDİY	Kontrol	1,000	1,000	0,011	0,041	0,500	1,000
	DDİY	1,000	0,159	1,000	1,000	1,000	1,000
	APAP	<0,001	0,045	<0,001	1,000	0,562	0,021
APAP	Kontrol	<0,001	0,003	<0,001	0,006	0,010	0,019
	DDİY	<0,001	1,000	<0,001	1,000	1,000	0,005
	YDİY	<0,001	0,045	<0,001	1,000	0,562	0,021

4.1.1. Aspartat Aminotransferaz (AST) Düzeyleri

Yapılan tek yönlü varyans analizinde AST değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$) (Tablo 9).

Tablo 9. AST Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

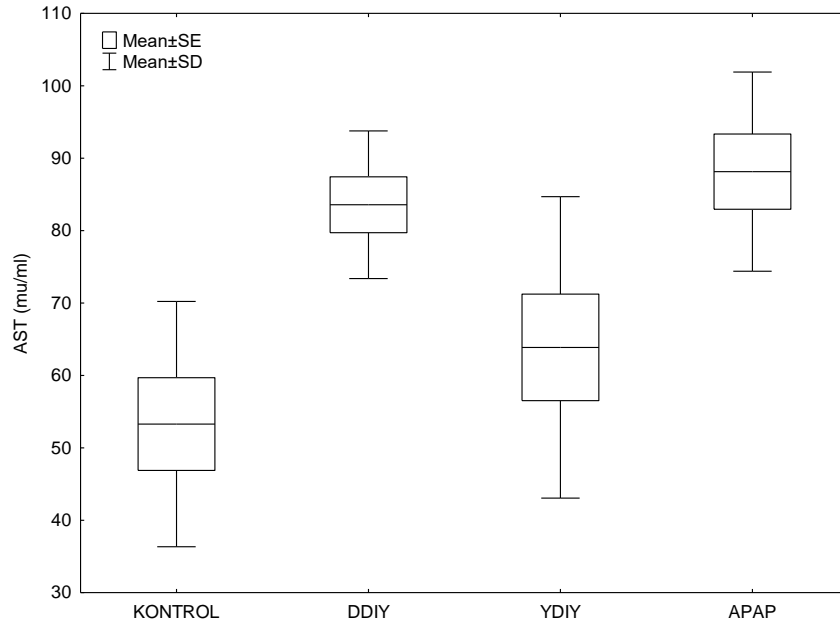
	Grup	Ort.±SS	Min.-Max.	F	P
AST (mU/ml)	Kontrol	53,29±16,94	30-74	7,346	0,001
	DDİY	83,57±10,2	68-96		
	YDİY	63,88±20,82	27-93		
	APAP	88,14±13,75	66-113		

Kontrol grubunun AST düzeyi $53,29 (\pm 16,94)$ mU/ml olarak bulundu. Ortalama AST düzeyine göre kontrol grubu ile; DDİY ($p=0,01$), APAP ($p=0,03$) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

DDİY grubunun AST düzeyi $83,57 \pm 10,2$ mU/ml olarak bulundu ve ortalama AST düzeyi $53,29 \pm 16,94$ mU/ml olan kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,01$).

YDİY grubunun AST düzeyi $63,88 \pm 20,82$ mU/ml olarak bulundu ve ortalama AST düzeyi $88,14 \pm 13,75$ mU/ml olan APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,045$).

APAP grubunun AST düzeyi $88,14 \pm 13,75$ mU/ml olarak bulundu ve ortalama AST düzeyi $53,29 \pm 16,94$ mU/ml olan kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,003$). APAP grubunun AST düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı fark görüldüğü diğer grup ise AST düzeyi $63,88 \pm 20,82$ mU/ml olan YDİY grubu idi ($p=0,045$) ve bu grupta AST düzeyinde anlamlı düşüş görüldü. Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. AST Düzeyleri Anova Grafiği

4.1.2. Alanin Aminotransferaz (ALT) Düzeyleri

Yapılan tek yönlü varyans analizinde ALT değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$) (Tablo 10).

Tablo 10. ALT Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

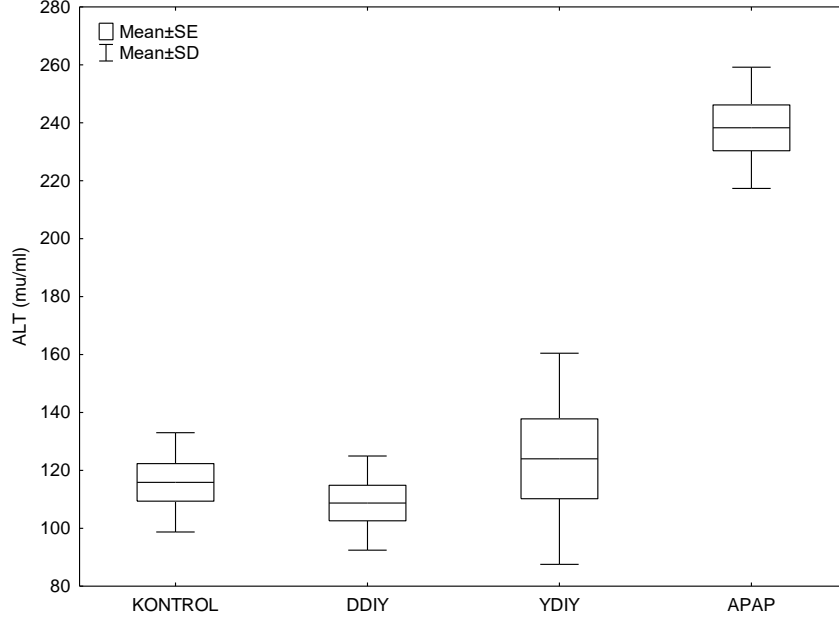
	<i>Grup</i>	Ort.±SS	Min.-Max.	F	P
ALT (mu/ml)	Kontrol	115,86±17,14	82-133	45,346	<0,001
	DDİY	108,71±16,25	86-131		
	YDİY	124±36,46	86-200		
	APAP	238,29±20,93	213-269		

Kontrol grubunun ALT düzeyi 115,86±17,14 mU/ml olarak bulundu. Ortalama ALT düzeyi 238,29±20,93 mU/ml olan APAP grubuna kıyasla aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).

DDİY grubunun ALT düzeyi 108,71±16,25 mU/ml olarak bulundu ve ortalama ALT düzeyi 238,29±20,93 mU/ml olan APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,001$).

YDİY grubunun ALT düzeyi 124±36,46 mU/ml olarak bulundu ve ortalama ALT düzeyi 238,29±20,93 mU/ml olan APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,001$).

APAP grubunun ALT düzeyi 238,29±20,93 mU/ml olarak bulundu ve istatistiksel olarak kontrol grubu ($p<0,001$), DDİY ($p<0,001$) ve YDİY ($p<0,001$) gruplarının ALT düzeyi ile istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi. Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 13).



Şekil 13. ALT Düzeylerinin Anova Grafiği

4.1.3. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Düzeyleri

Yapılan tek yönlü varyans analizinde LDH değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 11).

Tablo 11. LDH Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

	Grup	Ort.±SS	Min.-Max.	F	P
LDH (mU/ml)	Kontrol	62±17,52	36-84	28,472	<0,001
	DDİY	81,57±9,91	67-91		
	YDİY	94,14±11,28	82-113		
	APAP	143,43±25,55	97-178		

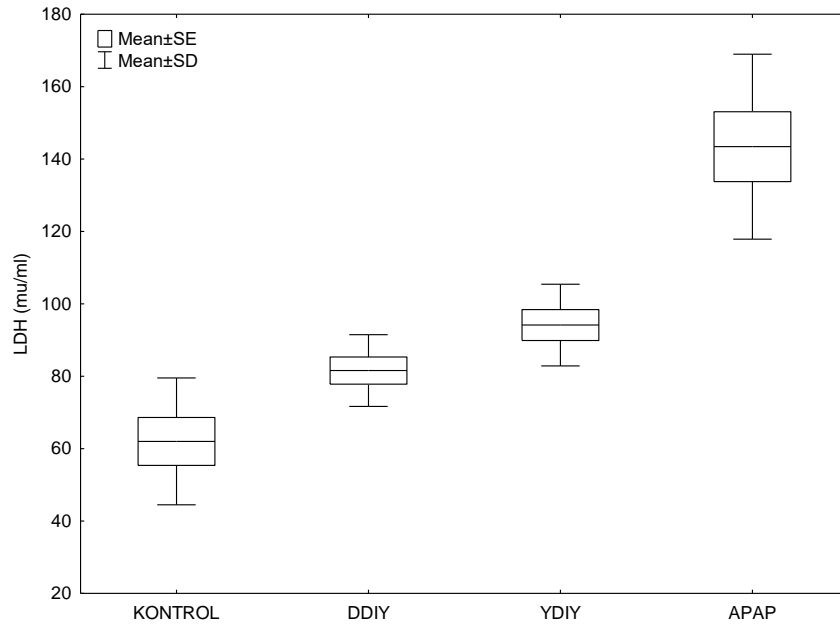
Kontrol grubunun LDH düzeyi 62±17,52 mU/ml olarak bulundu. Ortalama LDH düzeyi 143,43±25,55 mU/ml olan APAP grubu ($p < 0,001$) ve Ortalama LDH düzeyi 94,14±11,28 mU/ml olan YDİY grubu ($p = 0,011$) ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

DDİY grubunun LDH düzeyi 81,57±9,91 mU/ml olarak bulundu ve ortalama ALT düzeyi 143,43±25,55 mU/ml olan APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p < 0,001$).

YDİY grubunun LDH düzeyi $94,14 \pm 11,28$ mU/ml olarak bulundu. Ortalama LDH düzeyine göre Kontrol grubu ($p=0,011$) ve APAP grubu ($p<0,001$) ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü.

APAP grubunun LDH düzeyi ise $143,43 \pm 25,55$ mU/ml olarak bulundu ve istatistiksel olarak diğer tüm gruplardan anlamlı farklılık gösterdi ($p<0,001$).

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre grupların ortalama LDH düzeyleri toplu değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağının, hem DDIY hem de YDIY gruplarında LDH düzeylerini düşürdüğü ancak incir çekirdeği yağının özellikle 3ml/kg dozunda verildiği grupta daha çok karaciğer koruyucu etki gösterdiği söylenebilir. Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 14).



Şekil 14. LDH Düzeyleri Anova Grafiği

4.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Düzeyleri

Yapılan tek yönlü varyans analizinde GPx değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,003$) (Tablo 12).

Tablo 12. GPx Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

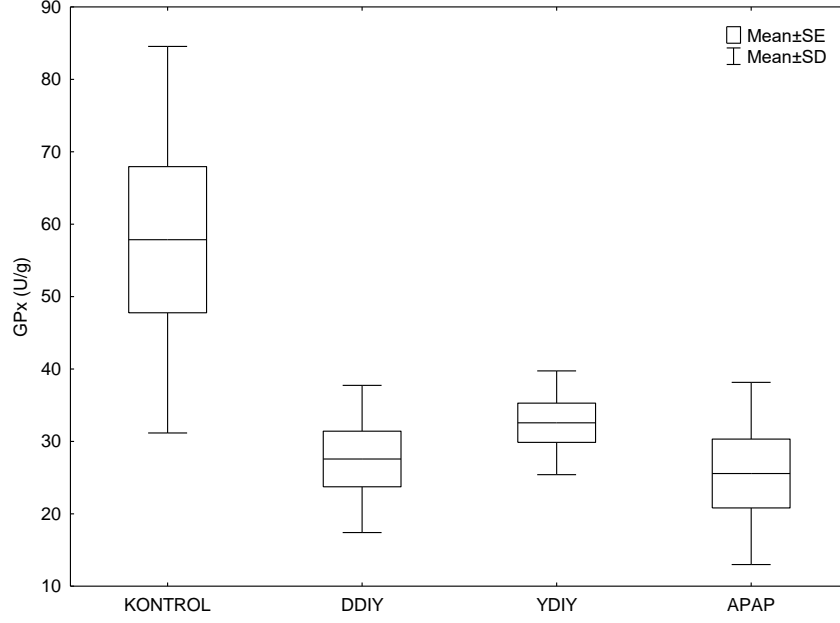
	<i>Grup</i>	Ort.±SS	Min.-Max.	F	p
GPx (U/g)	Kontrol	57,86±26,69	31-106	6,092	0,003
	DDİY	27,57±10,16	11-40		
	YDİY	32,57±7,16	24-43		
	APAP	25,57±12,58	10-39		

Kontrol grubunun GPx düzeyi ortalama $57,86\pm 26,69$ U/g olarak bulundu. İstatistiksel olarak incelendiğinde DDİY($p=0,01$), YDİY($p=0,041$), ve APAP($p=0,006$) grupları ortalama GPx düzeyine göre anlamlı fark vardı.

DDİY grubunun GPx düzeyi ortalama $27,57\pm 10,16$ U/g olarak bulundu. Ortalama GPx düzeyi $57,86\pm 26,69$ U/g olan kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,01$)

YDİY grubunun GPx düzeyi ortalama $32,57\pm 7,16$ U/g olarak bulundu. Ortalama GPx düzeyi $57,86\pm 26,69$ U/g olan kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı($p=0,041$)

APAP grubunun GPx düzeyi ise ortalama $25,57\pm 12,58$ U/g olarak bulundu. Kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,006$). Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15. GPx Düzeyleri Anova Grafiği

4.1.5. Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

Yapılan tek yönlü varyans analizinde MDA değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,011$) (Tablo 13).

Tablo 13. MDA Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

	Grup	Ort.±SS	Min.-Max.	F	P
MDA (nmol/mg)	Kontrol	43,86±27,83	10-74	4,626	0,011
	DDİY	106±43,14	41-148		
	YDİY	85,43±52,2	19-157		
	APAP	125,57±45,23	57-182		

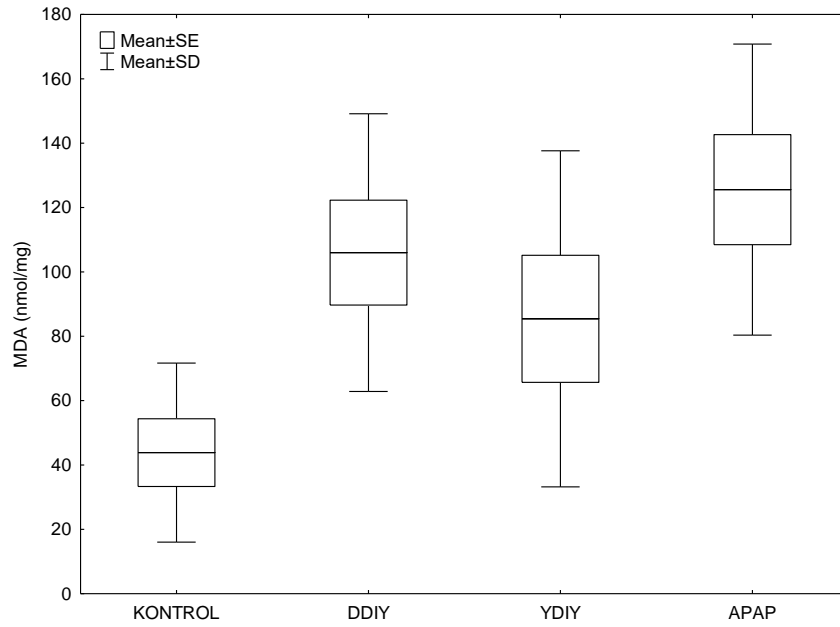
Kontrol grubunun MDA düzeyi ortalama 43,86±27,83 nmol/mg olarak bulundu ve ortalama MDA düzeyi 125,57±45,23 nmol/mg olan APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,01$).

DDİY grubunun MDA düzeyi ortalama 106±43,14 nmol/mg olarak bulundu ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

YDİY grubunun MDA düzeyi ortalama $85,43 \pm 52,2$ nmol/mg olarak bulundu ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

APAP grubunun MDA düzeyi ise $25,14 \pm 1,95$ nmol/mg olarak bulundu ve istatistiksel olarak Kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark görüldü ($p=0,01$)

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre grupların ortalama MDA düzeyleri toplu değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağının, hem DDİY hem de YDİY gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da MDA düzeylerini azalttığı ve incir çekirdeği yağının özellikle 6ml/kg dozunda verildiği grupta daha çok lipid peroksidasyonu engellediği ve antioksidan etki gösterdiği söylenebilir. Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. MDA Düzeyleri Anova Grafiği

4.1.6. Miyeloperoksidaz (MPO) Düzeyleri

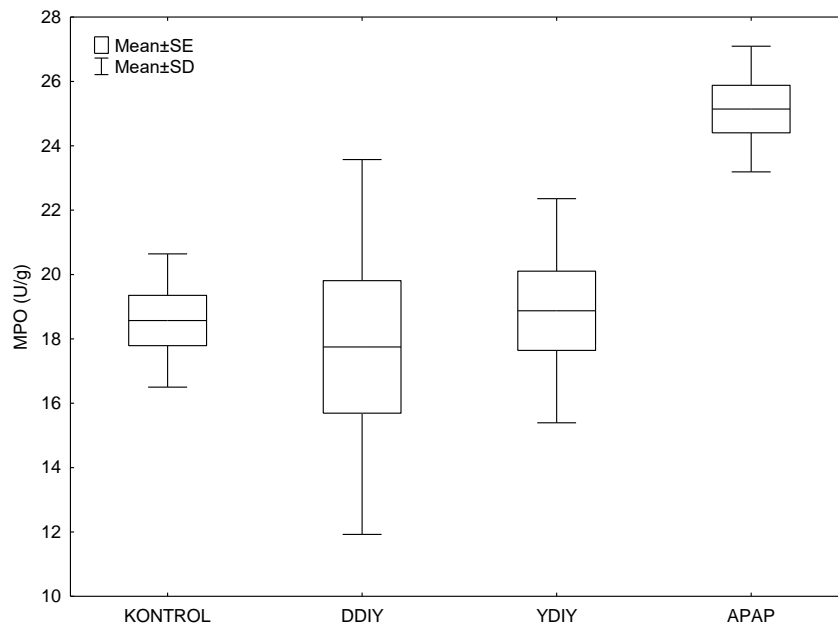
Yapılan tek yönlü varyans analizinde MPO değerleri açısından grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,003$) (Tablo 14).

Tablo 14. MPO Düzeylerinin Ortalama Değerleri ve Gruplar Arası Karşılaştırma

MPO (U/g)	Grup	Ort. \pm SS	Min.-Max.	F	p
	Kontrol	18,57 \pm 2,07	15-21	5,841	0,003
	DDİY	17,75 \pm 5,82	12-30		
	YDİY	18,88 \pm 3,48	12-24		
	APAP	25,14 \pm 1,95	23-28		

Kontrol grubunun MPO düzeyi 18,57 \pm 2,07 U/g olarak bulundu ve APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,019$). DDİY grubunun MPO düzeyi 17,75 \pm 5,82 U/g olarak bulundu APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,005$). YDİY grubunun MPO düzeyi 18,88 \pm 3,48 U/g olarak bulundu ve APAP grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0,021$).

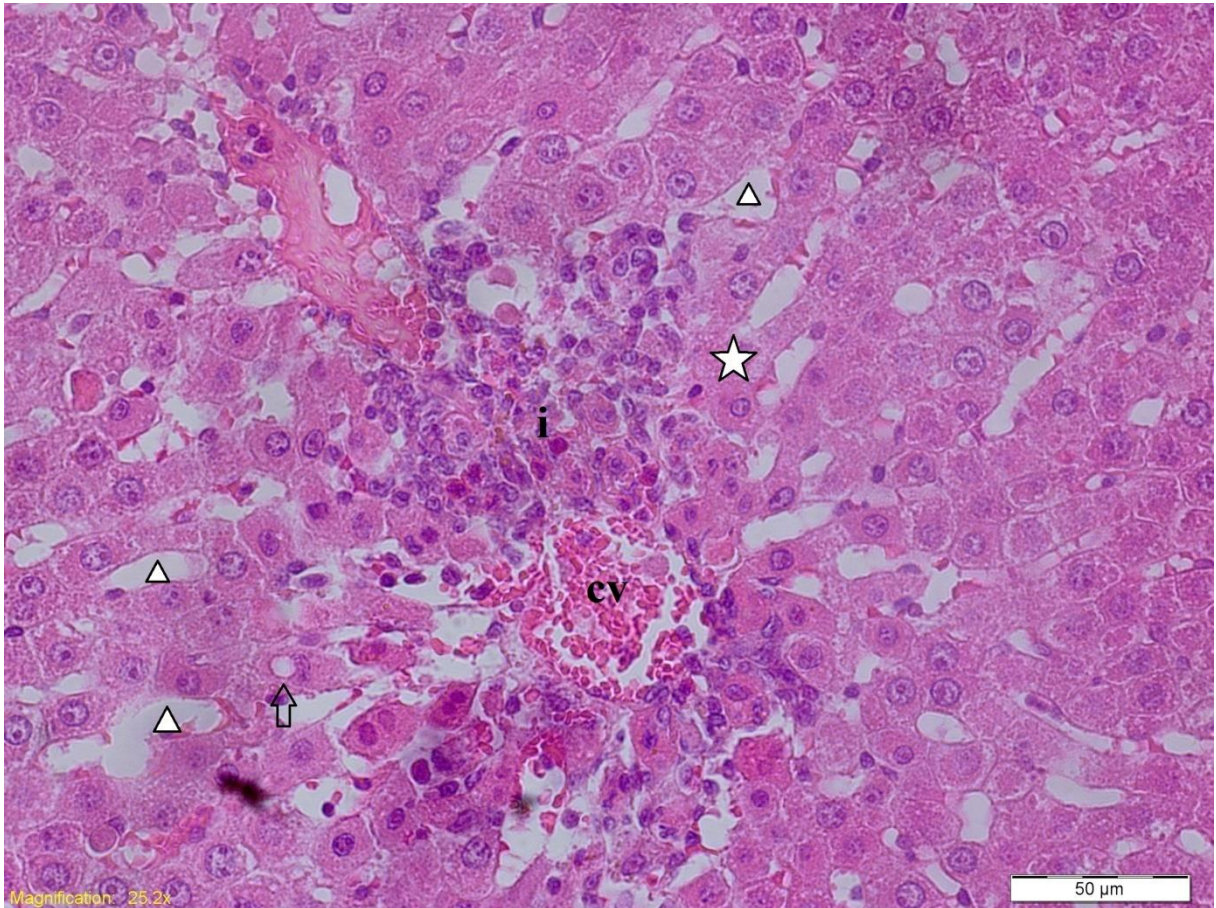
APAP grubunun MPO düzeyi ise 25,14 \pm 1,95 U/g olarak bulundu ve kontrol grubu ($p=0,019$), DDİY grubu ($p=0,05$) ve APAP grubu ($p=0,021$) ile aralarında anlamlı istatistiksel fark vardı. Aşağıdaki grafikte sonuçlar özetlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. MPO Düzeyleri Anova Grafiği

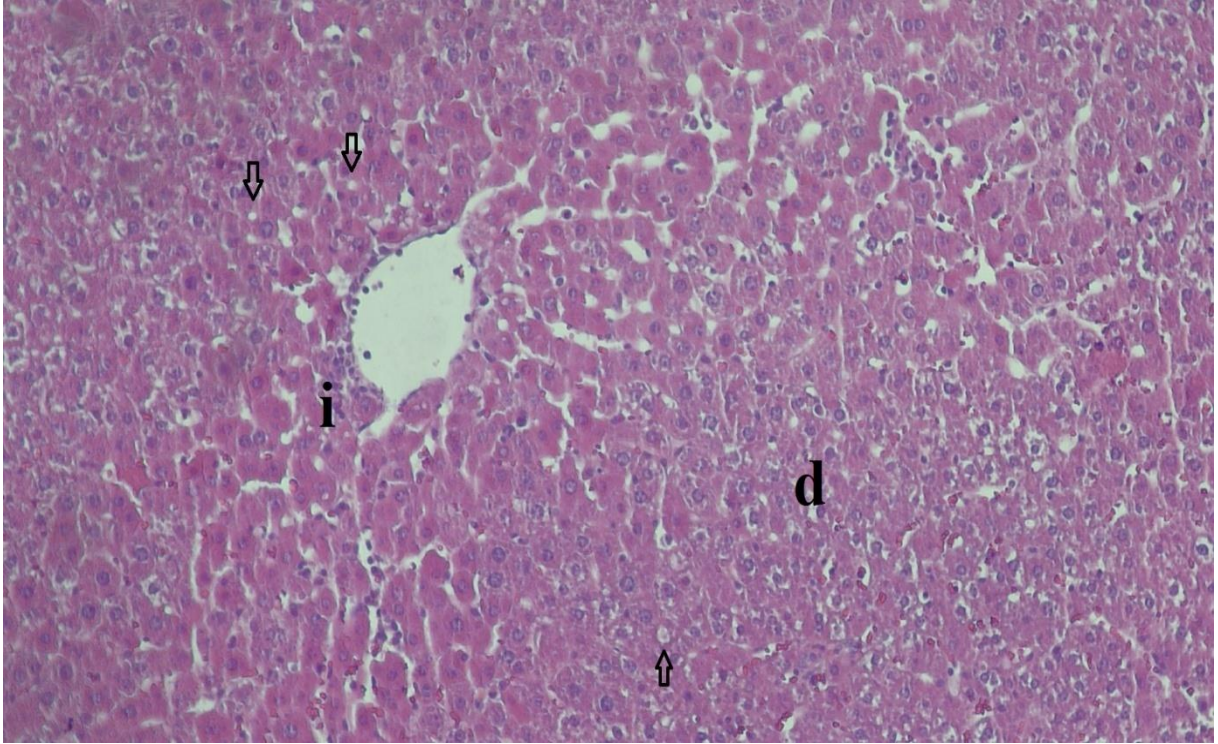
4.2. Histopatolojik Bulgular

Gruplardan elde edilen karaciğer dokuları, Hematoksilen-Eozin ile boyanıp, ışık mikroskopi altında incelendi (Resim 9). Karaciğer hasarı, METAVIR skorlama sistemine benzer bazı modifikasyonlarla oluşturduğumuz skorlamaya göre değerlendirildi. Histopatolojik skor kategorileri sentrilobüler nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonları, hepatositlerde dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon bulguları olarak literatüre uygun şekilde belirlendi. Her bir preparat bu dört bulgunun yoğunluğuna göre, semikantitatif değerlendirme yapabilmek, 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (yoğun) olarak puanlandı. Bu bulgularla elde edilen skorlar Kruskal-Wallis istatistiksel analiz ve Mann-Whitney U istatistiksel analiz yöntemi ile değerlendirildi.



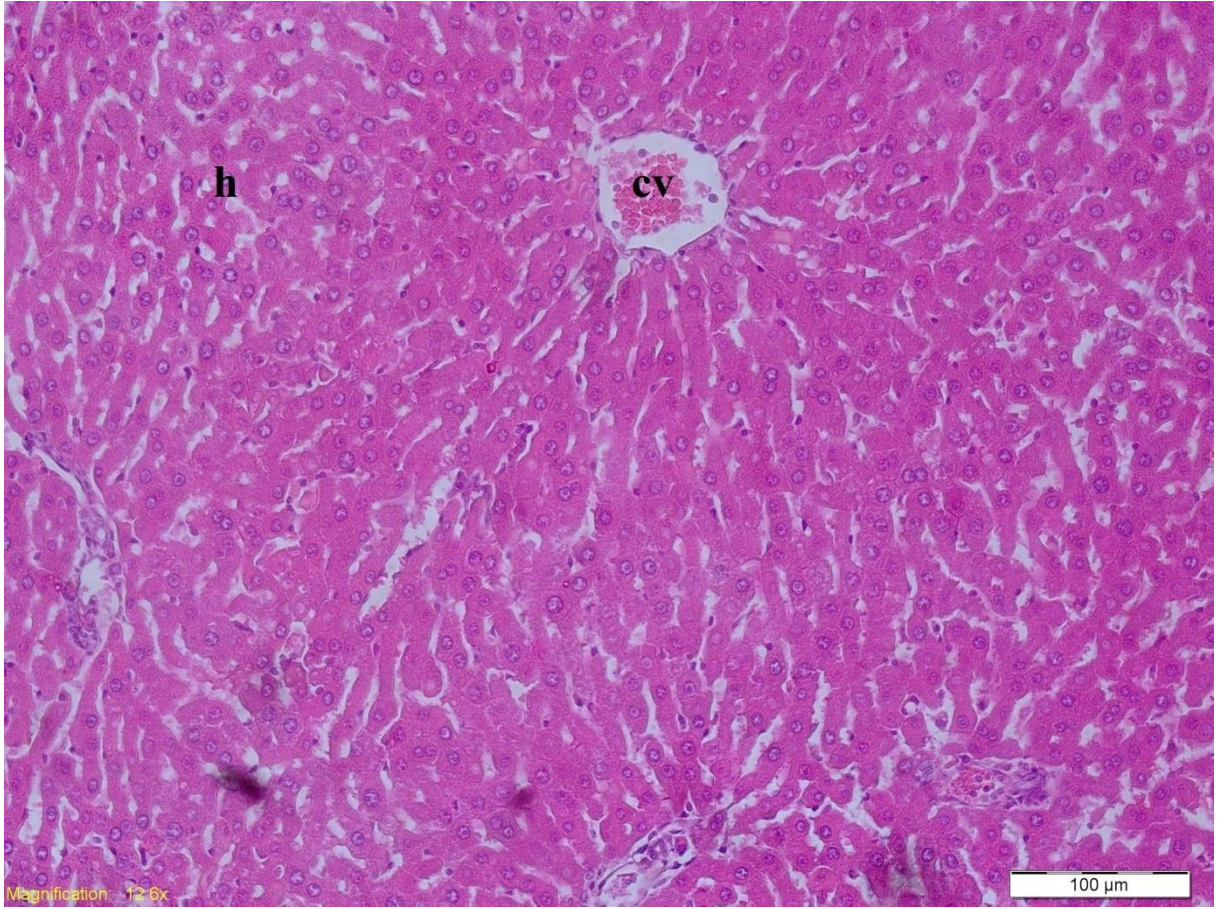
Resim 1. APAP Grubuna Ait Hematoksilen-Eozin ile Boyanmış Preparat Görüntüsü. Yıldız: Sentrilobüler nekroz alanları, İ: inflamatuvar mononükleer hücrelerin yoğun infiltrasyonu, üçgen: hafif sinüzoidal dilatasyon, ok: Sitoplazmik vakuolizasyon, cv: Vena centralis

Literatürde benzeri olmadığı ve farklı boyamalarla ayırımının yapılması gerektiği düşünüldüğü için skorlama yapılamayan ancak göze çarpan bir başka bulgu ise incir çekirdeği yağı gruplarında balon dejenerasyon görülen çoğu preparatta, mikroveziküler steatoz olduğu düşünülen görüntüler ve sitoplazmik vakuoler görüntülerin bulunması idi (Resim 10).



Resim 2. YDİY Grubuna Ait Preparat Görüntüsü. d: Dejenerasyona uğramış hepatositler, oklar: sitoplazmik vakuolizasyon, İ: inflamatuvar mononükleer hücrelerin hafif infiltrasyonu (APAP grubu ve DDİY grubuna göre daha az infiltrasyon) Sentrilobüler alanda orta düzey sinuzoidal dilatasyonlar

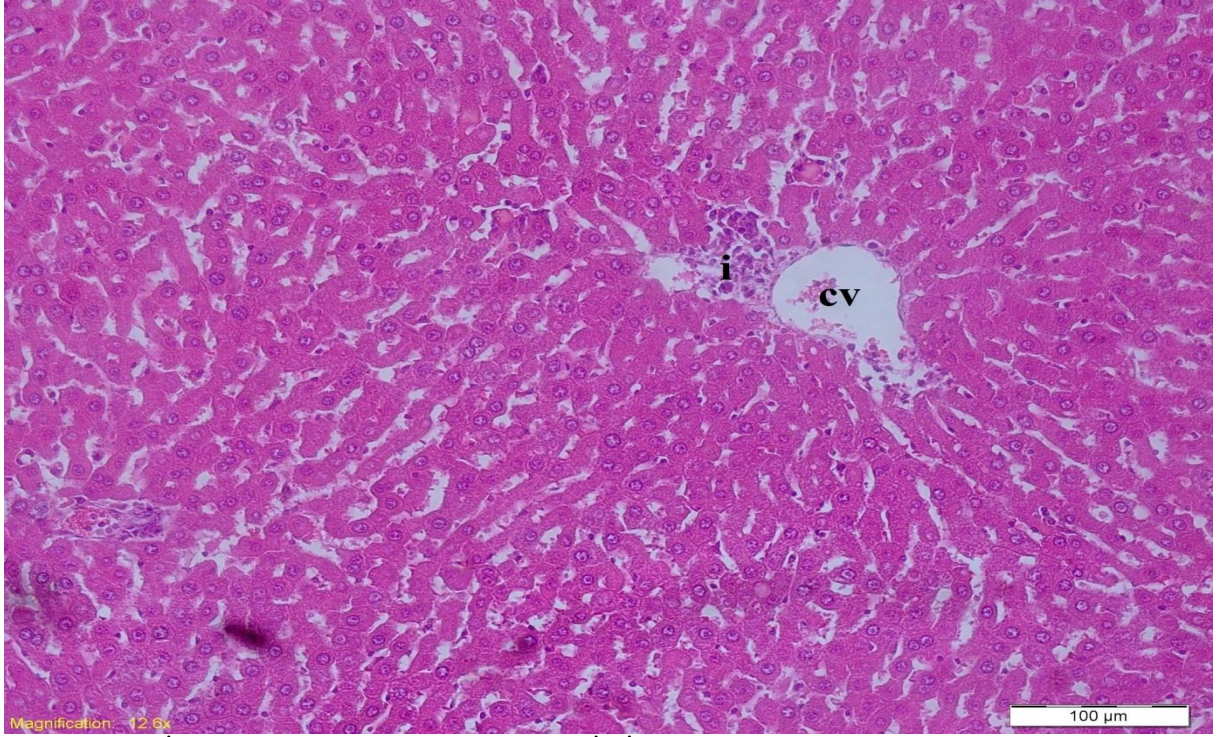
Kontrol grubu:



Resim 3. Kontrol Grubuna Ait Preparat Görüntüsü. cv: Vena centralis, h: Hepatositler

Kontrol grubu preparatları incelendiğinde hiçbir preparatta ilgili patolojik bulgulara rastlanmadı. Tüm preparatlar normal karaciğer yapısına uygun histolojik görünümde idi (Resim 11).

DDİY grubu:



Resim 4. DDİY grubuna ait preparat görüntüsü. İ: İnflamatuar mononükleer hücrelerin orta şiddetteki infiltrasyonu, cv: Vena centralis

Bu gruba ait preparatlar incelendiğinde, sentrilobüler nekroz görülen preparat yoktu. 3ml/kg incir çekirdeği yağını yedi gün boyunca alan bu grupta nekrozun görülmemiş olması istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$). Sentrilobüler alanda yoğunlaşmış, hafif ve orta düzeyde inflammatuar hücre migrasyonları görüldü (Resim 12). Bu bulgulara göre DDİY istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı olarak, APAP grubundan daha az inflammatuar hücre infiltrasyonuna sahipti ($p<0,05$). YDİY grubu ile karşılaştırıldığında ise bu grubun inflammatuar hücre infiltrasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla idi ($p<0,05$). Parasetamol verilen tüm gruplarda dejeneratif hepatositler görülmüş olup, incir çekirdeği yağı verilen gruplarda görece daha az görülse de istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Sinuzoidal dilatasyon bulguları incelendiğinde gruplar arası istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ancak, bu gruptaki preparatların hiçbirinde bu bulgunun görülmemesi dikkat çekici idi. Sitoplazmik vakuolizasyon bulguları incelendiğinde ise incir çekirdeği yağının fazla verildiği grupta APAP grubuna göre bu bulgular daha fazla idi. DDİY verilen grupta ise hem vakuolizasyonlar, hem balon dejenerasyonlar YDİY grubuna göre gözle görülür daha azdı.

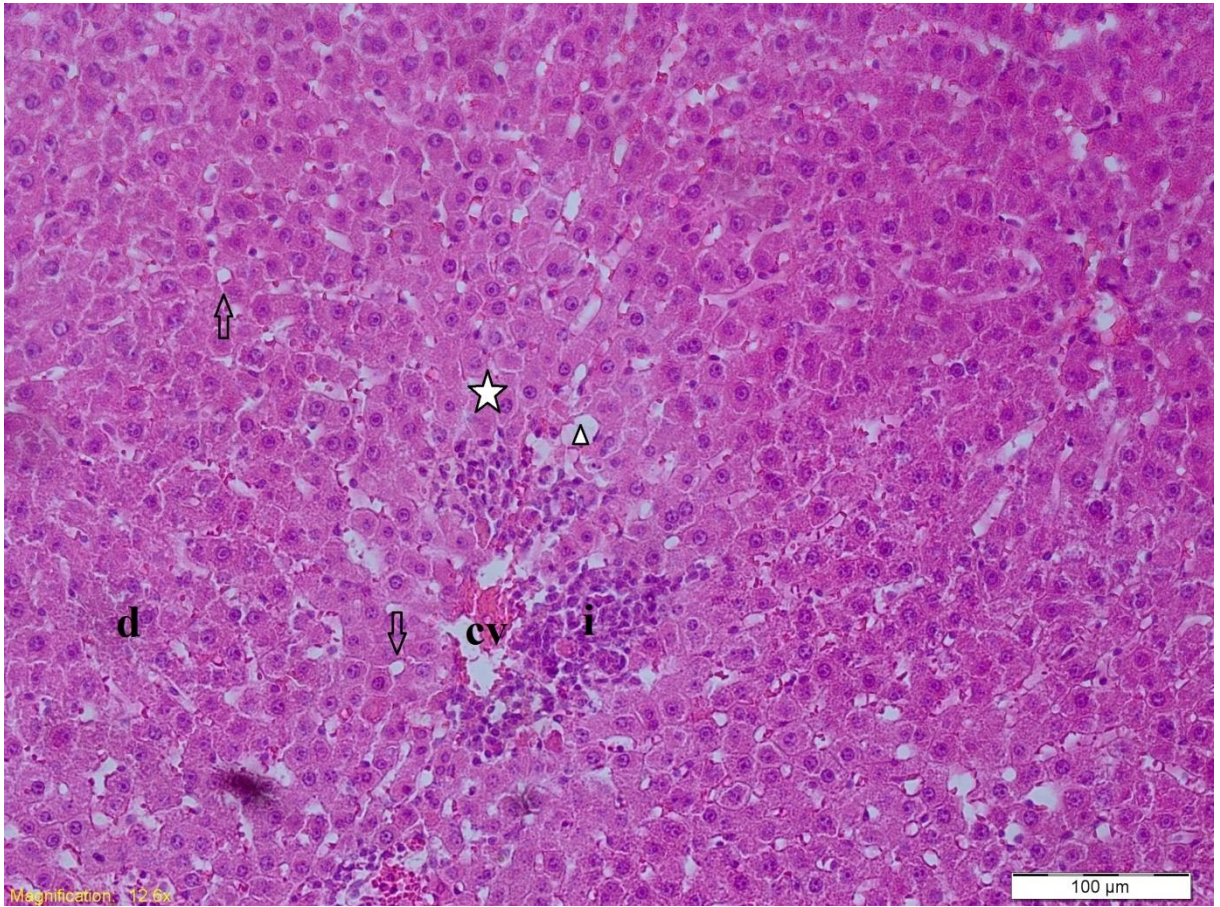
YDİY grubu :



Resim 5. YDİY Grubuna Ait Kontrol Grubuna Çok Benzer Preparat Görüntüsü. cv: Vena centralis. Sentrilobüler lobüler alanda yoğunlanmış, binükleer hepatositler

Bu grup incelendiğinde, sentrilobüler nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun istatistiksel olarak kontrol grubu ile anlamlı fark görülmedi. Dejenerasyon açısından incelendiğinde ise bu grupta istatistiksel olarak APAP grubundan ve DDİY grubundan anlamlı farklılık yok idi. Ancak bu gruptaki dejeneratif hücrelerin çoğunu balon dejenerasyona uğramış hücreler oluşturmuştu. Sinuzoidal dilatasyon bulguları ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermese de gruplar içinde APAP grubu sonrası en yüksek bu grupta görüldü. Sitoplazmik vakuolizasyon ve mikrovesiküler yağlanma ise görece en çok bu grupta görüldü (Resim 13).

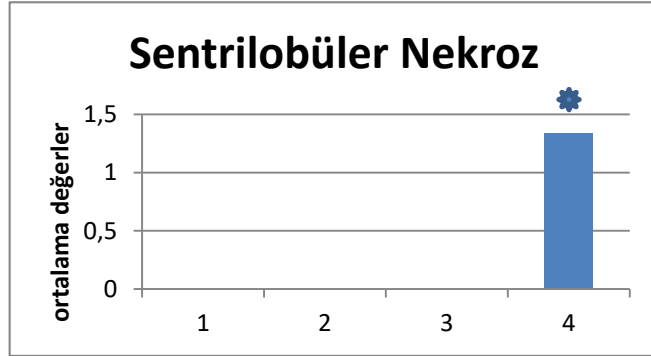
APAP grubu:



Resim 6. APAP Grubuna Ait Preparat Görüntüsü. Yıldız: Vena centralis çevresinde soluk görümlü orta düzey nekroz alanı, İ: İnflamatuar mononükleer hücrelerin yoğun infiltrasyonu, v: vakuolizasyonlar, d: orta düzey dejenerasyona uğramış hepatositler, ↕: hafif düzey sinuzoidal dilatasyon

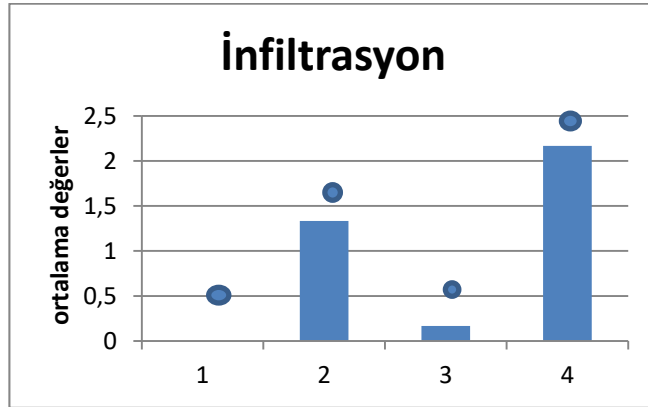
Bu grubun verileri kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldığında sinuzoidal dilatasyon harici diğer tüm bulguların istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($P < 0,05$). Sinuzoidal dilatasyon bulgusu da, gruplar genelinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermese de, bu grupta en fazla görülmüştür, ve grup verileri hariç tutulup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak iki grup birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). Toksikasyon grubu olan bu grubun verileri incir çekirdeği yağı verilen gruplarla karşılaştırıldığında ise dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon bulguları görece, sentrilobüler nekroz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ise istatistiksel olarak anlamlı daha fazla saptanmıştır ($p < 0,05$) (Resim 14).

Histopatolojik veriler ve istatistiki veriler, aşağıdaki grafiklerde özetlenmiştir. 1, 2, 3 ve 4 numaralı sutunlar sırasıyla Kontrol, DDİY, YDİY ve APAP grubunu temsil etmektedirler. Grafikler preparatların ortalama skorları baz alınarak hazırlanmıştır (şekil 18-21)



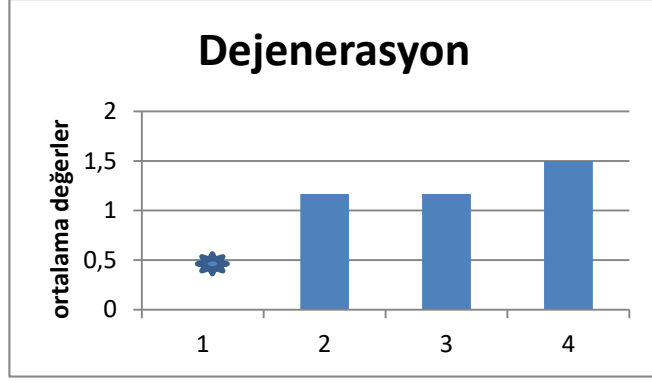
şekil 18. Sentrilobüler Nekroz Ortalama Skor Grafiği

★ APAP grubu istatistiksel olarak diğer üç gruptan anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$)



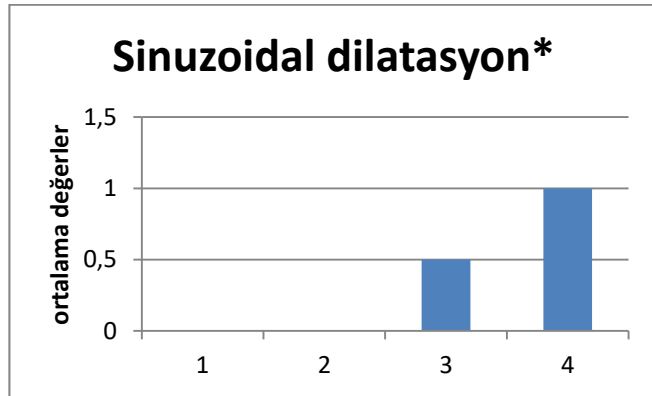
şekil 19. İnfiltirasyon Ortalama Skor Grafiği

● Her bir grup birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$)



Şekil 20. Dejenerasyon Ortalama Skor Grafiği

✱ Kontrol grubu diğer gruplar ile anlamlı istatistiksel farka sahiptir ($p < 0,05$). Diğer grupların birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı farkları görülmemiştir.



Şekil 21. Sinuzoidal Dilatasyon Ortalama Skor Grafiği

*Gruplar arası anlamlı istatistiksel fark görülmemiştir.

5. TARTIŞMA

Parasetamol bir para-aminofenol türevi ve fenasetinin aktif metaboliti olup diğer isimleriyle asetaminofen, N-asetil-P-aminofenol (APAP) de bilinir (Ajith ve diğerleri, 2007). Parasetamol dünyada en çok kullanılan analjezik ve antipiretiklerden biridir. Enflamasyon kaynaklı olmayan hafif ve orta şiddetli ağrıları gidermek için kullanılır. Terapötik dozlarda kullanıldığında oldukça güvenilir bir ilaçtır. Bununla birlikte aşırı doz alındığında potansiyel ilerleyici sentrilobüler karaciğer nekrozuna neden olduğu bilinmektedir. Hepatotoksisite genellikle aşırı asetaminofen alımı ile ilişkilidir ve sıklıkla asetaminofen içeren birden fazla preparatın alımı nedeniyle gelişir (Davidson ve Eastham, 1966; Lee, W. M., 2004). Sadece Türkiye’de 300’den fazla ilaçta etken madde olarak rol alır (Emet ve Yayla, 2016).

Karaciğer hasarı türleri hepatotoksinin türüne, dozuna ve maruz kalış süresine bağlı olarak (akut veya kronik) değişir. Parasetamol hepatotoksisitesinin altında yatan çok sayıda yolak ve sistem yer almaktadır. Literatürde parasetamol, karbontetraklorür, sisplatin ve siklofosfamid ile oluşturulmuş deneysel hepatotoksisite modelleri mevcuttur (Arıcı, 2008).

Literatür taranırken, hepatotoksisite modeli oluşması için kullanılan etken maddeler içerisinde parasetamolün seçilme nedeni, klinik kullanımının çok yaygın olması, kolay elde edilebilir ve ucuz olması sonucu suistimal edilmeye açık olması hem de kronik ağrıları olan yaşlı hastalar için en çok reçete edilen ayrıca yan etkisi en az görülen ilaç olması sebebi ile seçilmiştir. Böylece çalışmamızda klinik anlamda yansıma sağlayabilecek veriler elde edilmiştir. Parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesinde çeşitli mekanizmalar rol almaktadır. Bu mekanizmalar arasında; APAP metabolizması, oksidatif stress, endoplazmik retikulum (ER) stresi, otofaji, steril inflamasyon, mikro dolaşım bozukluğu ve karaciğer onarımı ve rejenerasyonu bulunur (Yan ve diğerleri, 2018). Oksidatif stress özellikle önemli bir mekanizmadır (James ve diğerleri, 2003).

Hepatik hastalıkların patogeneğinde oksidatif stresin rolü ve inflamasyonun rolü iyi bilinmektedir. Sonuç olarak, bu basamakların engellenmesi ve geri çevrilmesi, karaciğer hastalıklarını engelleme ve tedavide umut vadecici tedavi stratejilerini oluşturur. Alternatif ve tamamlayıcı tedaviler kişinin bağışıklık sistemini güçlendirmek, hastalık ilerlemesini önlemek ve hastaların hayat kalitesini ve yaşam sürelerini artırmak için kullanılmaktadır (Günşar, 2017). Özellikle bu tedavilerin bir parçası olan ve binlerce yıldır insanlar tarafından ilaç olarak kullanılan bazı bitkiler, sağlığa yararlı özellikleri ve ilaç etken madde olabilmeleri nedeniyle son zamanlarda dikkat çekmiştir (Saoudi ve El Feki, 2012).

Doğal birçok ürünün antioksidan özelliği bulunmaktadır. Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle barındırdıkları flavonoidler, sinnamik asit türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin; çeşitli antialerjik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antitrombotik etkileri olduğu bilinmektedir. Bazı bitki fenolikleri son zamanlarda antioksidan olarak kabul edilmektedir bu sebeple ilaç sanayide ve ticarete kullanılmaktadırlar. Bu açıdan diyetle koruyucu etki sağlayan bu antioksidanların gıdalardaki biyolojik mevcudiyetinin ve alınması gereken düzeylerinin bilinmesi önemli görülmektedir (Kolaç ve Gürbüz, 2017).

İncir (*Ficus Carica*), Akdeniz kıyılarının tipik meyvesidir. Yetiştirme açısından en uygun ekolojik koşulları Ege bölgesindeki Büyük ve Küçük Menderes havzalarında bulmuş, en fazla çeşit zenginliğini de bu bölgelerde göstermiştir. Özellikle İzmir ve Aydın en önemli üretim bölgeleridir. Literatür tarandığında endemik özellikler gösteren bu bitkinin henüz kendine yeni yer açmaya başladığı görülmüş olup; meyvesi, yaprağı, kökü gibi çeşitli kısımlarının önemli antioksidan, antiapoptotik, antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu fark edilmiştir. Ancak incir çekirdeği yağı ile ilgili verilerin oldukça sınırlı olduğu görülmüştür.

Güven ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada, soğuk press yöntemi ile elde edilen *Ficus Carica* çekirdeği yağının önemli antioksidan kapasitesi olan steroller, polifenoller, flavonoidler, antisiyaninler ve tokoferollerce zengin içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında parasetamol ile oluşturulmuş hepatotoksisite modelinde incir çekirdeği yağının etkinliğine ışık tutmak istenmiş ve bölgemizde önemli miktarda üretime sahip olan bu bitkiden sağlanacak olan incir çekirdeği yağının olası yararlı etkileri ile ilaç ve takviye gıda sanayinde incirin kendine daha çok yer bulabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın metodolojisi ilgili literatürler taranarak belirlenmiştir. APAP ile oluşturulmuş toksisite modellerinin sonuçları incelendiğinde ise optimal toksikasyon dozu olan 2 g/kg parasetamol Morsy ve Kamel'in 2015'teki çalışması referans alınarak seçilmiştir. Morsy ve Kamel' in 2014'te ratlar üzerinde 2g/kg parasetamol ile hepatoksisite modeli oluşturmuş ve enginar yaprak ekstraktının koruyucu etkilerine bakmışlar. Hayvanlara toksikasyon öncesi enginar yaprak ekstraktından 1,5 g/kg vermişler ve çalışma sonunda AST, ALT, MDA, NO, SOD, GSH, GSH reduktaz, GSH-S transferaz değerlerini incelemişler. Elde ettikleri veriler ile de parasetamol verdikleri grupta, artmış olan AST, ALT, MDA, NO değerlerinin profilaksi gruplarında anlamlı azalma gösterdiğini saptamışlardır. GSH- Px, GR ve GSH düzeyleri ise tedavi gruplarında anlamlı artış göstermişlerdir. Bu çalışmanın histopatolojik bulgularında ise toksikasyon gruplarında sentrilobuler nekroz, dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon görülmüştür.

İncir çekirdeği yağı ile yapılan çalışmalar incelendiğinde literatürde parasetamol ile indüklenmiş modelde incir çekirdeği yağının koruyucu olarak kullanıldığı çalışma bulunamamıştır. Torres ve arkadaşlarının 2016'da yaptığı çalışmada Brezilya'da yaygın olarak üretilen ve tüketilen bir meyve olan pequi almond oil yağı CCl₄ ile tetiklenmiş hepatotoksisite modelinde koruyucu olarak 3 ml/kg ve 6 ml/kg dozu ile orogastrik gavaj yolu ile verilmiş ve etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmamızda incir çekirdeği yağı dozajlaması bu çalışma referans alınarak yapılmıştır. Çalışmamızın grupları oluşturulurken ise Omid ve arkadaşlarının 2014'te yayınladığı çalışma referans alınarak sıçanlar dört grupta incelenmiştir. Bu çalışmada parasetamol ile indüklenmiş karaciğer toksisitesinde safran bitkisinin etkisine bakılmış, sıçanlar kontrol, altı gün boyunca toksikasyon öncesi düşük doz verilen, toksikasyon öncesi yüksek doz verilen ve APAP grubu olmak üzere dört grupta incelenmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada, parasetamol toksisite dozu olarak 600 mg/kg verilmiştir ve intoksikasyon günü olan yedinci günde safran verilmemiştir. Bu dozda bile istatistiksel anlamlı biyokimyasal veriler elde etmişlerdir. Ancak literatür incelendiğinde bu dozda yeterli toksikasyon sağlanamayan çalışmalar olduğu için toksikasyon dozu olarak 2g/kg parasetamol verilmiştir. Yine bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda kullandığımız incir çekirdeği yağı içerisinde çok fazla bileşen olduğu için ve bazılarının yarılanma ömürlerinin kısa olabileceği düşünülerek, literatürde de benzerlerine rastlandığından çalışmamızda toksikasyon günü olan yedinci günde toksikasyon öncesi incir çekirdeği yağının son dozunu verilmesi uygun görülmüştür.

Karaciğer birçok metabolik süreci bir arada yürüten çok işlevli bir organdır. Karaciğerin yapısını oluşturan hepatositler karbonhidrat, lipid, protein metabolizmasını düzenlerken; albümin, pıhtılaşma faktörleri gibi proteinlerin sentezini de yapar; pek çok ilaç ve kimyasal maddenin detoksifikasyon mekanizmasında önemli rol oynamaktadır. Karaciğer enzimlerinden en önemlileri aminotransferazlar (AST ve ALT) ve alkalen fosfataz (ALP) olarak kabul edilmektedir, bu testler karaciğer hastalığının tanımlanmasında, ayırıcı tanısında, şiddetinin ve prognozunun belirlenmesinde ve tedaviye cevabın değerlendirilmesinde önemli yer tuttuğu gibi akut hepatosellüler hasarın en önemli belirteçleridir. AST L-aspartik asitteki alfa-amino grubunu ketoglutarik asitteki alfa-keto gruba transferini düzenleyen hem sitozolik, hem de mitokondriyal bir enzimdir, karaciğer dışında kalp ve iskelet kasında, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, eritrosit ve lökositlerde bulunur. ALT ise, alanin alfa-amino grubunu, ketoglutarik asitteki alfa-keto gruba transferini katalize eden sitozolik bir enzimdir, en fazla karaciğerde bulunur. En fazla karaciğerde bulunması AST'ye göre daha karaciğere spesifik olduğunu gösterir. Bu enzimlerden zengin olan dokular hasar gördüğünde hücre membran geçirgenliğindeki artış ve nekroz sebepli kana geçiş yaparak artış gösterirler (Kantar, 2017).

Karaciğer hasarının göstergelerinden biri de yine sitozolik bir enzim olan LDH'dır. Hemen hemen tüm dokularda bulunan LDH'ın karaciğerde en çok bulunan izoenzimi, LDH3 ve LDH4'tır. Bu sebeple hepatosellüler hasara neden olan patolojiler de bu enzimde kanda artış gösterir (Kuntz, 2006)

Parasetamol zehirlenmelerinde tanı klinik öykü ve kanda bakılacak parasetamol düzeyiyle konur ancak hala birçok klinikte parasetamol düzeyi kanda çalışılmamaktadır. Bu sebeple AST, ALT, PT, INR gibi parametreler bu hastaların takibinde kullanılmaktadır. AST düzeyi, ALT'ye göre daha hızlı yükselirken yarılanma ömrü 15,1 saattir. ALT ise AST'ye göre daha yavaş yükselip, yarılanma ömrü 39,6 saattir yani kanda daha uzun süre yüksek kalmaktadır (Curtis ve Sivilotti, 2015).

Ratlar üzerinde APAP ile oluşturulan hepatotoksisite gruplarında Bhadauria ve arkadaşları (2010) serum AST, ALT, LDH ve ALP düzeylerinin artmış olduğunu, Larrey ve arkadaşları (2017) serum AST ve ALT düzeylerinin artmış olduğunu, Yousef ve arkadaşları (2010) serum AST, ALT, LDH ve ALP düzeylerinin artmış olduğunu, Iwalokun ve arkadaşları (2006) serum AST, ALT, LDH, ALP ve bilirubin düzeylerinin artmış olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise ratlar üzerinde oluşturduğumuz hepatotoksisite modelinde incir çekirdeği yağının etkilerinin değerlendirilebilmesi için serum AST, ALT, LDH düzeylerine bakıldı.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre serum AST, ALT, LDH değerlerinin APAP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış sağladığı görüldü ($p<0,05$). Elde ettiğimiz sonuçların diğer çalışmalarla paralellik göstermesi parasetamol hepatoksisite modelinin çalışmamızda başarıyla oluşturulduğunu gösterdi. Düşük doz incir çekirdeği yağının toksikasyon öncesi yedi gün boyunca verildiği DDİY grubunun serum AST düzeyleri, APAP grubuna göre görece düşük idi ancak istatistiksel olarak anlamlı düşüklük görülmedi. Toksikasyon öncesi yedi gün boyunca yüksek doz incir çekirdeği yağı verilen grubun AST düzeyleri ise, APAP grubu AST düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ve buna göre 6 ml/kg/gün verilen incir çekirdeği yağının, 3ml/kg/gün verilen incir çekirdeği yağına göre daha hepatoprotektif olduğu düşünüldü. Ayrıca YDIY grubunun AST düzeylerinin kontrole yakın olması ve her iki incir çekirdeği yağı grubunun istatistiksel olarak birbirinden anlamlı fark göstermesi ise düşüncemizi güçlendirdi.

ALT düzeylerine bakıldığında ise APAP grubunun düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,05$). İncir çekirdeği yağı gruplarının ALT düzeyleri ise APAP grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0,05$). Her iki grubun birbirinden ve kontrol grubundan anlamlı fark göstermemesi ise incir çekirdeği yağının doz bağımsız koruyucu özellik gösterdiğini düşündürdü. Ancak iki ayrı dozda incir çekirdeği yağı verilen grupların karşılaştırılmasında ALT düzeylerinin beklenenin tersine görece YDIY grubunda daha yüksek görülmesi ve bu enzimin yarılanma ömrünün uzun olduğu bilgisi de göz önüne alınca yüksek doz incir çekirdeği yağının da parasetamol toksisitesi harici karaciğerde hasara sebep olmuş olabileceği düşünüldü.

Çalışmamız sonucunda gruplardan elde edilen LDH düzeyleri ortalamalarına ve istatistiksel incelemelerine bakarak, beklendiği gibi LDH düzeylerinin APAP grubunda yüksek olduğu görüldü. İncir çekirdeği yağı verilen gruplarda ise sadece parasetamol verilen APAP grubuna göre LDH düzeylerinin anlamlı düşük görüldüğü saptandı. AST ve ALT düzeylerinden elde edilen verilerle paralellik gösteren bu sonuçlar incir çekirdeği yağının koruyucu etkilerinin var olduğu düşüncesine güç kattı. İki farklı dozda incir çekirdeği yağı verilen grupların birbirleriyle istatistiksel olarak anlamlı farkı bulunmasa da, yüksek doz incir çekirdeği yağı verilen grubun yüksek LDH değerlerine sahip olması, karaciğere spesifik olmayan bu enzimin başka nedenlerle yükselmiş olabileceği ya da dozun fazla gelmesi ile karaciğerde yağlanma gibi başka patolojilere neden olması sebebiyle olabileceği düşünüldü.

Parasetamol ile indüklenen hepatotoksisitenin altında yatan önemli nedenlerden biri de serbest radikallerin oluşmasıdır. Oluşan oksidatif strese bağlı olarak, dokuya ve organa hasar veren reaktif oksijen türevleri, reaktif nitrojen türevleri, reaktif nitrojen türevleri ve peroksidasyon reaksiyon ürünleri meydana gelir (Horton ve Fairhurst, 1987). Hücre içinde meydana gelen mekanizmalar sonucu ortaya çıkan bu zararlı oksidanlar, hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini okside etmeye başlayarak, lipid peroksidasyon (LPO) tepkimelerini başlatır. Bu tepkimeler sonucunda ortaya çıkan zararlı aldehytler, hücre membran yapısını bozar, protein sentezini inhibe ederek DNA replikasyonunu bloke eder, hücre fonksiyonları bozar ve hücrenin ölümüne kadar giden dejenerasyonlara yol açar. Bu sürecin doku hasarı belirteçlerinden biri de sıklıkla kullanılan LPO son ürünü olan MDA belirteçidir (Draper ve Hadley, 1990).

Literatüre bakıldığında birçok çalışmada parasetamol toksisitesinde toksisite gruplarının MDA düzeylerinin kontrol gruplarına göre anlamlı artış gösterdiği bildirilmiştir. Ojo ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada toksikasyon dozu olarak 2g/kg APAP kullanılmış ve bu grupta MDA düzeyinde anlamlı artış görülmüştür. Morsy ve arkadaşları 2010 yılında gerçekleştirdikleri çalışmalarında ise APAP ile indüklenmiş hepatotoksisite grubunda, toksikasyon sonrası 4, 8 ve 24'üncü saatte alınan kan örneklerinden ve alınan doku örneklerinden bakılan MDA düzeylerinin yüksek olduğunu söylemişlerdir. Yen ve arkadaşları ise 2007 yılında yaptıkları çalışma sonucu APAP uygulanan ratlardan alınan MDA düzeylerinin yüksek oluşunun, APAP'ın indüklediği hepatotoksisite yollarından biri olan oksidatif stres sonucu oluşan LPO'dan kaynaklandığını ifade ederek, literatürün çoğuyla paralel görüş bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise MDA düzeyleri APAP grubunda kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla saptanıp, literatürdeki diğer makalelerde de bildirildiği gibi onlara paralellik göstermiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da incir çekirdeği yağı verilen gruplarda MDA düzeyleri APAP grubuna göre gözle görülür düşük saptanmıştır. YDİY grubunda kontrole daha yakın değerler bulunması ise dikkat çekici olup elde ettiğimiz veriler karaciğer fonksiyon testi sonuçlarımız ile benzerlik göstermiştir.

APAP hepatotoksisitesi, oksidan stres oluşturarak nükleer DNA fragmentasyonuna ve ardından proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını ve immün hücrelerin aktivasyonunu içeren inflamatuvar bir yanıtla sonuçlanır. Nötrofiller ve makrofajlar da potansiyel olarak hasarı şiddetlendirebilir. Nötrofillerden enflamasyon alanına salınan miyeloperoksidaz (MPO) enzimi ise güçlü oksidan kaynaklarından birisidir ve hipoklorik asit üretimini

katalizler(Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Nötrofil infiltrasyonunun bir göstergesi olan myeloperoksidaz aktivitesi Uchida ve arkadaşlarının 2017 yılında fareler üzerinde APAP toksisitesi oluşturarak yaptığı çalışmada, nötrofil göçünü gösterebilmek için ölçülmüş, toksikasyon grubunda anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Lin ve arkadaşlarının 2018'de yayınlamış oldukları çalışmada ise parasetamol ile toksikasyon yaptıkları gruplarının MPO düzeyinin dendrobium officinale denen bitkiden elde ettikleri polisakkaritleri verdikleri gruplara nazaran anlamlı artış gösterdiğini söylemişlerdir. Çalışmamızda ise MPO değerleri istatistiksel olarak APAP grubunda kontrole göre anlamlı artış gösterdi. İncir çekirdeği yağı verilen gruplarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark olmayışı, incir çekirdeği yağının inflamasyonu azalttığı ve nötrofil göçünü azalttığı çıkarımını yapmamızı sağladı.

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den hidroksil radikalinin oluşmasını engeller. Glutasyon peroksidaz, dört protein alt biriminden oluşur. Her bir alt birim bir selenyum atomu içerir. Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eden bir enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016). Saoudi ve Feki'nin 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada, hepatoksisite modeli için metanol kullanılmış ve incir kök ekstraktının koruyucu etkinliği bakılmıştır. Bu etkinliği değerlendirirken karaciğerin antioksidan özelliğini değerlendirmek için GPx düzeyini ölçmüşler ve toksisite grubunda anlamlı düşük bulmuşlardır. İncir kökünün ise bu düzeyi diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı arttığını göstermişlerdir. Şenocak ve Yıldırım'ın 2016 yılında yaptığı çalışmaya göre APAP ile oluşturdukları hepatotoksisite gruplarından alınan kan örneklerinin, GPx düzeylerinin karahindiba ile oluşturdukları tedavi grupları ve kontrol grubundan anlamlı az saptandığını bildirmişlerdir. Çağlayan'ın 2016 yılında yaptığı methotreksat indüklü karaciğer hasarında hasar oluşturdukları grupta GPx düzeyinin anlamlı düşük saptandığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da APAP ile toksisite oluşturduğumuz grubumuzda GPx düzeyi kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p<0,05$). İncir çekirdeği yağı verilen gruplarda ise bu antioksidan enzimin düzeyi APAP grubuna göre anlamlı yükseliş göstermese de özellikle YDIY grubunun GPx düzeyinin gözle görülür yüksek olması, incir çekirdeği yağının antioksidan etkilerinin olabileceğini düşündürdü. Doz grupları karşılaştırıldığında ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Parasetamol toksisitesi, karaciğerde inflamasyondan nekroza kadar giden çeşitli histopatolojik bulgular meydana getirir. Parasetamol ile oluşturulmuş hepatotoksisite modeli kullanan çalışmalar literatürde incelendiğinde; Aktaş ve arkadaşlarının 2013 yılında L-karnitin etkisini araştırdığı çalışmada toksikasyon grubunda, belirgin sinuzoidal dilatasyon, nekrotik hücreler, parankimal mononükleer hücre infiltrasyonu saptanmış, Tsung ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptığı çalışmada; asetaminofen verilen grupta hepatik nekroz ve perivenüler inflamasyon saptanmış, Kandil ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptığı çalışmada toksisite grubunda, kontrol grubuna göre daha fazla nekrotik hücre, piknotik çekirdek ve dejenere yağlı karaciğer hücreleri görüldüğü söylenmiştir. Ozhasenekler ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları deneysel rat çalışmasında; asetaminofen ile oluşturdukları hepatik toksisitede histopatolojik olarak, sentrilobüller nekroz ve inflamasyon saptadıklarını söylemişlerdir. Murali ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları çalışmada, karaciğer toksisite grubunda hepatik dejenerasyon, nekroz ve santral ven etrafındaki hepatositlerde yağlı dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon gördüklerini bildirmişlerdir. Akaman'ın 2018'de yaptığı çalışmada ise grupları, sentrilobüller nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hidropik dejenerasyon ve venöz konjesyon bulguları skorlayıp karşılaştırmış, APAP grubunda anlamlı düzeyde daha fazla bu bulgulara rastladıklarını söylemiştir.

Çalışmamızda karaciğer hasarı, METAVIR skorlama sistemine benzer bazı modifikasyonlarla oluşturduğumuz skorlamaya göre değerlendirildi. Karaciğer hasarı 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (yoğun) olarak puanlandı. Histopatolojik skor kategorileri sentrilobüller nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hepatositlerde dejenerasyon, sinuzoidal dilatasyon bulgularına göre oluşturuldu. Ayrıca incir çekirdeği yağı gruplarında da fazlaca görülen sitoplazmik vakuolizasyonlar ve mikroveziküler steatoz görüntüleri değerlendirildi.

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu bulguları incelendiğinde, bu bulgu APAP grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiş ve bu grupta skor ortalamasına göre orta-ciddi düzey bulgulara rastlanmıştır. Bu veriler literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir. Elde edilen skor ortalamalarına göre gruplar arası farklar incelendiğinde ise incir çekirdeği yağı verilen gruplarda bu bulguların APAP grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu görülmüş olup, en çok azalmanın ise YDİY grubunda olması incir çekirdeği yağının verildiği doza orantılı olarak antiinflamatuvar etkilerinin olabileceğini düşündürmüştür.

Sentrilobüler nekroz bulguları incelendiğinde, bu bulgu APAP grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiş ve bu grupta skor ortalamasına göre orta düzey bulgulara rastlanmıştır. Bu veriler literatür bilgisi ile örtüşmektedir. İncir çekirdeği yağı gruplarının hiçbirinde sentrilobüler nekroz görülmemiş olması ise incir çekirdeği yağının hepatositlerin sağkalımını anlamlı düzeyde arttırdığını düşündürmüştür.

Dejenerasyon bulgularına bakıldığında ise toksikasyon yapılan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı dejeneratif değişiklikler görülmüştür. APAP grubu ile incir çekirdeği yağı verilen gruplar arası anlamlı fark olmayışı incir çekirdeği yağının kendisinin de bazı dejenerasyonlara neden olabileceğini düşündürmüştür. Yine de APAP grubuna oranla bu gruplardaki dejenerasyonun görece bir miktar azaldığı söylenebilir.

Sinuzoidal dilatasyon bulgularına bakıldığında gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark görülmemiştir. Ancak bu bulguya APAP grubuna göre incir çekirdeği yağı verilen gruplarda daha az rastlanmıştır.

YDIY grubunda görülen dikkat çekici bir özellik, APAP grubundan farklı olarak, dejeneratif hücrelerin çoğunun balon dejenerasyon gösterişi idi. Bu hidrojeneratif hücrelerin bazılarının mikroveziküler steatoz görünümüne benzer görünüm sergileyişi ve preparatların çoğunda en az APAP grubu kadar sitoplazmik vakuollere rastlanması, incir çekirdeği yağının yüksek dozda verilmesinin bu patolojileri meydana getirmiş olabileceğini düşündürdü. Ancak hücre içi yağlanmaları gösterebilmek için başka boyama metodları gerekeceğinden ve literatürde parasetamol ile yapılan toksisite çalışmalarında bu bulgu skorlama olarak kullanılmadığından bu görünümeler skorlamalara dahil edilmedi.

Tüm bu sonuçlar, elde ettiğimiz biyokimyasal sonuçlarla örtüşme gösterip, hepatotoksisite modelinin istenilen düzeyde oluşturulduğunu ve genel olarak incir çekirdeği yağının olumlu etkiler oluşturduğunu gösterdi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, parasetamol ile indüklenmiş deneysel akut karaciğer toksisitesi üzerine incir (*Ficus Carica*) çekirdeği yağının koruyucu etkileri araştırıldı. Bu etkileri değerlendirirken literatürden elde edilen bilgiler ışığında, karaciğer fonksiyon testleri olarak da bilinen aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleri ile, oksidan ve antioksidan sistemin parçaları olan, glutatyon peroksidaz (Gpx), miyeloperoksidaz (MPO) enzimlerini ve malendioaldehit (MDA) düzeylerini ölçebileceğimiz elisa kitlerinin kullanılması tercih edildi. Ayrıca tüm sıçanların karaciğer dokuları histopatolojik olarak, sentrilobüler nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, dejenerasyon ve sinuzoidal dilatasyon bulgularına göre skorlanıp incelenerek, elde edilen biyokimyasal verilerle korelansı değerlendirildi.

Yalnızca tek sefer 2g/kg dozunda parasetamol verilen APAP grubunun biyokimyasal ve histopatolojik verileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla literatürle uyumlu olacak şekilde anlamlı sonuçlar elde edildiği görüldü. Bu durum toksisite modelinin çalışmamızda başarıyla oluşturulduğunu gösterdi.

AST ve MDA düzeyleri değerlendirildiğinde bu değerlerin, gruplar arası ilişkileri ile benzerlik gösterdiği ve incir çekirdeği yağı gruplarında APAP grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdiği saptandı. AST ve MDA düzeylerinde en çok düşüşün YDİY grubunda sağlanması ise 6ml/kg incir çekirdeği yağının yedi gün boyunca verilmesinin bu değerleri daha olumlu etkilediğini gösterdi.

ALT, LDH ve MPO düzeyleri değerlendirildiğinde yine APAP grubuna göre incir çekirdeği yağı verilen gruplarda değerlerin daha düşük saptandığı görüldü ancak, AST ve MDA düzeylerinden farklı olarak gruplar içerisinde en düşük düzeylerin DDİY grubunda olması, yüksek doz incir çekirdeği yağı verilmesinin bu değerlerdeki artışa katkısı olabileceğini düşündürdü.

GPx düzeyleri değerlendirildiğinde ise önemli bir antioksidan olan bu enzimin en az APAP grubunda saptandığı ve 6 ml/kg incir çekirdeği yağı verilen YDİY grubunda ise incir çekirdeği yağının bu değerde görece artış oluşturduğu izlendi.

Histopatolojik incelemelerde ise, kontrol grubuna kıyasla APAP grubunda sinuzoidal dilatasyon hariç bütün patolojik bulgularda anlamlı artış görüldü. Bu sonuçlar elde ettiğimiz biyokimyasal verilerle örtüşme gösterip, hepatotoksisite modelinin istenilen düzeyde oluşturulduğunu kanıtlar nitelikteydi. En dikkat çekici bulgu, incir çekirdeği yağı gruplarının karaciğer doku incelemelerinde hiçbir preparatta senrilobüler nekrozun görülmemesi idi. İnflamatuar hücre infiltrasyonlarının ise en çok YDİY grubunda azalma gösterişi, parasetamol toksisitesinin hasarlarından incir çekirdeği yağının antienflamatuar özellik göstererek organizmayı koruyucu etkiler gösterdiği yönünde ciddi ipuçları sağladı. Ancak hücrel dejenerasyon varlığı açısından gruplar incelendiğinde, incir çekirdeği yağı ve APAP gruplarının benzerlik gösterişi, YDİY grubunda bir dejenerasyon alt türü olan balon dejenerasyon oranının daha yüksek oluşu, mikroveziküler steatoz benzeri görüntülerin ve sitoplazmik vakuolizasyon bulgularının daha fazla oluşu, yedi günlük yüksek doz incir çekirdeği yağının sıçan karaciğerlerine farklı mekanizmalarla hasar vermiş olabileceğini düşündürdü. Biyokimyasal ölçümler sonucu elde ettiğimiz ALT ve LDH değerlerinin YDİY grubunda DDİY grubuna kıyasla daha fazla oluşu da, bu çıkarımı güçlendirdi.

Sonuç olarak, elde edilen veriler ışığında; literatürde bu konuda henüz çalışılmamış bir materyal olan ve yöremizde önemli üretim miktarına sahip olan incir (*Ficus Carica*) bitkisinden soğuk sıkım tekniği ile elde edilen çekirdek yağının, parasetamol ile oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde koruyucu etkileri olduğu gösterildi. Literatürde benzeri olmadığı için doz seçimi konusunda belirleyici bir çalışma olacak bu çalışma sonucunda kar zarar ilişkileri de gözetilerek, 6ml/kg incir çekirdeği yağının koruyucu etkilerinin yanı sıra karaciğerde farklı mekanizmalarla patoloji oluşturabileceğinin göz ardı edilmemesi söylenebilir.

Sonraki çalışmalara ışık tutmak adına, parasetamolle oluşturulacak akut karaciğer toksisitesi modellerinde ve kronik karaciğer toksisitesi modellerinde incir çekirdeği yağının çeşitli kombinasyonlarla koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılmaya devam edilmesinin olumlu sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir. İncir çekirdeği yağının antienflamatuar ve antioksidan etkileri başka modellerle araştırılmaya devam edilmelidir. Elde edilmesi mümkün bu olumlu sonuçlar sayesinde incirin ve incir çekirdeği yağının, tıbbi kullanıma girmesi halinde, ülkemiz ve yöremiz için önemli kalkınma payı sağlayacağı ve insanlığa sağlık adına birçok katkısı olacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aghel, N., Kalantari, H., & Rezazadeh, S. (2011). Hepatoprotective effect of Ficus carica leaf extract on mice intoxicated with carbon tetrachloride. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(1), 63.
- Ajith, T. A., Hema, U., Aswathy, M. S. (2007). Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminophen-induced acute hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and Chemical Toxicology*, 45(11), 2267-2272.doi: 10.1016/j.fct.2007.06.001
- Akaman, O. (2018). *Asetaminofene bağlı hepatotoksisitesinin önlenmesinde CoQ10 ve melatonin etkisi: Deneysel çalışma*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya
- Aktaş, Ö., Eskiocak, S., Özgün, G. S., Yalçın, Ö., Süt, N. (2013). Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 38(4).
- Al-Zahim, A. A., Al-Malki, N. Y., Al-Abdulkarim, F. M., Al-Sofayan, S. A., Abunab, H. A., Abdo, A. A. (2013). Use of alternative medicine by Saudi liver disease patients attending a tertiary care center: prevalence and attitudes. *Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of The Saudi Gastroenterology Association*, 19(2), 75.
- Arıcı, S. (2008). Toksik hepatit. *Pamukkale Tıp Dergisi*, (2), 113-119.
- Badgujar, S. B., Patel, V. V., Bandivdekar, A. H., Mahajan, R. T. (2014). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Ficus carica: A review. *Pharmaceutical Biology*, 52(11), 1487-1503.
- Bartlett, D. (2004). Acetaminophen toxicity. *Journal of Emergency Nursing*, 30(3), 281-283.
- Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, S., Tacchi, R., Leone, S. (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 12(3-4), 250-275.
- Bessems, J. G., Vermeulen, N. P. (2001). Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(1), 55-138.

- Boutaud, O., Aronoff, D. M., Richardson, J. H., Marnett, L. J., Oates, J. A. (2002). Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H₂ synthases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(10), 7130-7135.
- Boyland, E. (1969). The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol*, 32, 173-219.
- Chen, J. G., Parkin, D. M., Chen, Q. G., Lu, J. H., Shen, Q. J., Zhang, B. C., Zhu, Y. R. (2003). Screening for liver cancer: results of a randomised controlled trial in Qidong, China. *Journal of Medical Screening*, 10(4), 204-209.
- Chiew, A. L., Gluud, C., Brok, J., Buckley, N. A. (2018). Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2).
- Clissold, S. P. (1986). Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 32(4), 46-59.
- Cover, C., Mansouri, A., Knight, T. R., Bajt, M. L., Lemasters, J. J., Pessayre, D., Jaeschke, H. (2005). Peroxynitrite-induced mitochondrial and endonuclease-mediated nuclear DNA damage in acetaminophen hepatotoxicity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(2), 879-887.
- Cruzan, G., Carlson, G. P., Johnson, K. A., Andrews, L. S., Banton, M. I., Bevan, C., Cushman, J. R. (2002). Styrene respiratory tract toxicity and mouse lung tumors are mediated by CYP2F-generated metabolites. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35(3), 308-319.
- Curtis, R. M., & Sivilotti, M. L. (2015). A descriptive analysis of aspartate and alanine aminotransferase rise and fall following acetaminophen overdose. *Clinical Toxicology*, 53(9), 849-855.
- Çalışkan, D., Koca, T., Doğuç, D. K., Özgöçmen, M., Akçam, M. (2016). The protective effect of pomegranate juice in paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. *Turkish Archives of Pediatrics/Türk Pediatri Arşivi*, 51(2), 72.
- Çalışkan, O., Polat, A. A. (2012). Morphological diversity among fig (*Ficus carica* L.) accessions sampled from the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(2), 179-193.

- Çolak, E., Üstüner, M. C. , Tekin, N., Çolak, E., Burukoğlu Dönmez, D., Değirmenci, İ., ... Güneş, H. V. (2011). Karbon tetrakloridin indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının etkileri. XII. Ulusal Tubbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (pp.131). Antalya, Turkey
- Dargan, P. I., Jones, A. L. (2002). Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist. *Critical Care*, 6(2), 1-4.
- Davidson, D. G., Eastham, W. (1966). Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *British Medical Journal*, 2(5512), 497.
- Deniz A.C. (2016). *Asetaminofen zehirlenmesinde kapsaisin etkisi: Deneysel bir rat modeli* Yüksek lisans Tezi. Tıp Fakültesi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa
- Draper, H. H., Hadley, M. (1990). [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186, 421-431.
- El-Bakry, H. A., El-Sherif, G., Rostom, R. M. (2017). Therapeutic dose of green tea extract provokes liver damage and exacerbates paracetamol-induced hepatotoxicity in rats through oxidative stress and caspase 3-dependent apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 798-811.
- Emet, M., Ozcan, H., Ozel, L., Yayla, M., Halici, Z., Hacimuftuoglu, A. (2016). A review of melatonin, its receptors and drugs. *The Eurasian Journal of Medicine*, 48(2), 135.
- Farrell, S. E., Defendi, G. L. (2018). Acetaminophen toxicity treatment & management antioxidative/electrophilic response on the liver. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 244(1), 57-65.
- Gond, N. Y., Khadabadi, S. S. (2008). Hepatoprotective activity of *Ficus carica* leaf extract on rifampicin-induced hepatic damage in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical sciences*, 70(3), 364.
- Graham, G. G., Scott, K. F. (2005). Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 12(1), 46-55.
- Graham, G. G., Scott, K. F. (2005). Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 12(1), 46-55.

- Guan, Y. S., He, Q. (2013). A current update on the rule of alternative and complementary medicine in the treatment of liver diseases. *Evidence- Based Complementary and Alternative medicine*, 2013.
- Guan, Y. S., He, Q. (2015). Plants consumption and liver health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Gupta, S. C., Kismali, G., Aggarwal, B. B. (2013). Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *Biofactors*, 39(1), 2-13.
- Günşar, F. (2017). Karaciğer Hastalıklarında Tamamlayıcı (Komplementer) Tedavi. <http://guncel.tgv.org.tr/journal/71/pdf/100541.pdf> adresinden erişildi.
- Güven, N., Gökyer, A., Koç, A., Temiz, N. N., Selvi, S., Koparal, B., ... Erman, C. (2019). Physiochemical Composition of Fig Seed Oil from Turkey. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7, 541-545.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150.
- Hawkins, N., Golding, J. (1995). A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 40(1), 79-82.
- Heymann, M. A. (1986). Non-Narcotic Analgesics. *Drugs*, 32(4), 164-176.
- Hilal, M. A. E., El Sayed, R. M., Ahmed, S. E. (2019). Review on Chemistry, Pharmacology and Toxicity of Paracetamol. *Sohag Medical Journal*, 23(2), 56-61.
- Hinson, J. A. (1983). Reactive metabolites of phenacetin and acetaminophen: a review. *Environmental Health Perspectives*, 49, 71-79.
- Horton, A. A., Fairhurst, S., Bus, J. S. (1987). Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 18(1), 27-79.
- Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.

- Iwalokun, B. A., Efedede, B. U., Alabi-Sofunde, J. A., Oduala, T., Magbagbeola, O. A., & Akinwande, A. I. (2006). Hepatoprotective and antioxidant activities of Vernonia amygdalina on acetaminophen-induced hepatic damage in mice. *Journal of Medicinal Food*, 9(4), 524-530.
- Jaeschke, H. (2003). Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 284(1), G15-G26.
- James, L. P., Mayeux, P. R., Hinson, J. A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 31(12), 1499-1506.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2009). Temel Histoloji. Çeviri: Aytakin, Y., Solakoğlu, S., 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 135.
- Kandil, E. I., Zahran, W. E., Helmy, A. S., Ahmed, N. H. (2015). Attenuation of Hepatorenal Toxicity Induced By Paracetamol and Gama Irradiation with Coenzyme Q10 Co-Supplementation in Male Albino Rats. *Egy. J. Pure Appl. Sci*, 53, 35-43.
- Kantar, F. U. (2017). Karaciğer Fonksiyon Testi Yüksekliğine Yaklaşım. *Klinik Tıp Bilimleri*, 5(2), 30-38.
- Karabulut, H., Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.
- Karakan, M., & Nazlıkul, H. (2017) Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi*, 11(2), 7-11.
- Kittisupamongkol, W. (2009). Liver injury from diclofenac or acetaminophen?. *American Journal of Gastroenterology*, 104(7), 1862.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- Kumar, S., Kamboj, J., Sharma, S. (2011). Overview for various aspects of the health benefits of Piper longum linn. fruit. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 4(2), 134-140.
- Kuntz, E., Kuntz, H. D., (2006). Hepatology principles and practice, in 2nd edition, *Springer Medizin Verlag Heidelberg*, 906 p.

- Lancaster, E. M., Hiatt, J. R., Zarrinpar, A. (2015). Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. *Archives of Toxicology*, 89(2), 193-199.
- Lansky, E. P., Paavilainen, H. M., Pawlus, A. D., Newman, R. A. (2008). Ficus spp.(fig): Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(2), 195-213.
- Larrey, D., Ursic-Bedoya, J., & Meunier, L. (2017). Drug-induced hepatotoxicity. *Schiff's Diseases of the Liver*, 740-773.
- Lauterburg, B. H., Corcoran, G. B., Mitchell, J. R. (1983). Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo. *The Journal of Clinical Investigation*, 71(4), 980-991.
- Lee, H. S., Ti, T. Y., Lye, W. C., Khoo, Y. M., Tan, C. C. (1996). Paracetamol and its metabolites in saliva and plasma in chronic dialysis patients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 41(1), 41-47.
- Lee, J. K., Kim, J. H., Shin, H. K. (2011). Therapeutic effects of the oriental herbal medicine Sho-saiko-to on liver cirrhosis and carcinoma. *Hepatology Research*, 41(9), 825-837.
- Lee, W. M. (2003). Drug-induced hepatotoxicity. *New England journal of medicine*, 349(5), 474-485.
- Lee, W. M. (2004). Acetaminophen and the us acute liver failure study group: Lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, 40(1), 6-9.
- Lin, G., Luo, D., Liu, J., Wu, X., Chen, J., Huang, Q., ... Su, Z. (2018). Hepatoprotective effect of polysaccharides isolated from *Dendrobium officinale* against acetaminophen-induced liver injury in mice via regulation of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Loh, C. S., & Ponampalam, R. (2006). Nephrotoxicity associated with acute paracetamol overdose: a case report and review of the literature. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*, 13(2), 105-110.
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10.

- Mant, T. G., Tempowski, J. H., Volans, G. N., Talbot, J. C. (1984). Adverse reactions to acetylcysteine and effects of overdose. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 289(6439), 217-219.
- Masson MJ, Collins LA, Carpenter LD, Graf ML, Ryan PM, Bourdi M, Pohl LR. Pathologic role of stressed-induced glucocorticoids in drug-induced liver injury in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010, 397, 3, 453–458.
- Mazer, M., Perrone, J. (2008). Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Journal of Medical Toxicology*, 4(1), 2-6.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Miller, R. P., Roberts, R. J., Fischer, L. J. (1976). Acetaminophen elimination kinetics in neonates, children, and adults. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 19(3), 284-294.
- Ming, R., Hou, S., Feng, Y., Yu, Q., Dionne-Laporte, A., Saw, J. H., ... Alam, M. (2008). The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus). *Nature*, 452(7190), 991-996.
- Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Potter, W. Z., Gillette, J. R., Brodie, B. B. (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 187(1), 211-217.
- Mopuri, R., Ganjaji, M., Meriga, B., Koorbanally, N. A., Islam, M. S. (2018). The effects of *Ficus carica* on the activity of enzymes related to metabolic syndrome. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 201-210.
- Morsy, E. M., Kamel, R. (2015). Protective effect of artichoke leaf extract against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical biology*, 53(2), 167-173.
- Morsy, M. A., Ibrahim, S. A., Abdelwahab, S. A., Zedan, M. Z., Elbitar, H. I. (2010). Curative effects of hydrogen sulfide against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Life Sciences*, 87(23-26), 692-698.
- Mugford, C. A., Tarloff, J. B. (1993). In vitro covalent binding of acetaminophen in male and female Sprague–Dawley rats. *Toxicologist*, 13, 113.
- Murali, A., Ashok, P., & Madhavan, H. (2012). Hepatoprotective effect of *Hemidesmus indicus* var. *pubescens* leaf extract on paracetamol induced hepatic damage. *Medicinal Chemistry & Drug Discovery*, 3, 103-115.

- Nakilcioğlu-Taş, E. (2019). Biochemical characterization of fig (*Ficus carica* L.) seeds. *Journal of Agricultural Sciences*, 25(2), 232-237.
- Nelson, R. C., Chezmar, J. L. (1990). Diagnostic approach to hepatic hemangiomas. *Radiology*, 176(1), 11-13.
- Ojo, O. O., Nadro, M. S., Tella, I. O. (2006). Protection of rats by extracts of some common Nigerian trees against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *African Journal of Biotechnology*, 5(9).
- Omidi, A., Riahinia, N., Torbati, M. B. M., & Behdani, M. A. (2014). Hepatoprotective effect of *Crocus sativus* (saffron) petals extract against acetaminophen toxicity in male Wistar rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 4(5), 330.
- Ozhasenekler, A., Durgun, H. M., Basarali, M. K., Turkcu, G., Orak, M., Ustundag, M. (2013). The efficiency of L-ornithine L-aspartate in hepatic injury due to acetaminophen poisoning in rats. *HealthMED*, 7, 2712-9.
- Percival, M. (1996). Antioxidants. *Clin. Nutr. Ins.*, 1, 1-6.
- Pisoschi, A. M., Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74..
- Poljsak B, Jamnik P, Raspor P, Pesti M. (2011) Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution. *Encyclopedia of Environmental Health, Elsevier*, 300e306.
- Potter, D. W., Hinson, J. A. (1987). Mechanisms of acetaminophen oxidation to N-acetyl-P-benzoquinone imine by horseradish peroxidase and cytochrome P-450. *Journal of Biological Chemistry*, 262(3), 966-973.
- Rajaratnam, M., Prystupa, A., Lachowska-Kotowska, P., Zaluska, W., Filip, R. (2014). Herbal medicine for treatment and prevention of liver diseases. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 8(2).
- Rajesh, M. G., Latha, M. S. (2004). Protective activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn. on carbon tetrachloride-induced peroxidative damage. *Indian Journal of Pharmacology*, 36(5), 284.


- Ramsey, G., Hahn, L. F., Cornell, F. W., Boczkowski, D. J., Staschak, S., Clark, R., ... Starzl, T. E. (1989). Low rate of Rhesus immunization from Rh-incompatible blood transfusions during liver and heart transplant surgery. *Transplantation*, 47(6), 993.
- Reisman, S. A., Aleksunes, L. M., Klaassen, C. D. (2009). Oleanolic acid activates Nrf2 and protects from acetaminophen hepatotoxicity via Nrf2-dependent and Nrf2-independent processes. *Biochemical pharmacology*, 77(7), 1273-1282.
- Ribechini, E., Pérez-Arantegui, J., & Colombini, M. P. (2011). Gas chromatography/mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for the chemical characterisation of modern and archaeological figs (*Ficus carica*). *Journal of Chromatography A*, 1218(25), 3915-3922.
- Saoudi, M., & El Feki, A. (2012). Protective role of *Ficus carica* stem extract against hepatic oxidative damage induced by methanol in male Wistar rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Shahroor, S., Shvil, Y., Ohali, M., Granot, E. (2000). Acetaminophen toxicity in children as a "therapeutic misadventure". *Harefuah*, 138(8), 654-7.
- Sies, H., Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 311(1152), 617-631.
- Swierkosz, T. A., Jordan, L., McBride, M., McGough, K., Devlin, J., Botting, R. M. (2002). Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Medical Science Monitor*, 8(12), BR496-BR503.
- Şenocak, E. A., Yıldırım, B. A. (2017). Ratlarda Parasetamol ile Oluşturulan Hepatotoksisite Üzerine *Taraxacum officinale* Etanol Ekstraktının Etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 11-18.
- Tabakoğlu, E., Durgut, R. (2013). Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *AVKAE Derg*, 3(1), 69-75.
- Torres-González, L., Muñoz-Espinosa, L. E., Rivas-Estilla, A. M., Trujillo-Murillo, K., Salazar-Aranda, R., De Torres, N. W., & Cordero-Pérez, P. (2016). Protective effect of four Mexican plants against CCl₄-induced damage on the Huh7 human hepatoma cell line. *Annals of Hepatology*, 10(1), 73-79.

- TC Tarım ve Orman Bakanlığı. (2021) . *Dünyada İncir*. <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/M%C4%B0LL%C4%B0%20TARIM/%C3%9Cr%C3%BCn%20Masalar%C4%B1%20%C3%9Cr%C3%BCn%20De%C4%9Ferlendirme%20Raporlar%C4%B1%20yay%C4%B1mland%C4%B1/%C4%B0ncir%20De%C4%9Ferlendirme%20Raporu.pdf> **Sayı:** 48 / 2017 adresinden erişildi.
- TC Ticaret Bakanlığı Esnaf, Sanatkarlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü .(2018). *Kuru incir raporu*. <https://ticaret.gov.tr/data/5d41e59913b87639ac9e02e8/7a8186fa080b2bcc6511e33bd0fa448a.pdf> adresinden erişildi
- Uchida, N. S., Silva-Filho, S. E., Cardia, G. F. E., Cremer, E., Silva-Comar, F. M. D. S., Silva, E. L., ... Cuman, R. K. N. (2017). Hepatoprotective effect of citral on acetaminophen-induced liver toxicity in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. Doi: 10.1155/2017/1796209
- UpToDate. (2021). *Acetaminophen (paracetamol) poisoning in adults: Treatment*. https://www.uptodate.com/contents/acetaminophen-paracetamol-drug-information?search=paracetamol%20general%20&source=search_result&selectedTitle=11~150&usage_type=default&display_rank=11 adresinden erişildi.
- UpToDate. (2021). *Acetaminophen (paracetamol): Drug information* https://www.uptodate.com/contents/acetaminophen-paracetamol-drug-information?search=paracetamol%20general%20&source=search_result&selectedTitle=11~150&usage_type=default&display_rank=11 adresinden erişildi.
- UpToDate. (2021). *Clinical manifestations and diagnosis of acetaminophen (paracetamol) poisoning in children and adolescent*. https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-acetaminophen-paracetamol-poisoning-in-children-and-adolescents?search=acetaminophen-paracetamol-drug%20information&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3 adresinden erişildi.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Xiong, F., Guan, Y. S. (2017). Cautiously using natural medicine to treat liver problems. *World Journal of Gastroenterology*, 23(19), 3388.

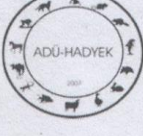
- Yan, M., Huo, Y., Yin, S., Hu, H. (2018). Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biology*, 17, 274-283.
- Yao, H. T., Yang, Y. C., Chang, C. H., Yang, H. T., Yin, M. C. (2015). Protective effects of epigallocatechin-3-gallate against acetaminophen-induced liver injury in rats. *Biomedicine*, 5(3).
- Yayla N. (2014). *Ratlarda parasetamolle indüklenen akut karaciğer toksisitesi üzerine Nigella sativa L. etanol ekstresinin etkilerinin araştırılması* . Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Yen, F. L., Wu, T. H., Lin, L. T., Lin, C. C. (2007). Hepatoprotective and antioxidant effects of *Cuscuta chinensis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 123-128.
- Yesil, A., Yilmaz, Y. (2013). Coffee consumption, the metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 38(9), 1038-1044.
- Yoon, E., Babar, A., Choudhary, M., Kutner, M., Prysopoulos, N. (2016). Acetaminophen-induced hepatotoxicity: a comprehensive update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 4(2), 131.
- Yousef, M. I., Omar, S. A., El-Guendi, M. I., & Abdelmegid, L. A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3246-3261.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 22.Mayıs. 2017

Oturum : Hayvan Deneylei YereI Etik Kurulu 2017 Yılı V. Oturum

Sayı : 64583101/2017/040

Proje Başlığı : Parasetamol İle İndüklenmiş Deneysel Akut Karaciğer Toksitesi Üzerine İncir (Ficus Carica) Çekirdeği Yağının Terapötik Etkilerinin Araştırılması.

Proje Yürütücüsü : Gökhan CESUR

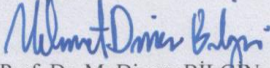
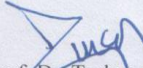

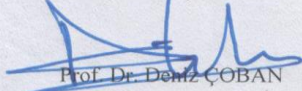
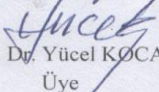
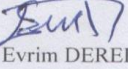
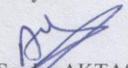
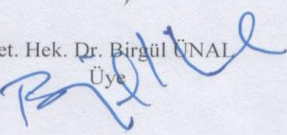
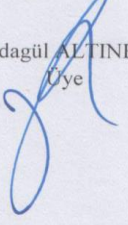
Proje Ekibi : Gül TAŞLI YEŞİLÇAYIR, Rauf Onur EK, Ferhat ŞİRİNYILDIZ, Cenk ORAK

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

- İnsan embriyosu ve fötusu kullanılması
- İnsan embriyosu ve fötusu dokularının kullanılması
- Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır

 Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN Başkan	 Prof. Dr. Turhan DOST Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. İşil SÖNMEZ Üye
 Prof. Dr. Deniz ÇOBAN Üye	 Prof. Dr. Yücel KOCA Üye	 Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN Üye
 Vet. Hek. Serdar AKTAŞ Üye	 Vet. Hek. Dr. Birgül ÜNAL Üye	 Yurdağül ALTINBAŐ Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EK-2. Bilimsel Etik Beyanı

“Parasetamol İle İndüklenmiş Deneysel Akut Karaciğer Toksikitesi Üzerine İncir (Ficus Carica) Çekirdeği Yağının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Gül TAŞLI YEŞİLÇAYIR

Öğrencinin Adı ve Soyadı

... / ... / ...

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : TAŞLI YEŞİLÇAYIR, GÜL
Uyruk : TC
Doğum yeri ve tarihi : TİRE- 11.06.1987
Telefon : 0 543 264 97 39
E-mail : drgultasli@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi	2011
Tıpta Uzmanlık	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi- Acil Tıp A.D	2012-2014 2019- Halen

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2011-2012	Gümüşhane/Torul İlçe Devlet Hastanesi	Pratisyen Hekim
2012-2014	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Acil Tıp A. D.	Araştırma Görevlisi Dr.
2014-2019	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fizyoloji A. D.	Araştırma Görevlisi
2019- Halen	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Acil Tıp A. D.	Araştırma Görevlisi Dr.

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Hakemli, Effect of Riluzole and Gabapentine on Spatial Learning, Locomotor Activity of Anxiety and Social Behaviors in Autism-like Rat Model. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 129, 122-123, 2019.

Hakemli, Effect of Riluzole on Social Behavior and Anxiety in Valproic Acid-Induced Autism-Like Rat Model. *Acta Physiologica*, 9, 2017.

Hakemli, An Experimental Rat Model for the Effects of High Fat Diet-Induced Obesity on Spatial Learning. *Acta Physiologica*, 9, 2017.

Hakemli , The Protective Effects of Melatonin and Vitamin C against Renal Ischemia Reperfusion İnjury in Rats. *Biomedical Research-India*, 5, 2016.

Hakemli, Investigation of the Effects of Melatonin Administration at Experimental Epilepsy Model that Induced by Pentylene-tetrazole, *Acta Physiologica*, 9, 2015.

2. PROJELER

TNBS ile Oluşturulmuş Deneysel Kolit Modelinde Apelin-13'ün Etkisi. BAP

TNBS ile Oluşturulmuş Deneysel Kolit Modelinde Beta Glukanın Etkisi. BAP

Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Farklı Dozlardaki Omega 3 Yağ Asitlerinin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. BAP

Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Beta Glukanın Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. BAP

Deneysel Serebral İskemi Modelinde Kan Beyin Bariyeri Biyobelirteçlerinin Değerlendirilmesi. BAP

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Özet Bildiri. Effect of Riluzole on Social Behavior and Anxiety in Valproic Acid-Induced Autism-Like Rat Model. FEPS 2017 (Yayın No:3599778)

Özet Bildiri. An Experimental Rat Model for the Effects of High Fat Diet-Induced Obesity on Spatial Learning. FEPS 2017 (Yayın No:3599730)

Özet Bildiri. Tnbs ile İndüklenmiş Deneysel Kolit Modelinde Tokoferol ve Dexpanthenol'un Olası Koruyucu Etkilerinin Ayrı Ayrı ve Birlikte Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, 2017 (Yayın No:3552624)

Özet Bildiri. Beta Glukan Uygulamasının Tnbs ile İndüklenmiş Deneysel Kolit Modeli Üzerine Terapötik ve Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, 2017 (Yayın No:3552620)

Özet Bildiri. Beta Glukanın Ratlarda Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, 2017 (Yayın No:3552632)

Özet Bildiri. Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Omega 3 Yağ Asitlerinin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, 2017 (Yayın No:3552618)

Tam Metin Bildiri. Sağlıklı Yaşam ve Obezite: Obezitenin Patofizyolojik Sonuçları. The International Balkan Conference in Sport Sciences, 2017 (Yayın No:3518786)

Tam Metin Bildiri. Egzersizin Hemoreolojik Parametreler Üzerine Etkileri. The International Balkan Conference in Sport Sciences, 2017 (Yayın No:3518800)

Özet Bildiri. Investigation The Protective Effects of Melatonin Application at Experimental Epilepsy Model Thatinduced by Pentylenetetrazole. 2nd ICABS 2016 (Yayın No:3269743)

Özet Bildiri. The Effects of Melatonin Application on Oxidative Stress and Cognitive Functions in Experimental Epilepsymodel. 6th World Congress Of Oxidative Stress, Calcium Signaling And TRP Channels, 2016 (Yayın No:3269259)

Özet Bildiri. Therapeutic Effects of Melatonin on Cerebral SOD CAT MDA and TAS Levels in Experimental Epilepticrat Model. 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels, 2016. (Yayın No:3269402)

Özet Bildiri. Protective Effects of Dexpanthenol on Trinitrobenzene Sulfonic Acid İnduced Colitis in Rats. 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels, 2016. (Yayın No:3269594)