



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE
KARACİĞER FİBROZU OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA *CYNARA SCOLYMUS* BİTKİ
EKSTRELERİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Özkan KAM

UZMANLIK TEZİ

**Şubat 2024
İSTANBUL**



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE
KARACİĞER FİBROZU OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA *CYNARA SCOLYMUS* BİTKİ
EKSTRELERİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Özkan KAM

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Berna TERZİOĞLU BEBİTOĞLU

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Şubat 2024
İSTANBUL

ONAY



YAZAR BİLDİRİMİ

“SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE KARACİĞER FİBROZU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *CYNARA SCOLYMUS* BİTKİ EKSTRESİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” isimli uzmanlık tezinde Dr. Özkan KAM,

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir.
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir.
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir.
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisine alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır.

Şubat, 2024

Dr. Özkan KAM

İmza:

.....

BİLGİLENDİRME

- Bu tez kabulünden önce hiçbir yerde yayınlanmamıştır.
- 2. Uluslararası 27. Ulusal Farmakoloji Kongresi'nde (Kasım 2023) sözlü bildirim olarak sunulmuştur.
- Bu tez ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması yoktur.
- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim yoktur.

Dr. Özkan KAM

TEŞEKKÜR

Uzunca bir süre ciddi bir emekle hazırlanan uzmanlık tezimi tamamlamamın mutluluğunu ve heyecanını yaşıyorum. Öncelikle tez konumun seçiminden çalışmamın tamamlanmasına kadar geçen sürede tezimin her aşamasında bana büyük destek ve emek veren, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, tez sürem boyunca ne zaman kendisine danışsam kıymetli zamanını bana ayıran ve tez çalışmam dışında tıpta uzmanlık eğitim hayatım boyunca değerli katkılarıyla bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Berna Terzioğlu Bebitoğlu'na teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı iletiyorum. Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana yol gösteren, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini bana aktaran ve desteğini her daim hissettiren Prof. Dr. Elif Oğuz hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca tezimin her aşamasında bana destek olan ve tez çalışmam vesilesiyle yakından tanıma şansını yakaladığım Prof. Dr. Göksel Şener'e tüm kıymetli katkılarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan bitki ekstralarının hazırlanmasındaki katkıları nedeniyle Doç. Dr. Ali Şener hocama, kan ve doku analizlerindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Özge Çevik hocama, davranış deneylerindeki katkıları nedeniyle Dr. Öğr. Üyesi Büşra Ertaş'a, dokuların histopatolojik analizlerindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Feriha Ercan ve Arş. Gör. Dr. Hilal Ünlü'ye, tez çalışmamı yürüttüğüm İstanbul Medeniyet Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Laboratuvarında tüm çalışma sürem boyunca değerli katkılarıyla bana destek olan Öğr. Gör. Andaç Kılıçkap'a, çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Nurettin Fatih Erdoğan, Arş. Dr. Nebile Hatiboğlu ve Arş. Gör. Dr. Selinay Uğurluel ve laboratuvar çalışanları Gökhan, Onur ve Kübra'ya teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, tüm hayatım boyunca bana destek olan, haklarını asla ödeyemeyeceğim sevgili annem, babam ve hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışma sürecinde de beni motive eden sevgili eşim Gülşah'a ve varlığıyla mutluluk kaynağım olan oğlum Çağan Ege'ye sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Özkan KAM

İÇİNDEKİLER

YAZAR BİLDİRİMİ	iii
BİLGİLENDİRME	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KARACİĞER	3
2.1.1. Karaciğer genel bilgiler	3
2.1.2. Karaciğer fonksiyonları	3
2.2. SARILIK	4
2.2.1. Sarılık ve bilirubin metabolizması	4
2.2.2. Hiperbilirubinemi.....	5
2.3. KARACİĞER FİBROZİSİ	6
2.3.1. Karaciğer fibrozisi	6
2.3.2. Karaciğer fibrozisi patogenezi	7
2.4. KARACİĞER HASTALIKLARINDA OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON	9
2.5. HEPATİK ENSEFALOPATİ	12
2.5.1. Hepatik ensefalopati	12
2.5.2. Hepatik ensefalopati gelişiminde olası mekanizmalar.....	13
2.5.3. Hepatik ensefalopatide tetikleyici faktörler.....	20
2.5.4. Hepatik ensefalopatide tedavi seçenekleri	21
2.6. BİTKİSEL TEDAVİ	24
2.6.1. Bitkisel tedavi	24
2.6.2. Enginar.....	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. GRUPLAR VE DENEY PROTOKOLÜ	31
3.2. HAYVANLAR	32

3.3. BİTKİ MATERYALİ.....	32
3.4. EKSTRAKSİYON	33
3.5. <i>IN VITRO</i> ÇALIŞMALAR	33
3.5.1. Antioksidan aktivite yöntemi.....	33
3.5.2. Toplam sekonder metabolit miktar tayini yöntemi.....	34
3.6. SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ.....	34
3.7. SERUMDA YAPILAN ÖLÇÜMLER.....	35
3.8. DOKUDA YAPILAN ÖLÇÜMLER.....	36
3.9. DAVRANIŞ DENEYLERİ.....	41
3.9.1. Morris su labirenti testi.....	41
3.9.2. Yeni obje tanıma testi	42
3.10. HİSTOLOJİK İNCELEMELER	42
3.11. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. <i>IN-VITRO</i> ANTİOKSİDAN AKTİVİTE	44
4.1.1. DPPH radikalini süpürücü aktivite tayini.....	44
4.1.2. ABTS ⁺⁺ radikal katyonunu süpürücü aktivite tayini	44
4.2. EKSTRENİN TOTAL BİLEŞİK MİKTAR TAYİNLERİ	44
4.2.1. Toplam fenolik bileşik miktarı	44
4.3. SERUM ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR.....	45
4.4. KARACİĞER DOKU ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR	46
4.5. BEYİN DOKU ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR.....	49
4.6. DAVRANIŞ DENEYLERİ BULGULARI.....	50
4.6.1. Morris su labirent testi bulguları.....	50
4.6.2. Yeni obje tanıma testi bulguları.....	51
4.7. HİSTOLOJİK BULGULAR	52
4.7.1. Karaciğer doku örnekleri ait histolojik bulgular.....	52
4.7.2. Beyin doku örnekleri ait histolojik bulgular	53
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
KAYNAKLAR	65
EKLER	
EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU	
EK 2: İNTİHAL RAPORU	

KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diammonyum tuzu
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AQP4	: Aquaporin 4
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDL	: Bile Duct Ligation
CAT	: Cathalase/Katalaz
CB	: Cannabinoid/Kannabinoid
CCR	: CC Chemokine Receptor/CC Kemokin Reseptör
cGMP	: Cyclic Guanosin Monofosfat/Döngüsel Guanozin Monofosfat;
CSR	: <i>Cynara scolymus</i> reseptakulum
CSY	: <i>Cynara scolymus</i> yaprak
CXCL	: CXC Chemokine Ligand/CXC Kemokin Ligand
CXCR	: CXC Chemokine Receptor/CXC Kemokin Reseptör
CYP450	: Cytochrome P450/Sitokrom P450
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl/2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EGF	: Epidermal Growth Factor/Epidermal Büyüme Faktörü
ESM	: Ekstraselüler Matriks
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
HE	: Hepatik Ensefalopati
HP	: Hidroksiprolin
HRP	: Horseradish Peroksidaz
IL	: Interleukin/İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
KBB	: Kan-beyin bariyeri
LOLA	: L-Ornitin L-Aspartat
MAO	: Monoamin Oksidaz
mGluR	: Metabotropik Glutamat Reseptörü
Na⁺/K⁺-ATPaz	: Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfataz
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate/Nikotinamid Adenin

	Dinükleotid Fosfat
NDEA	: N-nitrosodiethylamine
NF-κB	: Nüklear Faktör-Kappa B
NLRP	: Nod Like Receptor Protein/Nod Benzeri Receptör Protein
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz
NO	: Nitrik Oksit
OPA	: Ornithine Phenylacetate/Ornitin Fenilasetat
PBS	: Phosphate buffered saline/Fosfat Tampon Salin
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor/Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
ROS	: Radikal Oksidatif Stres
SF	: Serum Fizyolojik
SKB	: Safra Kanalı Bağlama
8-OHdG	: 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TGF	: Transforming Growth Factor/Transforme Edici Büyüme Faktörü
TİPS	: Transjuguler İntrahepatik Portosistemik Şant
TJ	: Tight Junction/Sıkı Bağlantı
TLR	: Toll Like Receptor/Toll Benzeri Reseptör
TMB	: Tetrametilbenzidin
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-α
UDP	: Uridine Diphosphate/Üridin Difosfat
UGT	: Uridine Diphosphate-Glucuronosyltransferase/Üridin Difosfat-Glukuroniltransferaz
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein/Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1. Hiperbilirubinemi nedenleri.....	6
Tablo 2.2. Siroz nedenleri.	7
Tablo 2.3. Karaciğer fibrozisi patogeneğinde sinyal yolları ve ilgili efektörler.	8
Tablo 2.4. Kronik karaciğer hastalığı komplikasyonları.....	12
Tablo 2.5. HE'de nörotransmitter değışiklikleri.	18
Tablo 2.6. Enginarın yenilebilir 100 gramı için bileşen değerleri (T.C. gıda tarım ve hayvancılık bakanlığı ulusal gıda kompozisyon veri tabanı).....	27
Tablo 4.1. <i>Cynara scolymus</i> türünün farklı kısımlarından %90 etanolle elde edilen ekstraların antioksidan ve toplam madde miktarları.....	45

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.	Normal karaciğer ve ilerlemiş fibrotik karaciğer.....	8
Şekil 2.2.	Karaciğer hastalıklarında bazı etkenlerin neden olduğu oksidatif stresin genel mekanizması.....	10
Şekil 2.3.	Karaciğerde redoks homeostazisi.	11
Şekil 2.4.	Karaciğer yetmezliği olan hastalarda HE ve amonyak oluşumunun patofizyolojisinin şematik özeti	14
Şekil 2.5.	Manganezin (Mn) beyin mitokondriyal bozukluğu, oksidatif stres ve HE ile ilişkisinin şematik gösterimi	15
Şekil 2.6.	Mitokondriyal disfonksiyon ve beyin enerji krizine neden olan etkenler.....	16
Şekil 2.7.	Kronik karaciğer hastalığında HE patogenezi.	17
Şekil 2.8.	Siroz sonrası gelişen enfeksiyonda HE gelişim mekanizması.....	19
Şekil 2.9.	Kolestaza bağlı artan safra asitlerinin neden olduğu inflamasyon ve karaciğer fibrozisi	20
Şekil 2.10.	Hepatik ensefalopatide tetikleyici faktörler	21
Şekil 2.11.	Sinarin kimyasal yapısı	26
Şekil 2.12.	Enginar bitkisi taban yaprağı (kırmızı oklar) ve reseptakulum kısımları (sarı oklar).....	26
Şekil 2.13.	Enginar bitkisi reseptakulum (çiçek tablası) kısmı.....	27
Şekil 2.14.	Enginar yaprağının etki mekanizması gösterilmiştir	30
Şekil 3.1.	Deneylerin akış şeması.	32
Şekil 3.2.	Safra kanalı bağlama yöntemiyle gelişen sıçan kulağı ve idrarındaki renk değişimleri.....	35
Şekil 4.1.	Serum ALT, AST, T. bilirubin ve D. bilirubin sonuçları	45
Şekil 4.2.	Karaciğer dokusuna ait IL-6 ve TNF- α sonuçları.....	46
Şekil 4.3.	Karaciğer dokusuna ait 8-OHdG, TGF- β ve Hidroksiprolin sonuçları.....	47
Şekil 4.4.	Karaciğer dokusuna ait SOD, GPX ve CAT sonuçları	48
Şekil 4.5.	Karaciğer dokusuna ait Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz sonuçları	49
Şekil 4.6.	Beyin dokusuna ait IL-6 ve TNF- α sonuçları	49
Şekil 4.7.	Beyin dokusuna ait 8-OHdG ve Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz sonuçları	50
Şekil 4.8.	Morris su labirent testine ait platform bulma zamanı ve hedef kadranda geçen süre grafikleri.....	51
Şekil 4.9.	Yeni obje tanıma testine ait fark skoru grafiği.....	52
Şekil 4.10.	Deney gruplarının karaciğer örneklerine ait temsili mikrofotograflar.....	53
Şekil 4.11.	Deney gruplarının beyin örneklerine ait temsili mikrofotograflar.....	54

ÖZET

SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE KARACİĞER FİBROZU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *CYNARA SCOLYMUS* BİTKİ EKSTRESİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Bu çalışmada, *Cynara scolymus* bitkisinin taban yaprağı ve reseptakulum kısımlarının sulu etanol ekstraksiyonunu içeren oral formülasyonlarının farmakolojik etkileri araştırılmıştır. Sıçanlarda safra kanalı bağlama modeli ile oluşturulan karaciğer fibrozisinde, enginarın hem taban yaprağı hem de reseptakulum kısmının karaciğer fibrozisi ve buna bağlı hepatik ensefalopatideki antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ile bilişsel fonksiyonlara olan etkisi incelenmiştir.

Çalışmamızda Wistar Albino sıçanlar randomize olarak altı gruba ayrıldı; kontrol grubu ve safra kanalı bağlama yapılan gruba oral serum fizyolojik, 4 farklı safra kanalı bağlı gruplara iki farklı dozda enginar taban yaprağı ekstresi (250 ve 500 mg/kg) ve enginar reseptakulum ekstresi (250 ve 500 mg/kg) oral gavajla 28 gün verildi. 28. gün sonunda hayvanlarda bilişsel aktivite değerlendirmesi için Morris su labirenti ve yeni obje tanıma testleri yapıldı. Ardından hayvanlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı. Biyokimyasal parametrelerin ölçümleri için ELISA kullanıldı. Karaciğer ve beyin dokularında histolojik incelemeler yapıldı.

Serum fizyolojik verilen safra kanalı bağlı grubundaki sıçanların kan örneklerinde alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, total ve direkt bilirubin, karaciğer doku örneklerinde interlökin-6, tümör nekroz faktörü- α , transforme edici büyüme faktörü- β , 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin ve hidroksiprolin, beyin doku örneklerinde interlökin-6, tümör nekroz faktörü- α ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, karaciğer doku örneklerinde Na^+/K^+ -ATPaz, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz, beyin doku örneklerinde Na^+/K^+ -ATPaz seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Safra kanalı bağlı grupların enginar taban yaprağı ve reseptakulum ekstreleri uygulanan sıçanlarda, bu parametrelerde düzelme görülürken, reseptakulum 500 mg/kg dozunda kan alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz,

total ve direkt bilirubin, karaciğer dokusu interlökin-6, tümör nekroz faktörü- α , transforme edici büyüme faktörü- β , 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, hidroksiprolin, beyin dokusu interlökin-6, tümör nekroz faktörü- α ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin parametrelerinde anlamlı azalma, karaciğer dokusu Na^+/K^+ -ATPaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, beyin dokusu Na^+/K^+ -ATPaz parametrelerinde anlamlı yükselme tespit edildi. Davranış deneylerinde, safra kanalı bağlı grubundaki sıçanlarda görülen bilişsel fonksiyonlardaki bozulma, enginarın her iki kısmından elde edilen ekstrelerin uygulaması ile düzeldiği görüldü. Histopatolojik incelemeler bu bulguları destekledi.

Yaptığımız çalışma, enginarın özellikle reseptakulum kısmının karaciğer fibrozisi ve karaciğer fibrozisinin en sık komplikasyonu olan hepatik ensefalopatide yararlı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Enginar, karaciğer fibrozisi, hepatik ensefalopati, antiinflamatuvar, antioksidan, safra kanalı bağlama

ABSTRACT

EXAMINATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF *CYNARA SCOLYMUS* PLANT EXTRACT ON RATS WITH LIVER FIBROSIS INDUCED BY THE DUCT LIGATION METHOD

In this study, the pharmacological effects of oral formulations containing aqueous ethanol extraction of the basal leaves and receptacle parts of the *Cynara scolymus* plant were investigated. The effects of both the basal leaves and the receptaculum part of the artichoke on liver fibrosis and related hepatic encephalopathy, as well as its anti-inflammatory and antioxidant effects on cognitive functions, were examined in liver fibrosis induced by the bile duct ligation model in rats.

In our study, Wistar Albino rats were randomly divided into six groups, and oral saline was given to the control and bile duct ligation groups and two different doses of artichoke basal leaves extract (250 and 500 mg/kg) and artichoke receptaculum extract (250 and 500 mg/kg) were given orally to the other 4 bile duct ligation groups by oral gavage for 28 days. On the 28th day after the administration, a cognitive activity assessment was conducted using the Morris water maze and novel object recognition tests. Subsequently, the animals were sacrificed, and blood and tissue samples were collected. ELISA was used for the measurement of biochemical parameters. Histological examinations were performed on liver and brain tissues.

In the bile duct ligation group, significantly elevated levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total and direct bilirubin in blood, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and hydroxyproline were found in liver tissue, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in brain tissue. Moreover, liver Na⁺/K⁺-ATPase, superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase levels, along with brain Na⁺/K⁺-ATPase levels, were significantly lower compared to the control group. In the bile duct ligation groups, rats treated with artichoke basal leaves and receptaculum extracts exhibited

improvements in these parameters. Particularly, at a dose of 500 mg/kg, receptaculum led to a significant decrease in blood alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total and direct bilirubin, liver interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, and hydroxyproline, as well as brain interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine parameters. Conversely, there was a significant increase in liver Na⁺/K⁺-ATPase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and brain Na⁺/K⁺-ATPase parameters.

Behavioral experiments indicated that cognitive impairments observed in the bile duct ligation groups were ameliorated with the application of both parts of the artichoke extract. Histopathological examinations supported these findings.

Our study shows that artichokes, especially the receptacle part, may be beneficial in liver fibrosis and hepatic encephalopathy which is the most common complication of liver fibrosis.

Keywords: *Cynara scolymus*, liver fibrosis, hepatic encephalopathy, anti-inflammatory, antioxidant, bile duct ligation

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik karaciğer hastalıkları karaciğer fibrozisi ile sonuçlanmaktadır (1). Normal karaciğer dokusu karaciğer fibrozisi gelişmesi ile fibrotik dokuya dönüşür ve bu durum tersine çevrilemez ise karaciğer sirozu gelişir. Alkolik karaciğer hastalıkları, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalıkları, kolestaz, viral hepatitler, otoimmün hepatit, ilaca bağlı karaciğer hastalıkları, Wilson hastalığı ve bazı karaciğer hastalıklarında karaciğer fibrozisi görülebilmektedir (2).

Karaciğer hastalıkları, vücutta birçok sistemi etkileyebilen önemli bir sağlık sorunudur. Bu nedenle en büyük organ olan karaciğerin fonksiyon bozukluğu, başka sistemlerin de çalışmasını önemli ölçüde etkilemektedir. Erken dönemde etkin bir tedaviye başlanmadığında, karaciğerdeki hastalık genel sistemik fonksiyonlarda bozulmaya neden olmakta ve bu durum mortalite ve morbidite açısından ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (3).

Karaciğer fibrozisini tersine çeviren ve/veya önleyen mekanizmanın günümüzde net bir şekilde halen ortaya konmamış olması ile birlikte etkili ve kesin bir tedavi de bulunmamaktadır. Bu nedenle antifibrotik etkili ilaçların araştırılmasına ihtiyaç vardır (4).

Karaciğer yetmezliği sonrası merkezi sinir sisteminin de etkilendiği bilinmektedir. Hepatik yetmezliğe bağlı gelişen bilişsel, motor ve davranışsal bozukluklar hepatik ensefalopati (HE) hastalığı olarak ortaya çıkmaktadır. Sirozun en ölümcül komplikasyonu olan HE'nin etkin tedavisi oldukça önemlidir (5, 6). Bu nedenle karaciğerde oluşan fibrozisin etyopatogenezinin anlaşılması ve tedavi edici ajanların keşfi için uygun hayvan modelinin oluşturulması oldukça önemlidir. Karaciğer fibrozisi için deney hayvanlarında en çok tercih edilen modellerden biri safra kanalı bağlama (SKB) modelidir. SKB ile gelişen kolestaz ve artan safra asitleri inflamasyon ve oksidatif hasar oluşturarak fibrozis ve siroza neden olmaktadır (7).

Özellikle gelişmiş ülkelerde, geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamaları tedavinin bir parçası olmakla birlikte bu alanda halen araştırmalar devam etmektedir. Karaciğer hastalıklarında güvenilir oldukları düşünülen bitkisel ürünler veya bunlardan elde edilen biyoaktif bileşikler hepatoprotektif olarak kullanılmaktadır (8).

Karaciğerde olumlu etkileri olduğu bilinen enginar da geleneksel uygulamalarda karaciğer açısından ilk sırada yer almaktadır. Ancak enginarın hepatoprotektif etkilerinin hangi mekanizmalar üzerinden olduğu hala kesin bir şekilde ortaya konamamıştır (9, 10). Enginarla yapılan çalışmalarda antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri gösterilmiş olmakla birlikte antikolestaz etkisi, hepatositlerde yapılan sadece bir çalışmada ortaya konmuştur (11).

Çalışmamızda enginarın hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri bu bitkinin taban yaprağı ve reseptakulum kısımlarının sulu etanol ekstraksiyonu hazırlanarak, sıçanlarda SKB modeli ile oluşturulan karaciğer fibrozisinde enginarın hem taban yaprağı hem de reseptakulum kısmının karaciğer fibrozisi ve buna bağlı gelişen HE'deki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile bilişsel fonksiyonlara olan etkilerinin karşılaştırmalı olarak ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER

2.1.1. Karaciğer genel bilgiler

Embriyonik dönemde ön bağırsağın bir parçası olan karaciğer, endoderm kökenli bir organdır. Gelişimi embriyonik dönemin 4. haftasında hepatik divertikül ile başlar. 6. hafta itibarıyla hematopoezden sorumlu hale gelir ve 12. haftadan itibaren de safra üretiminden sorumlu olur (12). Yetişkin vücut ağırlığının %2'sini oluşturan karaciğerin birçok fonksiyonu bulunmaktadır; bazı maddelerin detoksifikasyonu, bağışıklık sistemi, sindirim sistemi, vücut metabolizması ve bazı vitaminlerin depolanması bunlardan bazılarıdır. Karaciğerin %75 portal ven ve %25 hepatik arter olmak üzere ikili damarlanması mevcuttur (12). Karaciğerin fonksiyonel ünitesi olan lobül, fizyolojik olarak hepatositlerden oluşur. Fonksiyon ve perfüzyon açısından hepatositler üç bölgeye ayrılır. Birinci bölge periportal bölge olarak da adlandırılır. Perfüzyonu iyi olduğundan, rejenerasyon kabiliyeti en yüksek olan bölgedir. Yüksek perfüzyonu nedeniyle; beta oksidasyon, glukoneogenez, safra ile kolesterol oluşumu ve aminoasit katabolizmasındaki oksidatif olaylar bu bölgede gerçekleşir. Birinci ve üçüncü bölge arasında yer alan ikinci bölge perisantral bölgedir. Üçüncü bölge portal triaddan en uzak bölge olması nedeniyle perfüzyonu en düşük bölgedir. Detoksifikasyon, ilaç metabolizması, ketogenez, glikoliz, lipogenez ve glikojen ile glutamin sentezi bu bölgede olmaktadır (12).

2.1.2. Karaciğer fonksiyonları

Karaciğerin birçok önemli fonksiyonu bulunmaktadır. Bunlardan bazıları şunlardır (12-14):

- **Safra üretimi:** Böbrekler tarafından ekstrakte edilemeyen maddelerin atılmasını sağlar. Safra tuzları ve safra asitleri, yağların sindirilmesine katkıda bulunur. Safra, hepatositlerden safra kanallıklarına salgılanır, devamında duodenuma geçer veya depolama için safra kesesinde toplanır. Duodenuma salgılandıktan sonra enterohepatik dolaşıma girerek bağırsağa geçer.

- İlaç metabolizması: Ksenobiyotiklerin metabolize edilerek detoksifiye edilmesi başlıca karaciğerde gerçekleşir. Karaciğer, ilaçları faz I ve faz II reaksiyonları ile lipofilik halden hidrofilik forma çevirerek etki eder. Faz I reaksiyonları, esas olarak sitokrom P450 enzimleri ile oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz gerçekleştirir. Faz II reaksiyonları, faz I reaksiyonları sonucu oluşan metabolitleri kan veya safraya salgılanmak üzere daha hidrofilik hale dönüştürmek için konjuge eder.
- Bazı vitaminlerin depolanması veya metabolize edilmesi: Yağda çözünen vitaminlerin büyük bir kısmı şilomikron veya çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) şeklinde bağırsaktan emilir ve bu yolla karaciğere ulaşır. Bu vitaminler karaciğerde metabolize edilir veya depo edilir. Örneğin, A vitamini karaciğerde ito hücresi adı verilen hücrelerde depo edilmektedir. D3 vitamininin aktif hale gelmesi karaciğer ve böbrekte hidroksilasyon ile olmaktadır (25-hidroksilasyon). D3 vitamini, 24-hidroksilasyon ile inaktif hale gelmektedir.
- Bilirubin metabolizması: Karaciğer, hemoglobindeki demirli-porfirin proteini olan hemin parçalanmasında önemli bir organdır. Hemoliz; karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi birçok organda gerçekleşmektedir. Hemoliz sonucu konjuge olmayan bilirubin oluşur. Karaciğer, albümine bağlı olmayan bilirubini alır ve faz II enzimi olan üridin difosfat glukuroniltransferaz (UGT) ile konjuge bilirubine çevirir. Konjuge bilirubinin çoğu bağırsaklardan emilemeyip dışkı ile atılmaktadır, az bir kısmı ise kanda çözünerek böbrekler tarafından atılmaktadır.
- Karaciğer, tiroid hormonlarından T4'ün daha aktif olan T3'e deiyodinasyonunda da görev almaktadır. Albümin, globülin, protein C, protein S, faktör VIII, intrinsik-ekstrinsik yolların tüm pıhtılaşma faktörlerinin sentezinde karaciğer önemli bir rol almaktadır.

2.2. SARILIK

2.2.1. Sarılık ve bilirubin metabolizması

Sarılık vücudumuzda deri, konjonktiva ve mukoz membranlardaki sararma olarak tanımlanabilmektedir. Bu durum, bilirubinin plazmadaki miktarının artışı ile ilgilidir. Plazma bilirubin konsantrasyonu 3-4 mg/dL'yi aşarsa sarılık klinik olarak belirgin hale gelir (15). Bilirubin artışı birçok patolojinin ortak sonucu olmakla birlikte ayırıcı tanıyı belirlemede ve hastayı değerlendirmede bilirubin metabolizmasının rolü oldukça önemlidir (15).

Hemoglobindeki “heme” kısmının metabolizması sonucu bilirubin oluşur. Vücudumuzdaki bilirubin kaynağının çoğu ömrünü tamamlamış eritrositlerdir. Bunun dışında katalaz (CAT), peroksidaz ve doku sitokromları gibi heme içeren enzimler ve myoglobin de bilirubin kaynağıdır (15, 16).

Heme halkası hem oksijenaz enzimi ile biliverdine dönüştürülür. Biliverdin de biliverdin redüktaz enzimi ile bilirubine çevrilir. Bu olaylar daha çok dalak, kemik iliği ve karaciğer makrofajlarında meydana gelmektedir. Oluşan bilirubin, unkonjuge bilirubin olup plazmada albümin ile taşınır. Unkonjuge bilirubin, hepatosit membranının bazolateral kısmından organik anyon transport proteini ile plazmadan alınır. Buradan endoplazmik retikulumdaki sitozolik bağlayıcı proteinlerle iletilir. Konjugasyon işlemi burada UGT enzimi ile katalizlenir ve konjuge bilirubin oluşur. Konjuge bilirubin kanaliküler (apikal) membrandan adenozin trifosfat (ATP) bağımlı bir eksport pompası ile safra kanallarına transfer edilir. Oradan da bağırsaklara iletilerek dışkıyla atılır. Konjuge bilirubinin bir kısmı ise bağırsak bakterileri tarafından ürobilinojene çevrilir. Enterohepatik sirkülasyonla sistemik dolaşıma geçen ürobilinojen de idrarla atılır (17, 18).

2.2.2. Hiperbilirubinemi

Unkonjuge bilirubin artışı genellikle eritrositlerin yıkımı sonucu oluşmaktadır. Eritrositteki enzim bozuklukları, hemoglobinopatiler, kırmızı kan hücresi otoimmün patolojileri ve bazı kanserler bu duruma neden olabilmektedir. Heme metabolizması sonucu yüksek miktarlarda oluşan unkonjuge bilirubin, yeterli düzeyde konjuge edilip atılamaz ise sarılığa neden olur. Ayrıca azalmış bilirubin konjugasyonu da unkonjuge bilirubinin artış sebeplerindendir. Konjuge bilirubin artışı, ekstrahepatik ve intrahepatik kolestaz sonucu meydana gelebilmektedir. İntrahepatik kolestazda yaygın hepatosellüler hasar ve ciddi biliyer tıkanma olmaksızın safra klirensinde bozulma görülebilmektedir. Tüberküloz ve sarkoidoz gibi infiltratif karaciğer hastalıkları, primer biliyer siroz gibi intrahepatik safra duktus bölgesinde bulunan kolanjiositlerde görülen hasarlar, çeşitli ilaçlar ve enfeksiyonlar ile karaciğerde görülen neoplastik ve paraneoplastik karaciğer hasarına neden olan durumlar intrahepatik kolestaza neden olabilmektedir. Yine gebeliğin üçüncü trimesterinde görülen kolestaz, intrahepatik kolestaz olup 2 hafta içinde kendiliğinden düzelir ancak sonraki gebeliklerde tekrarlayabilmektedir. Safra tıkanıklığı, safranin kanaliküllere atılımından sonraki basamaklarda gerçekleşiyorsa, ekstrahepatik kolestaz olarak tanımlanmaktadır (15, 19).

Tablo 2. 1. Hiperbilirubinemi nedenleri (19).

<u>Unkonjuge hiperbilirubinemi</u>	
Otoimmün hemolitik anemi	
Kalıtsal konjugasyon bozuklukları (Crigler-Najjar sendromu, Gilbert sendromu)	
Eritrosit enzim defektleri (Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği, glukoz fosfat izomeraz eksikliği, pirimidin 5 nükleotidaz eksikliği, piruvat kinaz eksikliği)	
Eritrosit membran defektleri (eliptositoz, ovalositoz, sferositoz)	
Myeloproliferatif hastalıklar (Polisitemi Vera)	
<u>Konjuge hiperbilirubinemi</u>	
<u>İntrahepatik kolestaz</u>	<u>Ekstrahepatik kolestaz</u>
Viral hepatitler	Koledokolitiazis
Alkolik karaciğer hastalığı	Safra darlığı
Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı	Bilier atrezi
İlaça bağlı karaciğer hastalıkları	Kolanjit (Bakteriyel, primer-sekonder sklerozis)
Sepsis	Koledok kistleri
Otoimmün hastalıklar (Primer biliyer siroz, otoimmün hepatit)	Kronik pankreatit
İskemik hepatit	Safra kesesi kanseri
Genetik karaciğer hastalıkları (Wilson hastalığı, hemokromatozis)	Kolanjiokarsinom
Kanserler (Hepatosellüler karsinom, metastatik kanserler)	Pankreatik tümörler (Pankreatik adenokarsinom)
	Enfeksiyonlar (Sitomegalovirüs, insan immün yetmezlik virüsü)

2.3. KARACİĞER FİBROZİSİ

2.3.1. Karaciğer fibrozisi

Karaciğer fibrozisi, Tablo 2.2’de gösterildiği gibi birçok kronik karaciğer hastalığının sonucunda ortaya çıkan, kollajen gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin (ESM) biriktiği bir durumdur. Karaciğer yetmezliği, siroz ve portal hipertansiyon ise ilerlemiş karaciğer fibrozisinin sonuçlarıdır ve sıklıkla karaciğer nakli ile tedavi mümkündür. Karaciğer sirozu aşırı bağ doku birikimini tanımlar (20, 21).

Aktif hepatik uydu hücreleri (stellat hücre), karaciğer kökenli fibroblastlar ve kemik iliği kökenli myofibroblastlar fibrozisin ana kaynağıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar fibrozisin geriye döndürülebildiğini ortaya koymakta ve bu durum antifibrotik ilaçların keşfi için teşvik edici olmaktadır. Birçok tedavi edici yöntem deneysel karaciğer fibrozisi modellerinde etkili olsa da insanlarda ne kadar güvenli ve etkili olduğu hala kesin olarak bilinmemektedir (20).

Karaciğer fibrozisini tanımlamak için hücre kültürü çalışmalarında in vitro yöntemler ile sıçanlarda ve transgenik farelerde in vivo çalışmalarla ortaya konmuştur.

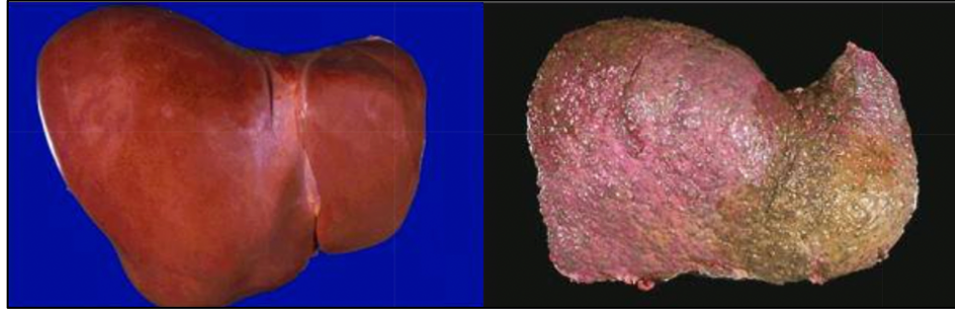
Tablo 2.2. Siroz nedenleri.

Hepatit B, Hepatit C, Delta Hepatit
Alkolik Siroz
Otoimmün hepatit
Primer biliyer kolanjit
Wilson Hastalığı
Hemokromatozis
Kolestaz
Kriptojenik

Sirozda asemptomatik fazdan sonra ödem, asit, kanama, sarılık ve ensefalopati ile karakterize dekompanse faz gelişir. Bu faz sonrası ölüm riski olduğundan hızlı bir şekilde karaciğer nakli gerekmektedir. Çünkü bu fazda hastalık sistemik bir hal alarak çoklu organ yetmezliği ile seyredebilmektedir (22).

2.3.2. Karaciğer fibrozisi patogenezi

Karaciğer fibrozisinin patogenezinde, hasara karşı yara iyileşmesinin yanıtı söz konusudur. Akut karaciğer hasarında rejenere olan hücreler, nekrotik veya apoptotik hücrelerin yerini alır. Bu nedenle sınırlı bir ESM birikimi olur. Ancak bu hasarın sınırlı kalmayarak devam etmesi durumunda karaciğer rejenerasyonu yetersiz kalır ve karaciğer dokusunun yerini daha fazla miktarda ESM alır. Fibrotik karaciğer hastalığının daha da ilerlemesi ile fibrotik alanlarda köprüleşme fibrozisi ve siroz meydana gelir (23). Hepatosit uydu hücreleri, hasarlı karaciğer hücrelerinde ESM üreten hücrelerdir. Bu hücreler 1876 yılında Von Kuppfer tarafından tanımlanmıştır (23). Hepatik sinüzoidal endotel hücreleri ile hepatositler arasındaki alan olarak tanımlanan Disse aralığının subendotelyal bölgesinde yer alan bu hücreler karaciğer hücrelerinin %10'unu oluşturmaktadır (23). Disse boşluğunda bulunan bu hücreler A vitaminini depolayan temel hücrelerdir. Bu hücreler karaciğer hasarı sonrası aktive olur ve kontraktil, proinflamatuar özellikte miyofibroblast benzeri hücrelere diferansiye olur. Stellat hücreleri safra hasarında da portal fibroblastların oluşumuna katkıda bulunmaktadır (23). Hasarla birlikte hepatositler radikal oksidatif stres (ROS) elemanları ile fibrojenik mediatörleri serbest bırakır ve bu durum inflamatuvar hücreleri aktive ederek proinflamatuar sitokinleri uyarır ve stellat hücreleri aktive eder. Aktive olan stellat hücreleri, inflamatuvar ve fibrojenik süreçte birbirlerini tetikleyen bir kısır döngüye neden olurlar (20).



Şekil 2.1. Normal karaciğer ve ilerlemiş fibrotik karaciğer (Bataller ve Brenner, 2005'ten alınmıştır).

Karaciğer fibrozisinin hücresel düzeyinde başlıca sinyal yolları ve bu yollara ait önemli efektörler bulunmaktadır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Karaciğer fibrozisi patogenezinde sinyal yolları ve ilgili efektörler (2).

Sinyal Yolu	Efektörler
Büyüme Faktörleri Sinyal İletim Yolu	PDGF, TGF- α , VEGF, EGF
Fibrojenik Sinyal Yolu	TGF- β 1
Kemokin Yolları	CCR5, CCR1, CXCL4, CXCL9, CXCL3
Adipokin Yolları	Leptin, Adinopektin
Nöroendokrin Yollar	Kanabinoid ve Opioid Sinyali, Tiroid Hormonları, Serotonin

Özellikle PDGF sinyal yolu, stellat hücrelerin aktive edilmesinde önemlidir. Bu süreç protein kinaz C aktivasyonu ile sonuçlanır. Yapılan çalışmalarda, PDGF reseptörlerinin inhibe edilmesiyle antifibrotik etkinin ortaya konduğu ve bu etkinin yeni ilaç geliştirmede umut olabileceğini ortaya koymuştur (2, 24).

Stellat hücrelerin aktive edilmesinde transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi faktörlerin de etkisi büyüktür. TGF- β ailesinin birçok izoformu vardır. TGF- β 1, karaciğer fibrozisinde en çok araştırılan formdur. TGF- β 1, inaktif halde bulunan stellat hücrelerin ESM salgılayan miyofibroblastlara farklılaşmasını teşvik eder. Yine adipokin yolağı efektörü olan leptin de TGF- β 1 üzerinden fibrozise katkıda bulunmaktadır (25). Safra yollarında oluşan fibrozisin patogenezinde ise daha çok TGF- β 2'nin rol aldığı düşünülmektedir. SKB yapılan farelerin karaciğerinde TGF- β 2'nin, TGF- β 1'e göre daha çok yükseldiği bir çalışmada ortaya konmuştur (26).

Stellat hücreleri kemokin reseptörlerini eksprese edebilmektedir. Kemokinler özellikle iltihaba neden olan kemotaktik moleküllerdir. Böylece, karaciğer hasarı bölgesine fibrozise katkıda bulunan yapıların göç etme kabiliyeti kemokinler vasıtasıyla sağlanır (2).

Stellat hücreleri ayrıca kannabinoid (CB) sinyalinde etkili olan reseptörleri de eksprese etmektedir. CB1 sinyali fibrojeneze katkıda bulunurken, CB2 sinyali antifibrotik aktiviteye katkıda bulunur. Son olarak, tiroid hormonları ve serotonin de stellat hücrelerin aktivasyonu ile fibrozise neden olabilmektedirler (2).

2.4. KARACİĞER HASTALIKLARINDA OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON

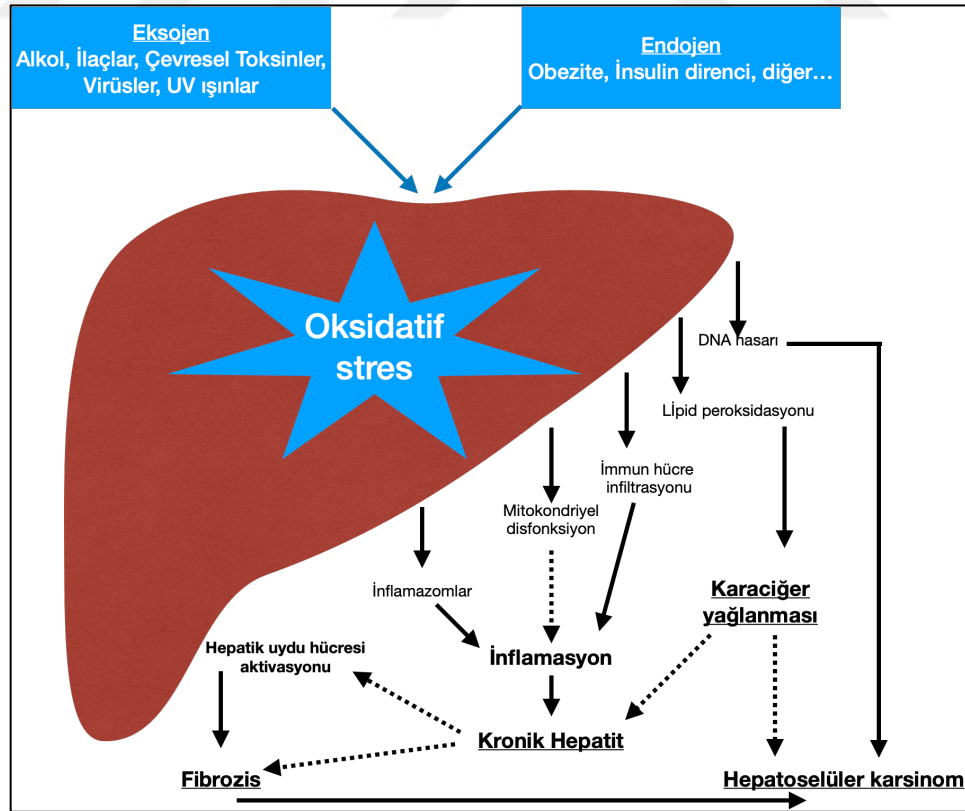
Oksidatif stres, oksidan ve antioksidan dengenin bozulması sonucunda ortaya çıkan ve potansiyel olarak hücre hasarına neden olan bir durumdur. Dokulardaki çoğu hücre hafif oksidatif stresi tolere edebilecek kapasitede olup antioksidan savunma mekanizması zarar görmüş yapılarda önemli bir onarım sağlar (27). Reaktif oksijen türleri, mutagenез ve tümör gelişimindeki etkileri nedeniyle potansiyel karsinojeniktirler. Bu elemanların gen ekspresyonunda, hücre adezyonunda, hücre metabolizmasında, hücre bölünmesinde ve hücre ölümünde (apoptozis) etkileri vardır. Bu etkiler, oksidatif DNA hasarını uyarabilir ve hücre çoğalmasında genetik anormalliklere sebebiyet verebilmektedir. Çoğu doku hasarında olduğu gibi karaciğer doku ve hücrelerindeki hasarda da oksidatif hasarın etkisi büyüktür (27). İn vivo ve in vitro çalışmalarda birçok kronik karaciğer hastalığına neden olan hastalıklarda oksidatif stres ile ortaya çıkan hasar, karaciğer fibrozisinin patofizyolojisinde önemli rol oynadığı görülmüştür (27).

Serbest radikaller genellikle kararsız ve önemli ölçüde reaktif olan atom veya moleküllerdir. İki tip serbest radikal bulunmaktadır. Bunlardan biri oksijenden üretilen reaktif oksijen radikalleri, diğeri azottan üretilen reaktif azot türleridir (28). Kolestaz sonrası nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH) ve mitokondriyal solunum yolu elemanları ROS'un temel iki kaynağıdır. Ortaya çıkan bu radikallerin birikimini engelleyen koruyucu mekanizmaların yetersiz kalması ile oksidatif ve nitrozatif stres meydana gelir. Oksidatif ve nitrozatif stres, karaciğer hastalıkları gibi birçok hastalığın patogeneğinde yer almaktadır (28).

Karaciğer hasarı sonrası nötrofil, makrofaj ve lenfosit gibi inflamatuvar hücreler hasar bölgesine göç eder ve burada kemokin, sitokin ve nitrik oksit gibi kimyasal mediyatörler salarak doku hasarına neden olurlar. Bu süreçte ortaya çıkan oksidatif stres de hasarın önemli bir parçasıdır. Proinflamatuvar dönemde artan oksidatif yanıt ve bu yanıtla bağlı olarak gelişen süreçteki kısır döngü, karaciğer hastalığının patogeneğini ortaya koymaktadır (29). ROS'in karaciğer fibrozisindeki rolü ilk olarak 1960'lı yıllarda karaciğer fibrozisi deneysel hayvan modellerinden biri olan karbon tetraklorür'e (CCl₄) bağlı karaciğer hasarında yüksek lipid peroksidasyonu ile sıçanlarda gösterilmiştir. Yine

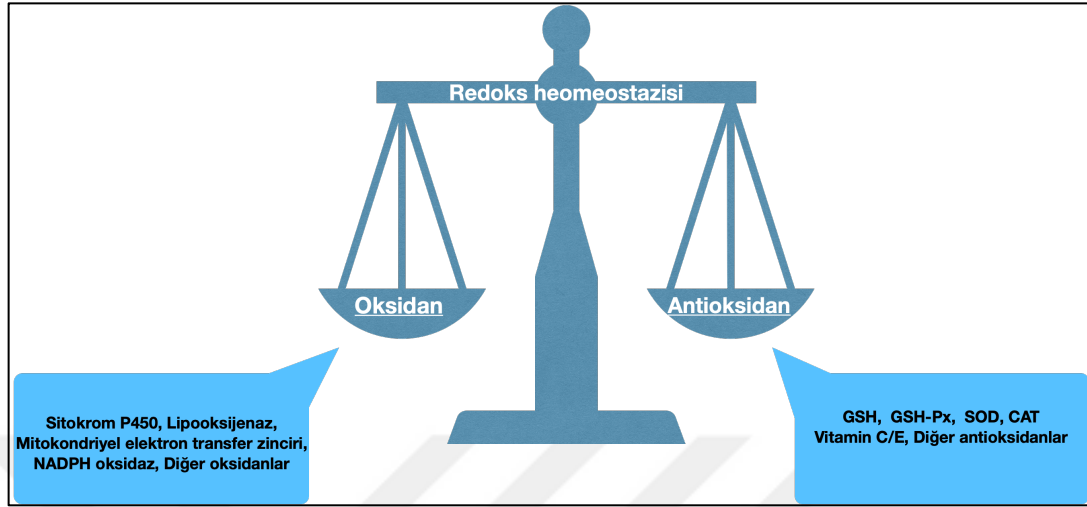
etanol kaynaklı yağlı karaciğer hastalıklarında, lipid peroksidasyonu ilk olarak 1967 yılında yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (30).

Kesin mekanizmalar tam olarak ortaya konmuş olmasa da oksidatif stres ve inflamasyonun karaciğer fibrozisi ile yakın ilişkide olduğu kabul edilmektedir. İnflamasyon sürecinde NOD benzeri reseptör proteini 3 (NLRP) sinyali önemlidir (31). NLRP3 aktivasyonunda tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörü, Toll benzeri reseptörler (TLR) ve interlökin 1 (IL) reseptörleri önemli rol almaktadır. Yine Nükleer Faktör-Kappa B (NF- κ B) yolunun TLR4, IL1- β , IL17 ve IL17 ile uyarılması ve aktive edilmesiyle TGF- β üretimi yukarı yönde regüle olur ve karaciğerde ESM birikimiyle karaciğer fibrozisi gelişir (30). Bu nedenle, fibrotik karaciğer hastalığında anti-inflamatuvar ve antioksidan tedavinin oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Hepatosit ölümü, karaciğer doku nekrozu ve stellat hücrelerin aktivasyonunda rolü olan ROS kaynaklı hasarın; CAT, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi ana antioksidan enzim aktiviteleri ve ROS temizleyiciler tarafından önlendiği gösterilmiştir. Bu olumlu etkiler birçok karaciğer hasarı tipinde gösterilmiş ve karaciğer parankiminde oksidatif zarara karşı önemli koruyucu nitelikte olduğu gösterilmiştir (32). Birçok eksojen ve endojen etken, bazı tetikleyici mekanizmalar ile oksidatif stres üzerinden fibrozise neden olmaktadır.



Şekil 2.2. Karaciğer hastalıklarında bazı etkenlerin neden olduğu oksidatif stresin genel mekanizması. (Li ve ark., 2015'ten değiştirilerek kullanılmıştır).

Sağlıklı bir metabolizmada oksidan ve antioksidan mekanizma arasında önemli bir denge vardır. Redoks homeostazisi dediğimiz bu durumda denge serbest radikaller lehine değişirse, oksidatif stres kaynaklı hastalıklar gelişebilmektedir (33).



Şekil 2.3. Karaciğerde redoks homeostazisi. (Li ve ark., 2015'ten değiştirilerek kullanılmıştır).

Viral hepatitler, kolestatik, alkolik, otoimmün ve yağlı karaciğer hastalıklarının neden olduğu kronik süreçte, karaciğer fibrozisine ilerlemesindeki en temel ve karakteristik bulgu inflamasyondur (34). Birçok karaciğer hastalığında kronik inflamasyon, karaciğer fibrozisinden önce gelişir. İnflamasyon, hastalığın tüm aşamalarında mevcut olup; karaciğer fibrozisi, karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinom gelişimi ile yakından ilişkilidir (34).

Oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge gibi proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sistem arasında da önemli bir denge vardır. Bu dengenin inflamatuvar süreç lehine bozulması, antifibrotik ilaçların keşfinde antiinflamatuvar aktivitenin önemini ortaya koymaktadır. Karaciğer hasarına neden olan etkenler, bağışıklık sisteminin aktivasyonuna ve sonrasında stellat hücre aktivasyonu ile ESM salgılanmasına neden olmaktadır. Stellat hücre aktivasyonu, makrofajlar başta olmak üzere karaciğer bağışıklık sistemi elemanlarının (T ve B lenfositler, doğal öldürücü hücreler, nötrofiller gibi) inflamatuvar aktivitesinden kaynaklanmaktadır (28, 34). Makrofaj hücreleri, özellikle TGF- β 1 üzerinden stellat hücreleri aktive eden en güçlü fibrojenik etkindir. Karaciğer makrofaj hücresi olan Kupffer hücreleri ve diğer inflamatuvar etkenler, stellat hücre aktivasyonunu NF- κ B'ye bağımlı bir şekilde yaparken, bu sürece IL-1, IL6 ve TNF- α sitokinleri önemli katkı sağlamaktadır (28).

Karaciğer, rejenerasyon yeteneği güçlü olan bir organ olmakla birlikte, karaciğer hasarında hepatosit üretimini uyarıcı IL-1, IL-6, TNF- α gibi majör sitokinler; EGF, TGF- β

ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi etkenler bu rejenerasyon kabiliyetinde rol alan önemli majör yapılardır (35). Ancak inflamasyonun kronikleşmesi ile rejenerasyon kabiliyetinin aşılması, olayı hepatik fibroze götürmektedir. Kolestatik karaciğer hastalığında da derin inflamasyonla birlikte fibroze giden bir süreç vardır. Birçok proinflamatuvar sitokin ve kemokin kaynağı olan kolanjiositler, başta T lenfositler olmak üzere diğer iltihabi hücrelerle etkileşime girerek ilgili patojeniteye neden olmaktadır. Kolestatik karaciğer hastalığı hayvan modellerinde, ESM kaynağı olan hücrelerin portal fibroblastlardan ziyade stellat hücreler olduğu ve stellat hücre aktivasyonunun inflamasyonla güçlü ilişkisinin olduğu belirtilmiştir (34, 36).

2.5. HEPATİK ENSEFALOPATİ

2.5.1. Hepatik ensefalopati

Kronik karaciğer hastalığı, karaciğer fonksiyonlarının ilerleyici şekilde bozulması ile karakterizedir. Pıhtılaşma faktörleri ve diğer bazı proteinlerin üretimi, toksik metabolizma ürünlerinin detoksifikasyonu ve safra oluşumu bu fonksiyonlardan bazılarıdır.

Siroz, kronik karaciğer hastalığının son aşamasıdır. Bu süreçte karaciğer parankiminin devamlı bir inflamasyonu ile yapım ve yıkım süreci rol oynar (21).

Tablo 2.4. Kronik karaciğer hastalığı komplikasyonları (21).

Özafagus varis kanamaları	Enfeksiyon
Hepatorenal sendrom	Hepatoselüler karsinom
Hepatopulmoner sendrom	Hepatik ensefalopati

HE, kronik karaciğer hastalığında ortaya çıkabilen komplikasyonlardan biri olan nöropsikiyatrik bir bozukluktur (5, 37). HE, kronik karaciğer hastalığı olanlarda, başka sebeplerle açıklanamayan tüm nörolojik ve psikolojik semptomları kapsayan genel bir tanımlama olup HE ile ilgili tüm tiplerini kapsayan başka bir terminoloji bulunmamaktadır (6).

Hastalık fenotipi subklinik formdan ciddi komaya kadar giden geniş bir spektrumu içerir. Bazı hipotez ve sorumlu mekanizmalar açıklansa da HE'nin kesin mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Sirotik hastalarda sık görülen ve ölümcül bir komplikasyon olan HE'nin erken tanısı ve sebebe yönelik uygun tedavisi oldukça önemlidir. HE'nin günümüzde en önemli küratif tedavisi karaciğer transplantasyonudur (35). Tedavilerin bir kısmı hayvan çalışmalarına, klinik gözlemlere ve randomize araştırmalara dayanmaktadır.

Klinik belirtiler fark edilemeyecek kadar hafif veya derin komaya gidecek kadar ağır seyredemediğinden tedavi protokolleri çok farklı olabilmektedir (38).

Epidemiyolojik olarak sirozun hastaneye yatışa sebep olan en sık komplikasyonunun HE olduğu bilinmektedir. Bu durum, sağlık bakımı ve maliyetle direk ilgilidir. Siroza bağlı bilişsel bozulma, erişkinlerde karaciğer hastalığının diğer belirtilerinden daha fazla sağlık hizmeti kaynağının tüketilmesine neden olabilmektedir (39).

HE'nin karaciğer hastalığının şiddetinden bağımsız olarak yüksek mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple HE'nin patofizyolojisinde sadece karaciğer yetmezliğinin olmadığı, bağımsız başka faktörlerin de rol alabileceği ortaya konmuştur (40).

HE hastalarında mortalite oranı, HE hastalığı olmayanlara göre iki kat daha fazladır. Altta yatan karaciğer hastalığının ciddiyeti prognozda oldukça önemlidir. HE, hastalığın subklinik formu da dahil olmak üzere düşük yaşam kalitesi ve mortalite ile ilişkilidir. Sirozlu hastalarda HE'ye neden olan iki majör durum vardır. Bunlardan biri karaciğer fonksiyon bozukluğu, diğeri portal hipertansiyonda postoperatif ortaya çıkabilen portosistemik şanttır. HE, portosistemik şant cerrahisi sonrası ortaya çıkabileceği gibi spontan olarak da görülebilmektedir. Eğer spontansa ve tedaviye yanıt vermiyorsa şantın kapatılması veya küçültülmesi gerekmektedir (6).

2.5.2. Hepatik ensefalopati gelişiminde olası mekanizmalar

- Enterik toksinler

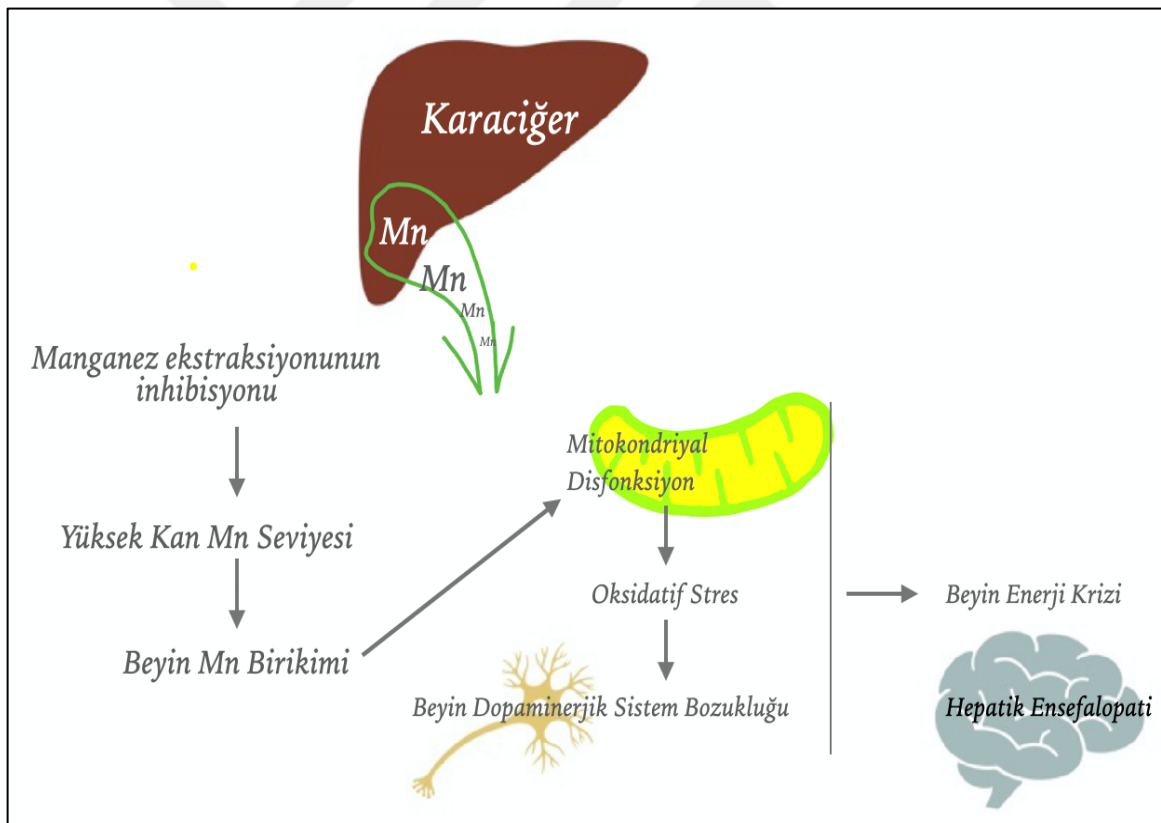
Amonyak: İnce bağırsakta glutamin metabolizmasından, kalın bağırsakta protein ve ürenin yıkımından oluşan amonyak, kaslarda ve daha az miktarda olmak üzere böbreklerde de üretilmektedir. Karaciğer fonksiyon bozukluğu nedeniyle detoksifiye olamayan amonyak, sistemik dolaşıma geçerek merkezi sinir sisteminde hasara sebebiyet verebilmektedir. Şekil 2.4'te görüldüğü gibi nörotoksik bir madde olan amonyak, beyinde glutamin ve glutamata çevrilerek metabolize edilir. Enerji gerektiren bu olayda biriken glutamin, astrositlerde astrositik değişikliklere neden olmaktadır. Astrositik fonksiyon bozukluğu ve glial proliferasyon nörotoksiste nedenidir. Artan amonyak miktarı, GABA (Gama Aminobütirik Asit) ve glutamat reseptörü üzerinden, GABAerjik ve glutamaterjik aktivite artışı ile nöronal hasara ve beyne L-Arginin alımını arttırarak nitrik oksit artışına neden olmaktadır (5).

- Çinko eksikliği

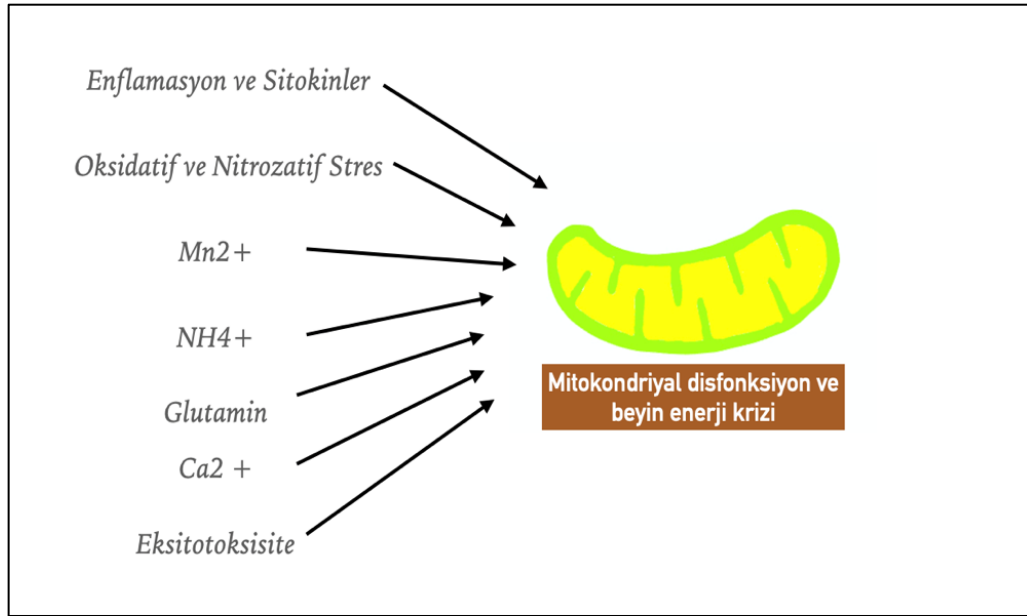
Çinko, üre siklüsünde bulunan bazı enzimlerin koenzimi olarak görev almaktadır. Çinko eksikliğinde bu enzimlerin aktivitesinde azalma meydana gelebilmektedir. HE’li hastalarda çinkonun olumlu etkileri ortaya konmuştur (42).

- Manganez toksisitesi

Karaciğer yetmezliği olan hastaların serum ve beyin dokusunda manganez düzeyinin arttığı görülmüştür. Nörotoksik bir madde olan manganez, mitokondriyel disfonksiyon ile beyin enerji ihtiyacının artışına ve oksidatif hasar ile birlikte astrositlerde bozulmaya neden olmaktadır (Şekil 2.5). Manganezin santral sinir sisteminde birikmesi, HE’de beyin fonksiyonlarının bozulmasında ciddi bir faktör olabileceği bildirilmiştir (43). Bir çalışmada, kronik karaciğer hastalığı olan dokuz hastanın otopsisinden elde edilen beyin globus pallidus numunelerinde, manganez düzeylerinin yüksek ve çinko değerlerinin normal olduğu bulunmuştur (44).



Şekil 2.5. Manganezin (Mn) beyin mitokondriyal bozukluğu, oksidatif stres ve HE ile ilişkisinin şematik gösterimi. (Heidari, 2019'dan değiştirilerek kullanılmıştır).



Şekil 2.6. Mitokondriyal disfonksiyon ve beyin enerji krizine neden olan etkenler. (Heidari, 2019'dan değiştirilerek kullanılmıştır).

- Nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS) aktivitesinin artması

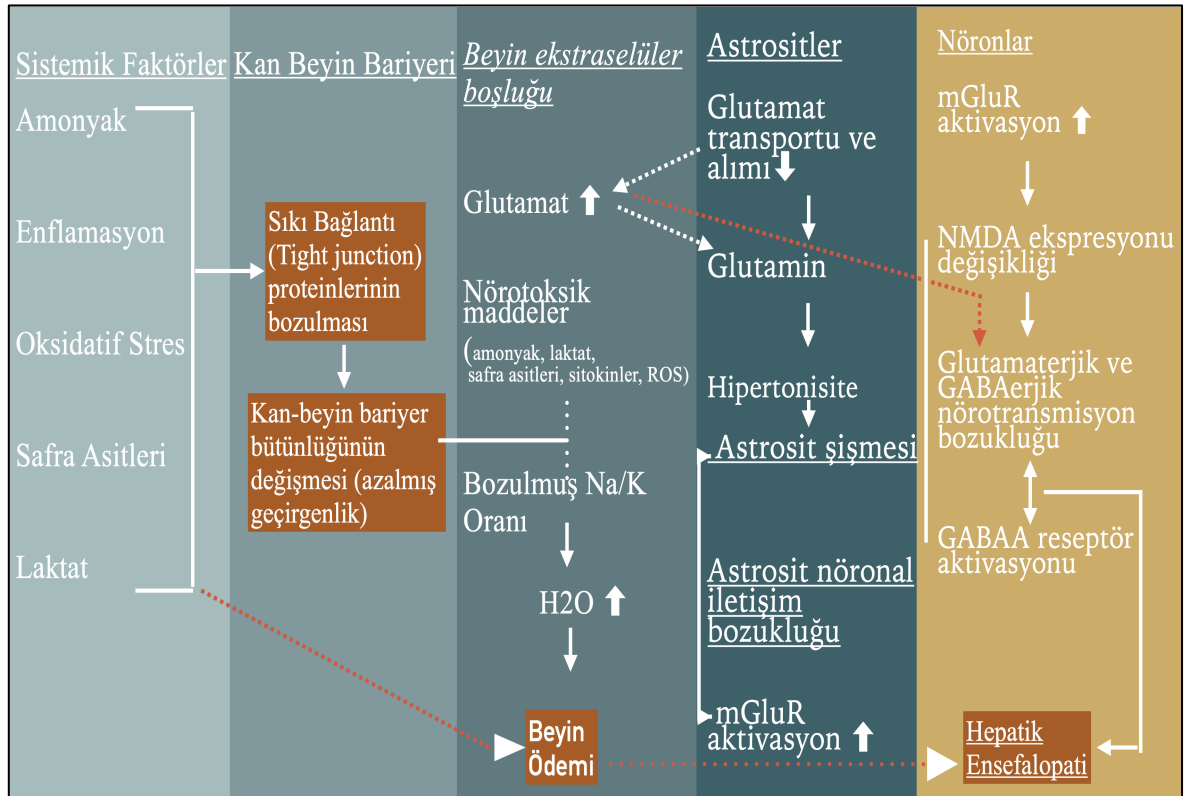
Artan amonyak miktarı, nöronal L-arginin alımını arttırarak, nNOS gen ekspresyonunun artışına neden olabilmektedir. Böylece nNOS, nitrik oksit sentezini arttırarak vazodilatasyona ve serebral perfüzyon değişikliklerine sebep olmaktadır (6). Portokaval anastomoz ile deneysel HE oluşturulan sıçanlarda, purkinje ve glial Bergmann hücrelerinde nNOS ve indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonlarının arttığı ortaya konmuştur (45).

- Nörotransmitter dengesinin bozulması

Yüksek amonyak düzeyleri, kan-beyin bariyerinde (KBB) L-aminoasit taşıyıcısının etkinliğini arttırarak nötral aminoasitlerin serebral emilimini arttırır. Böylece tirozin, triptofan ve fenil alanin gibi nötral aminoasitlerin beyindeki miktarı artar. Bu durum; dopamin, norepinefrin ve seratonin gibi nörotransmitterlerin sentezinde değişikliklere neden olabilmektedir (46). HE'li hastalarda beyin ödemi görülmektedir. Amonyak metabolizmasıyla astrositlerde görülen yüksek glutamin içeriği, hücre içindeki ozmolariteyi arttırarak beyin ödemeine sebep olduğu bilinmektedir (47, 48). Karaciğer yetmezliği sonucu artan kafa içi basıncı da beyin ödemeine sebep olan diğer bir etkidir. Amonyak, glutamat salınımını arttırıp glutamat klirensini azaltarak hücre dışı glutamat miktarının artışına neden olur. Aşırı uyarılan N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörleri, vazodilatasyona neden olan nNOS sentezini arttırır. Oluşan vazodilatasyon da beyin ödemeine neden olmaktadır (47, 48).

HE’de, beyindeki temel inhibitör nörotransmitter olan GABA miktarı artar. GABA-benzodiazepin reseptörlerindeki aktivite artışı, HE’li hastalarda sedatif etki gösterip, motor fonksiyonlarda ve bilişsel aktivitelerde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (48, 49).

Artmış amonyak ve manganez miktarlarının GABA aktivitesindeki artışa neden olduğu düşünülmektedir. GABA-benzodiazepin reseptörlerindeki yüksek aktivite, kolesterol emilimini arttırarak beyin nörosteroidlerinin sentezini arttırır. GABA-A reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörü olan nörosteroidlerin düzeyinin, nörolojik hasarın derecesi ile uyumlu olduğu görülmüştür (50, 51).



Şekil 2.7. Kronik karaciğer hastalığında HE patogenezi. (Ochoa Sanchez ve Rose, 2018'den değiştirilerek kullanılmıştır).

KBB bozukluğu, astrosit şişmesi ve beyin ödemi hepatik ensefalopatinin ana nedenleridir. Nörotoksik maddeler, astrositlerde zararlı etkiler oluşturarak glutamat ve glutamin metabolizmasını bozar ve astrosit şişmesine neden olarak beyin ödeme sebebiyet verir. Bu durum astrosit-nöronal iletişimi etkiler ve sonuçta HE'den sorumlu olan glutamaterjik ve GABAerjik nörotransmitterlerin ve bununla ilgili sistemlerin bozulmasına neden olur (Şekil 2.7).

HE’li hastalarda monoaminleri metabolize eden enzim olan monoamin oksidaz A (MAO-A)’nın nöronal izoformunun ekspresyonunun arttığı ve MAO-A enzim aktivitesindeki artışın, dopamin ve serotoninin metabolitlerinin artışı ile ortaya konduğu

görülmüştür. HE'li hastalarda parkinson benzeri bulguların sebebi bu olabilir. Yapılan bir çalışmada, D2 reseptörlerinin pallidum ve putamen beyin bölgelerinde düşük eksprese edilmesi bu hipotezi desteklemektedir (52).

Amonyak yüksekliği ve kolinerjik sistemdeki değişiklikler hakkında birçok şey bilinmemektedir. Sirozda asetilkolinesteraz enzim etkinliğinde bir artış söz konusudur. Bu durum asetilkolin seviyesinde azalmaya ve GABAerjik aktivitede artışa neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda asetilkolin uygulamasının nörotoksiteyi azalttığı ve hastalığın şiddetini hafiflettiğini ortaya koymuştur (53, 54).

Adenozin; GABA, glutamat, dopamin ve seratonin gibi nörotransmitterlerin postsinaptik etkilerini inhibe ederek nöromodülatör etkide bulunmaktadır. Azalan adenozin reseptör ekspresyonu, glutamaterjik aktiviteyi arttırarak hastalığa katkıda bulunabilmektedir (53).

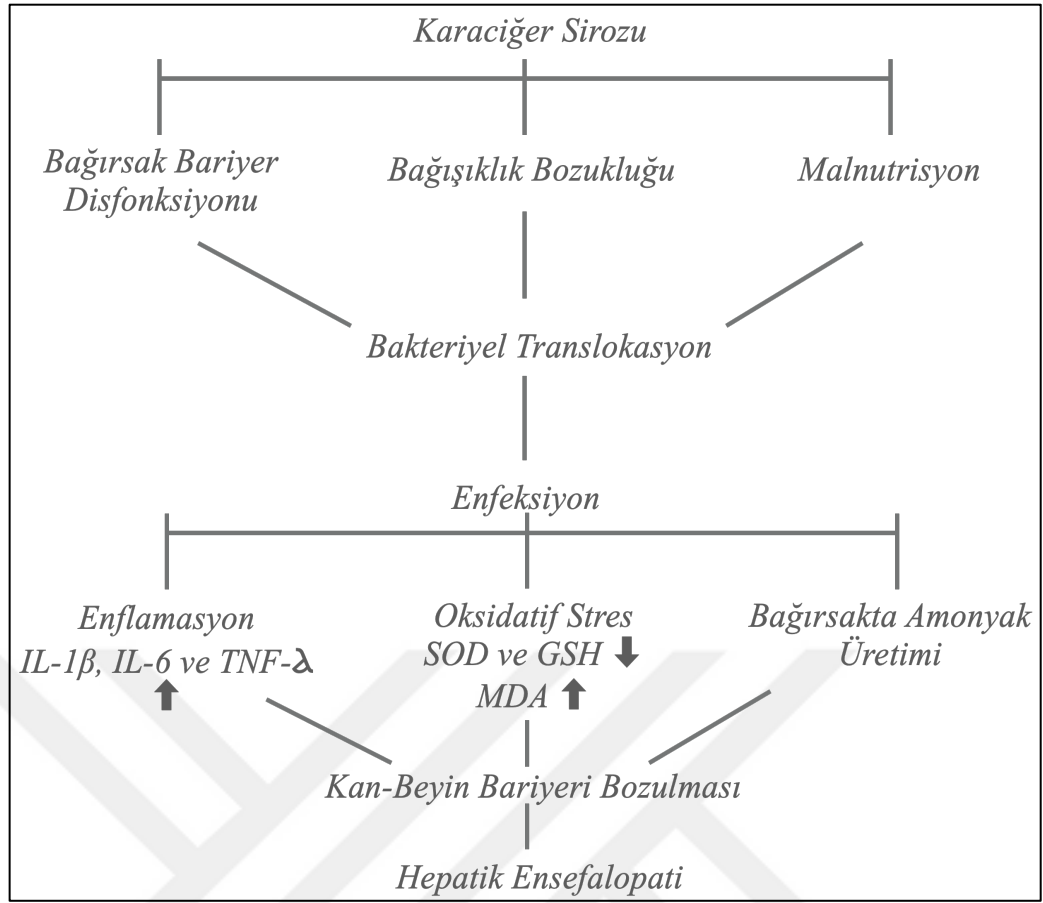
Tablo 2.5. HE'de nörotransmitter değişiklikleri.

Azalanlar (Nöronal eksitasyon)	Artanlar (Nöronal inhibisyon)
Katekolaminler Glutamat Aspartat Dopamin	GABA Seratonin Endojen benzodiazepinler

• İnflamasyon

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler mikrogliya aktivasyonuna neden olmaktadır. Mikroglial aktivasyon sonrası artan monositler, KBB'nin bozulmasıyla ve artan inflamasyonla nöronal hasara katkıda bulunur (55). Yapılan çalışmalarda, amonyak ve benzeri nörotoksik maddelerin, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu oluştuğunda HE'ye zemin hazırladığını ortaya koymuştur. Bu nedenle sepsisin, karaciğer fibrozisi sonrasında bozulan nitrojen metabolizması ile proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakıp HE'yi tetiklediği düşünülmektedir (56).

Karaciğer sirozu geliştikten sonra ortaya çıkan portal hipertansiyon, bağırsak bariyer bütünlüğünün bozulmasına sebep olmaktadır. Bu tabloya immun yetersizlik ve malnutrisyon da eklenince çeşitli enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Enfeksiyona cevap olarak oluşan inflamatuvar yanıt ve oksidatif stres elemanlarının KBB'yi geçmesi, HE'ye neden olabilmektedir (57).

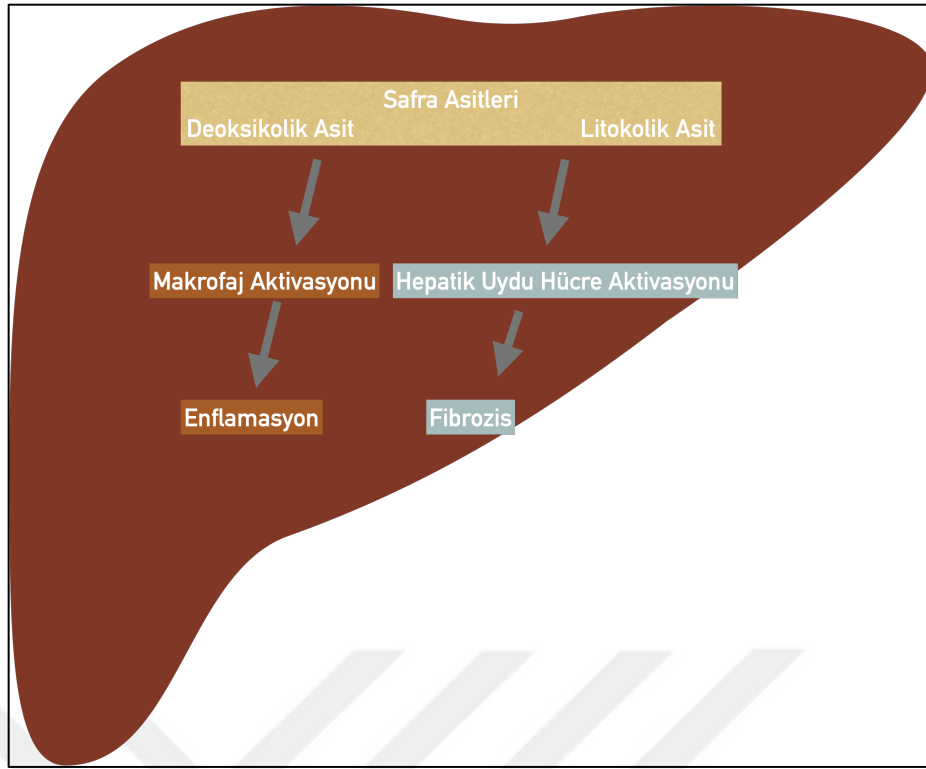


Şekil 2.8. Siroz sonrası gelişen enfeksiyonda HE gelişim mekanizması. (Wang ve ark., 2013'ten değiştirilerek kullanılmıştır).

- Safra Asitleri

SKB modelinde, dolaşımda artmış safra asitlerinin KBB'yi bozduğu görülmüştür. SKB modeli dışında; akut karaciğer yetmezliği, kronik karaciğer yetmezliği ve alkolik olmayan karaciğer yağlanması gibi durumlarda da safra asitlerinin plazmada ve beyin omurilik sıvısında arttığı gösterilmiştir (56, 57).

Yapılan bir çalışmada, litokolik asitin hepatik uydu hücrelerinin aktivasyonuna yol açarak fibrozise, deoksikolik asitin de makrofaj aktivasyonu ile inflamasyona neden olduğu ortaya konmuştur (58). Plazmada artan safra asit düzeyi ayrıca nöroinflamasyon ile ilişkilidir (59). Şekil 2.9'da gösterildiği gibi deoksikolik asit ve litokolik asit, makrofaj ve stellat hücre aktivasyonu ile inflamasyona ve fibrozise neden olmaktadır (58).



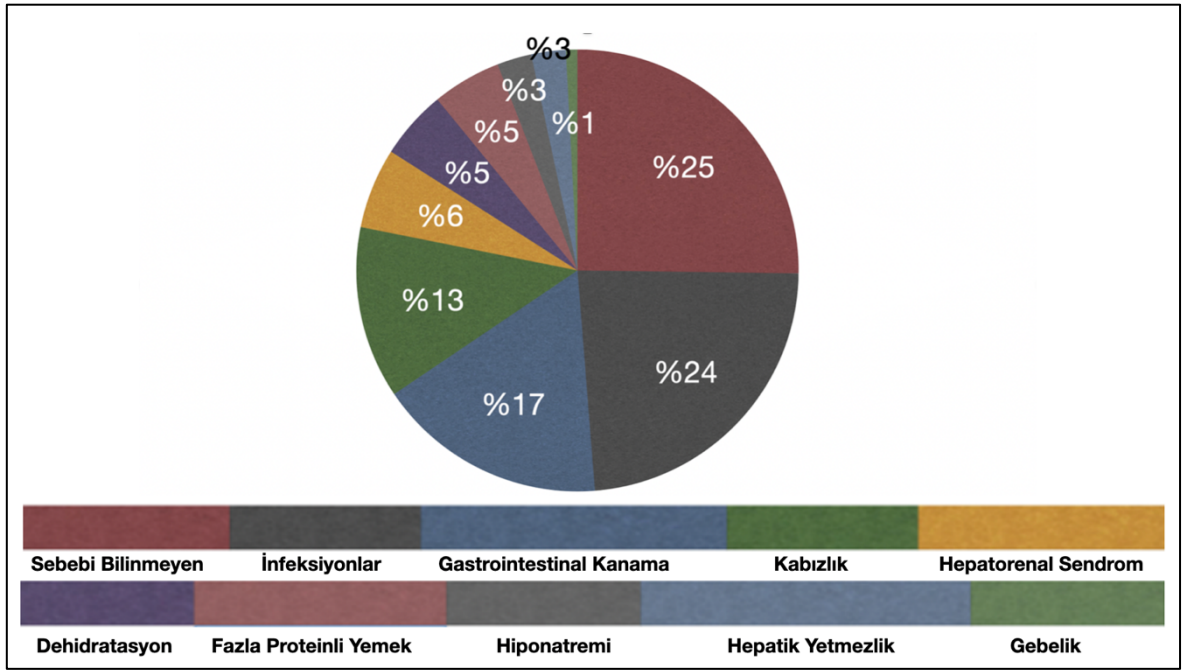
Şekil 2.9. Kolestaza bağlı artan safra asitlerinin neden olduğu inflamasyon ve karaciğer fibrozisi. (Holtmann ve ark., 2021’den değiştirilerek kullanılmıştır).

- Kan-Beyin Bariyeri Geçirgenlik Artışı

Karaciğer yetmezliği sonucu gelişen inflamasyon ve oksidatif hasar, KBB’nin geçirgenliğini bozarak santral sinir sistemine normalde geçmeyen nörotoksik maddelerin geçişine neden olmaktadır. Amonyak, serotonin, bradikinin, adenozin, pürin nükleotidleri, IL’ler, serbest radikaller, nitrik oksit ve steroid gibi bazı maddeler beyin endotel fonksiyonunu etkileyerek KBB bütünlüğünün bozulmasına neden olabilmektedir (60).

2.5.3. Hepatik ensefalopatide tetikleyici faktörler

Epizodik ensefalopatide bazı faktörler, ataklar şeklinde bir tablonun başlangıcına neden olmaktadır. HE’de sık karşılaşılan ve mortal seyreden duruma en çok gastrointestinal kanama, sepsis ve azotemi sebep olmaktadır. Ayrıca elektrolit denge bozukluğu, yüksek proteinli beslenme ve santral sinir sistemini etkileyen ilaçların kullanımı (sedasyon yapan ilaçlar vb.) da HE’yi tetikleyebilmektedir (61).



Şekil 2.10. Hepatik ensefalopatide tetikleyici faktörler. (Çadırcı ve Cerrah, 2019’dan değiştirilerek kullanılmıştır.

2.5.4. Hepatik ensefalopatide tedavi seçenekleri

HE’nin standart bir tedavisi bulunmamakta ve hastalığın şiddetine göre çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. HE, son dönem karaciğer yetmezliği olan sirozlu bireylerde önemli mortalite ve morbidite sebebidir. Sağlık sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturan HE’nin erken ve etkili tedavisi bu nedenle oldukça önemlidir (62). HE’nin patofizyolojisinde yüksek amonyak düzeyi ön planda olduğundan plazma amonyak düzeyini düşürmek tedavinin ana ilkelerinden birisidir. HE’nin altta yatan sebeplerini tespit etmek ve hastalığa bağlı gelişen komplikasyonlarla mücadele etmek zor olabilmektedir. Bu nedenle bireyselleştirilmiş tedavinin, daha iyi sonuçların elde edilmesinde etkili olabileceği belirtilmektedir (62). Sirozun kötü bir prognostik göstergesi olan HE’de her hasta, karaciğer nakli için bir adaydır (62).

Hiperamonyemide asıl amaç amonyak üretimini azaltıp, emilimini arttırmaktır. Yüksek proteinli diyet kısıtlaması, HE’li hasta yönetiminde eskiden beri uygulanmaktadır. Ancak son zamanlarda hastaların daha yüksek düzeyde protein ihtiyacı olduğu belirtilmekte ve karaciğer yetmezliği derecesine göre sınırlı protein kısıtlamasına gidilmektedir. Azot dengesi için dallı zincirli aminoasit içeren protein diyeti önerilse de klinikte olumlu sonuçları yeterli seviyede elde edilememiştir. Ancak, dallı zincirli aminoasit tedavisi alanlarda kas kitlesinin daha iyi korunduğu çalışmalarda ortaya konmuştur (63).

Emili düşük düzeyde olan disakkaridlerden laktuloz ve laktilol, vücutta müshil olarak etki eder. Bunu hiperozmolar bir ortam oluşturmak suretiyle, kolonun amonyağı etkili bir şekilde absorpsiyonunu engelleyerek yapar. HE'nin akut tedavisinde laktuloz kullanımı pek tercih edilmese de yapılan bir meta-analizde, emilmeyen disakkaridlerin HE'nin önlenmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur (64). Bu disakkarilerin kullanımının karaciğer yetmezliği, hepatorenal sendrom ve varis kanamalarında da faydalı olduğu gösterilmiştir (65). Laktuloz ve laktilol kolona ulaştıklarında organik asitlere parçalanır ve asidik ortamda üreyen bakterilerin azalmasını sağlar. Artan ozmolalite ile bağırsak geçişi hızlanır ve fekal nitrojenin müshil etkisi ile atılması sağlanır (64). Laktilolun tadı daha güzel olduğundan daha iyi tolere edilmektedir (37).

Antibiyotikler, bağırsak florasını düzenleyerek amonyak oluşumunu azaltan ve HE'de etkin bir tedavi olarak kabul edilen ilaçlardır. Neomisin, aminoglikozit üyesi bir antibiyotik olup, glutaminazı inhibe ederek amonyak miktarını azaltmaya çalışır. HE'de antibiyotik kullanımı ilk olarak neomisin ile ön plana çıkmıştır. Ancak şu anda klinik kullanımı yoktur (62, 66). Rifaksimin etkinliğinin neomisine benzer şekilde olduğu yapılan meta-analizlerde ortaya konmuştur. Uzun dönem etkileri içerisinde toksisite bulguları saptanmayan bu ilacın kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır (66). Çalışmalarda, rifaksimin ve laktulozun birlikte kullanımının tek başına rifaksimin kullanımından daha başarılı olduğu gösterilmiştir (62).

Probiyotikler, gastrointestinal sistemde konakçıya fayda sağlayan ve bağışıklık sistemine olumlu etkileri olduğu düşünülen canlı organizmalar olarak bilinirler. Probiyotikler, inflamasyonu azaltarak mikrobiyotanın yenilenmesini sağlar ve bağırsak bariyer bütünlüğünü koruyarak bakteriyel translokasyonu engeller. Probiyotiklerin mortalite üzerindeki etkisi yeterli olmasa da plazma amonyak düzeylerini azalttığı ve HE'de etkin bir rolü olduğu ortaya konmuştur (62).

Albumin, karaciğerde sentezlenen bir proteindir. Karaciğer sirozunda albümin eksikliğine bağlı olarak sistemik ödem gelişebilmektedir. Siroza bağlı hepatorenal sendrom ve spontan bakteriyel peritonit gelişen hastalarda intravenöz albümin infüzyonu yaygın şekilde kullanılmaktadır (67). Albuminin damar içi volüm miktarını arttırması, antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri, tedavinin bir parçası olmasında önemlidir. Laktulozun tek başına veya laktuloz-albümin kombine kullanımını karşılaştıran bir çalışmada, kombine kullanımının HE'yi tersine çevirmede daha başarılı olduğu ortaya konmuştur (67).

L-Ornitin L-Aspartat (LOLA), üre ve glutaminin metabolik döngülerinde substrat sağlayıcı olarak etki eder ve bu şekilde kan amonyak üretimini azaltır. Böylece amonyak, üre ve glutamine çevrilir. LOLA ayrıca çizgili kaslarda glutamin sentezini arttırarak hiperamonyemiye bağlı gelişen kas yıkımını engeller (68). Evre 1 ve evre 2 akut HE'li hastalarda yapılan bir çalışmada, standart laktuloz tedavisine ek olarak IV 30g/gün LOLA verilen hastaların ilk 4 gündeki bilişsel fonksiyonlarında olumlu anlamda anlamlı fark olduğu, 5. günden sonra ise iki tedavi grubunda, bilişsel fonksiyonlar açısından anlamlı fark bulunmadığı gösterilmiştir (68).

Sirozlu hastalarda valin, lösin ve izölösün gibi dallı zincirli aminoasitler eksiktir. İskelet kasları bu aminoasitleri glutamin sentezi için kullanır ve böylece amonyağın detoksifikasyonuna yardımcı olur. Bu amaçla hastalara dallı zincirli aminoasit takviyesi uygun görülmektedir (69).

Antioksidanlar ise karaciğerdeki herhangi bir hasara bağlı olarak gelişen oksidatif stresi azaltır ve karaciğer dokusunda rejenerasyonu sağlar. Örneğin birçok biyolojik aktiviteye sahip morin adlı bitkisel ürün, antioksidan etkinliği ile HE'de faydalı olmuştur (70). Yine bir çalışmada bitkisel ürün olarak kullanılan *Rheum undulatum* ve *Glycyrrhiza uralensis*'in bitkisel ekstraksiyonlarının antioksidan etki ile HE'de terapötik etkinlikleri ortaya konmuştur (71).

HE'de artan GABAerjik aktivite ile ortaya çıkan nöroinhibisyon önemli bir sorundur. Bu nedenle benzodiazepin reseptör antagonisti olan flumazenil HE'de kullanılmaktadır (72, 73).

Hem glutamin sentezinde hem üre döngüsünde çinko önemli bir moleküldür. Yapılan meta-analizlerde, çinkonun HE nüksünü azalttığı ispat edilemese de çinko eksikliği olan hastalarda çinko takviyesi önerilmektedir (74).

Fekal mikrobiyata nakli diğer bir tedavi seçeneği olarak uygulanmıştır. Sirozlu hastalarda, lachnospiraceae ve ruminococcaceae gibi potansiyel faydalı bakterileri içeren floranın azaldığı, enterobacteriaceae ve streptococcaceae gibi patojenik bakterileri içeren floranın ise arttığı ortaya konmuştur. Buna yönelik yapılan araştırmalarda, fekal mikrobiyata naklinin daha az karaciğerle ilgili hastaneye yatışa ve daha az bilişsel işlev bozukluğuna neden olduğu belirtilmiştir. Günümüzde HE tedavisindeki faydalarına dair daha fazla kanıt ve çalışmaya ihtiyaç vardır (75).

GABA_A reseptörünü modüle eden steroid antagonistleri de HE tedavisinde denenmektedir. Sirozlu ve HE'li hastaların beyinlerinde, ana nöroinhibitör nörotransmitter

olan GABA'nın aktivitesini arttıran nörosteroid içeriğinin arttığı ortaya konmuştur (76). Hayvan çalışmalarında da benzer bir şekilde HE'li farelerin beyinlerinde artmış GABAerjik aktivite saptanmıştır. Ancak şu anda GABA_A reseptörü modüle edici steroid antagonistlerinin kullanımı klinik değerlendirme aşamasındadır (77).

Aktif karbon, mide ve bağırsakta adezyon kuvveti oluşturarak etki eder ve karaciğer sirozu olan sıçanlarda kan amonyak seviyesini düşürür. Yapılan bir çalışmada, plazma amonyak düzeylerinin aktif karbon ile tedavi edilen safra kanalı bağlanmış sıçanlarda doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (78).

Ornitin Fenilasetat (OPA), glutamin sentetazı uyararak amonyağın glutamine dönüşümünü arttırır. Glutamin, daha sonra fenilasetat ile birleşerek fenilasetilglutamine dönüşür ve idrarla atılır. OPA'nın doza bağlı bir şekilde amonyak düşürme potansiyeline sahip olduğu çalışmalarda ortaya konmuştur. Ancak klinik veriler oldukça sınırlıdır ve tatmin edici klinik kanıtlar bulunmamaktadır (79).

Fenilbütirat, fenilasetatın bir ön ilacıdır. İdrarda fenilasetilglutamin şeklinde amonyak atılımını arttırdığı bilinmektedir. Yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) HE hastalarında yapılan bir araştırmada, fenilbütiratın amonyak düzeylerini düşürebileceği, nörolojik durum ve YBÜ'de taburculuk ile sağ kalımı arttırıcı etkilerinin olabileceği ortaya konmuştur (80).

2.6. BİTKİSEL TEDAVİ

2.6.1. Bitkisel tedavi

Kronik karaciğer hastalıkları ve sonrasında gelişen karaciğer sirozu dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur. Karaciğer sirozu dünya genelinde önemli bir mortalite nedenidir. Kronik karaciğer hastalığına neden olan hepatit B ve hepatic C'nin tedavisinde başarılı olunmakla birlikte metabolik, toksik ve genetik nedenli karaciğer hastalıklarının tedavilerinde aynı düzeyde başarı sağlanamayabilmektedir (81). Karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomun günümüzde küratif bir tedavisi yoktur. Sistemik toksisite nedeniyle ilaçların uzun süreli kullanımları da kısıtlanmaktadır. Bu nedenle tedavide bitkisel ürünlerin tedaviye olan katkıları incelenmektedir (81). Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bazı araştırmalarda, bitkisel ürünlerin kullanımında son zamanlarda önemli bir artış olduğu ve karaciğer hastalıklarında bu oranın %65'e kadar çıktığı ortaya konmuştur. Bitkisel ürünlerin kullanımının artışında bu ürünlerin "doğal" olduğu, bu nedenle zararsız ve toksik olmadığı kabulü yer almaktadır (82).

Deneyisel hayvan modellerinde hepatoprotektif etkinliği ortaya konan birçok bitkisel ürün ekstraktı, insanlarda klinik araştırmalar için aday ürün haline dönüşebilir. Ancak şıfalı bitkilerin kanıta dayalı tıbbın gerekliliği olan klinik araştırmalardaki başarısı beklenen düzeyde olmamaktadır (83).

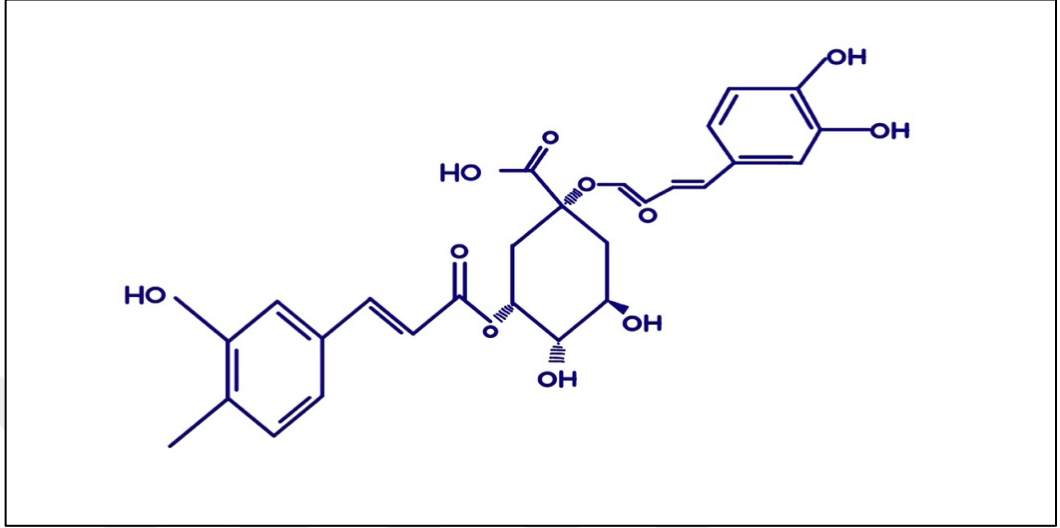
Bitkisel ürünlerdeki etken madde, aktif molekül izole edilerek deneyisel hastalık modellerinde kullanılmalı ve karaciğer üzerindeki olumlu etkileri ortaya konduktan sonra klinik çalışmalar için randomize ve plasebo kontrollü çalışmalar ile test edilmelidir. Çoğu bitkisel ürünün yaprakları, çiçekleri ve diğer toprak üstü kısımları birçok hastalığın tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır. Bu ürünlerin farklı terapötik etkinlikleri, içeriğindeki çeşitli biyoaktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır (84). Bu bitkisel ürünlerde olduğu gibi enginarın da değişken tedavi edici farmakolojik etkileri, çeşitli biyoaktif bileşenlerinden kaynaklanmaktadır (84, 85).

2.6.2. Enginar

Latince *Cynara scolymus*, İngilizce Artichoke diye adlandırılan enginar, orijinal hali ile Arapça yer dikenini anlamına gelen Ardi shauki olarak bilinmektedir. Enginar, Compositae (Asteraceae=Bileşik çiçekliler) ailesinin bir üyesidir (86). Enginar, tarihi geçmişinde eski Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından gıda kullanımının yanında ilaç olarak da kullanılmıştır. Enginar, özellikle Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştirilip tüketilmektedir. Örneğin Antakya’da milattan sonra üçüncü yüzyıla ait olduğu öne sürülen bir evin mozaiklerinde enginarın olduğu görölmüştür (87). Anavatanı Akdeniz havzası ve Kıbrıs Adası olarak bilinmektedir. Enginarın taze yaprak sapları, olgunlaşmamış çiçekleri ve çiçek tablası (reseptakulum) sebze olarak sofralarda tüketilmektedir. Türkiye’de enginar üretimi, Ege ve Marmara bölgesinde yoğunluk kazansa da son zamanlarda üretim Akdeniz bölgesine kaymaktadır. Marmara bölgesinde Bayrampaşa enginarı, Ege bölgesinde Urla sakız enginarı olarak bilinmektedir. Sakız enginarının hasatı kasım ayından başlar ve mayıs ayına kadar devam etmektedir. Taze tüketime uygun olan sakız enginarının brakte yaprakları ve çiçek tablası yenilebilmektedir. Yarımada bölgesi olan Urla, Çeşme ve Karaburun bölgelerinde sakız enginarı üretimi oldukça uygundur. Çünkü bu bölgeler eylöl ve mayıs aylarında ılık ve nemli deniz iklimi ortamı içerisinde dirler (88).

Enginarda bulunan en önemli aktif bileşen sinarin ve inulindir. Kafeoilkinik asitler, polifenoller, seskiperten laktonlar ve flavonoidler de enginarda bulunan başlıca aktif maddelerdir. Dikafeoilkinik asit türevi olan sinarin, enginarın yaprak ve reseptakulum kısımlarında bolca ihtiva edilmektedir (89). Sinarin; hepatoprotektif, antidiyabetik,

antikarsinojenik, antioksidatif, anti-HIV, antiaterosklerotik, kolesterol düşürücü ve immun sistem düzenleyicisi olarak etkileri bulunmaktadır (90). İn vitro bir çalışmada izole edilmiş sıçan hepatositlerinde, CCl₄ kaynaklı hepatotoksisitede en güçlü sitoprotektif bileşenin sinarin olduğu ortaya konmuştur (91).



Şekil 2.11. Sinarin kimyasal yapısı. (Rezazadeh ve Ebrahimi-Mameghani, 2020'den değiştirilerek kullanılmıştır).



Şekil 2.12. Enginar bitkisi taban yaprağı (kırmızı oklar) ve reseptakulum kısımları (sarı oklar)



Şekil 2.13. Enginar bitkisi reseptakulum (çiçek tablası) kısmı

Tablo 2.6. Enginarın yenilebilir 100 gramı için bileşen değerleri (T.C. gıda tarım ve hayvancılık bakanlığı ulusal gıda kompozisyon veri tabanı).

Bileşen	Birim	Ortalama
Enerji	kcal	32
Enerji	kJ	132
Su	g	89,22
Kül	g	0,77
Protein	g	2,46
Azot	g	0,39
Yağ, toplam	g	0,20
Karbonhidrat	g	2,62
Lif, toplam diyet	g	4,74
Lif, suda çözünür	g	0,24
Lif, suda çözünmeyen	g	4,50
Sakaroz	g	0,00
Glukoz	g	1,00
Fruktoz	g	1,72
Laktoz	g	0,00
Maltoz	g	0,00
Tuz	mg	164
Demir, Fe	mg	0,88
Fosfor, P	mg	51
Kalsiyum, Ca	mg	99
Magnezyum, Mg	mg	55

Tablo 2.6 (devam). Enginarın yenilebilir 100 gramı için bileşen değerleri (T.C. gıda tarım ve hayvancılık bakanlığı ulusal gıda kompozisyon veri tabanı).

Bileşen	Birim	Ortalama
Potasyum, K	mg	425
Sodyum, Na	mg	65
Çinko, Zn	mg	0,53
C vitamini	mg	9,6
L-askorbik asit	mg	9,6
Tiamin	mg	0,042
Riboflavin	mg	0,040
Niasin	mg	0,866
B-6 vitamini, toplam	mg	0,078
A vitamini	RE	4
Beta-karoten	µg	53
Likopen	µg	0
Lutein	µg	73
K-1 vitamini	µg	0,8

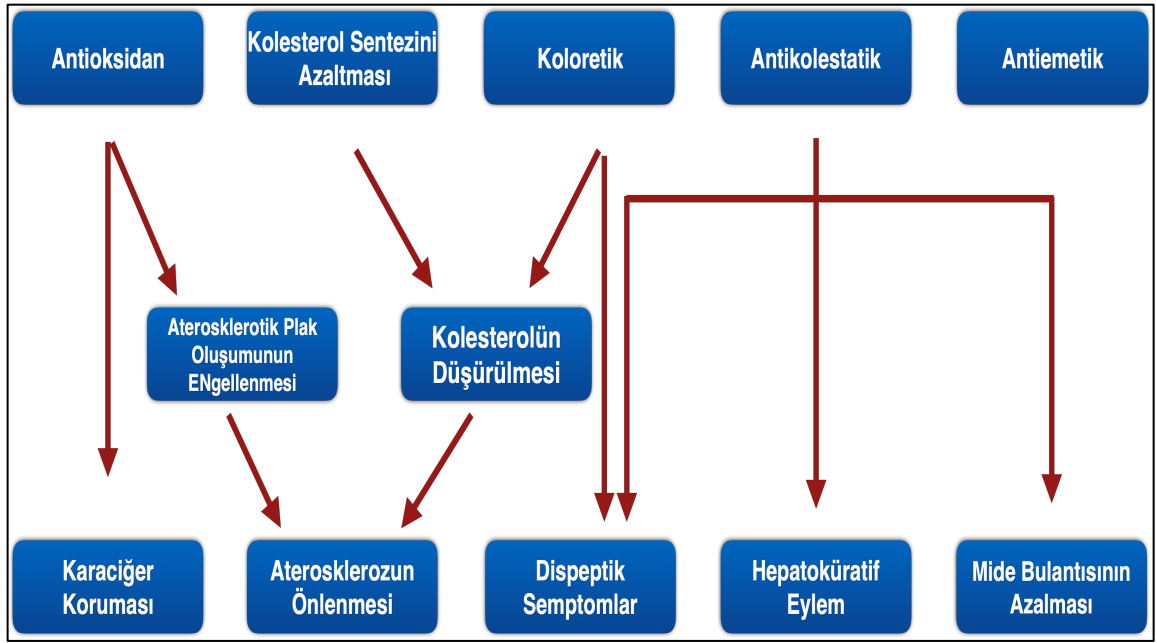
Enginarın antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri ön plandadır. Yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında enginarın hem reseptakulum (çiçek tablası) hem yaprak kısımlarının bu aktiviteleri gösterdiği ortaya konmuştur. Çalışmalarda, enginarın hepatoprotektif etkilerinin yanında karaciğer hücrelerinin rejenerasyonunda da etkili olabileceği gösterilmiştir (9, 10). Enginarın reseptakulum ve yaprak kısımlarının besleyici ve tıbbi etkisi, yüksek oranda içerdiği polifenolik bileşiklere (inulin ve sinarin) bağlıdır (92). Enginarın antikolestaz etkisi de bulunmaktadır. Şıçan hepatositlerinde yapılan in vitro bir çalışmada, taurolitokolat kaynaklı kolestaz hasarının enginar ile geriye çevrildiği ortaya konmuştur (11).

Enginarın karaciğer fibrozisi üzerindeki olumlu etkileri, in vivo ve in vitro çalışmalarda ortaya konmaya çalışılmıştır. Örneğin bir çalışmada, enginar yaprağı ekstesinin 3T3-L1 öncü adiposit hücrelerinde yağ sentezini uyardığı ve karaciğer hücrelerinde hepatik glikoz çıkışını azaltarak hepatoprotektif özellik gösterdiği ortaya konmuştur (93). Başka bir çalışmada, enginar ekstraksiyonunun sıçan hepatositleri ve insan hepatoma hücresi olan HepG2 hücre kültürlerinde glutatyon seviyesindeki azalmayı engellediği ve böylece HepG2 hücrelerinde antioksidan etki ile apoptozisi uyardığı gösterilmiştir (94). Sıçan hepatosit kültürlerinde tert bütıl hidroperoksit kaynaklı oksidatif hasara bağlı bir çalışmada, enginar yaprak ekstresinin antioksidan etki ile hidroperoksit kaynaklı malondialdehid üretimini azaltarak karaciğer hücrelerinde koruyucu özellikte olduğu gösterilmiştir (95). Bununla birlikte enginarın hepatoprotektif etkileri, in vivo çalışmalarda da ortaya konmaya çalışılmıştır. Yüksek yağlı diyet ile tetiklenen karaciğer

hasarı oluşturulan bir hayvan çalışmasında, enginar yaprağının sıçanlarda serum lipid profil düzeylerini azalttığı ve karaciğer fonksiyon bozukluklarını azalttığı gösterilmiştir (96). Yine bir hayvan çalışmasında, *Amanita phalloides* mantarının hepatotoksik etkileri incelenmiş ve enginar ekstraktı takviyesinin artan malondialdehit düzeyini düşürüp; SOD, CAT ve GPX gibi antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı tespit edilmiştir (97).

Karaciğer fibrozisi için farklı hayvan modelleri kullanılmıştır. Ancak literatürde SKB modeli ile enginarın hepatoprotektif etkisinin araştırıldığı sadece üç çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde histolojik inceleme ile birlikte biyokimyasal analizde sadece ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat Aminotransferaz) ve total bilirubin düzeyleri bakılarak enginarın antifibrotik etkinliği kanıtlanmaya çalışılmıştır (98). Diğer çalışmada enginar taban yaprak içeriği “super artichoke” adı altında piyasadan temin edilen kapsül şeklinde olan üründen temin edilmiştir ve antioksidan parametreler (SOD, CAT ve GPX), albümin ve fibrinojen protein ekspresyonları bakılarak enginarın antioksidan ve antifibrotik etkinlikleri ortaya konmuştur (99). Bir çalışmada ise sıçanlarda SKB uygulaması sonrası ALT, AST, total bilirubin, alkalen fosfataz ve karaciğer dokusu histolojik bulguları incelenmiş, enginarın antioksidan ve antiinflamatuvar (TNF- α) mekanizma üzerinden etkili olduğu gösterilmiştir (100).

Karbon tetraklorür toksisitesi ile karaciğer hasarının oluşturulduğu bir çalışmada, enginarın reseptakulum, yaprak ve diğer bölümlerinin karaciğer üzerindeki olumlu etkilerine bakılmış ve reseptakulum kısmının, yükselen serum ALT ve AST seviyelerini daha çok düşürdüğü gösterilmiştir (101). Parasetamol kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarının olduğu bir araştırmada, enginar gövde ve sap ekstraktlarının yaprak ekstraktlarına kıyasla hem histopatolojik hem biyokimyasal parametrelerde daha yüksek oranda olumlu etkilere sahip olduğu ortaya konmuştur (102). Başka bir çalışmada ise enginar yaprağı ve reseptakulum kısmının fenolik içeriği ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine bakılmış ve enginar yaprağının toplam fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (74). Yine benzer bir çalışmada, enginar yaprak kısımlarının fenolik ve flavonoid içeriği daha yüksek bulunsada antikanser ve antioksidan aktivitelerinin yakın olduğu ortaya konmuştur (103).



Şekil 2.14. Enginar yaprağının etki mekanizması gösterilmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

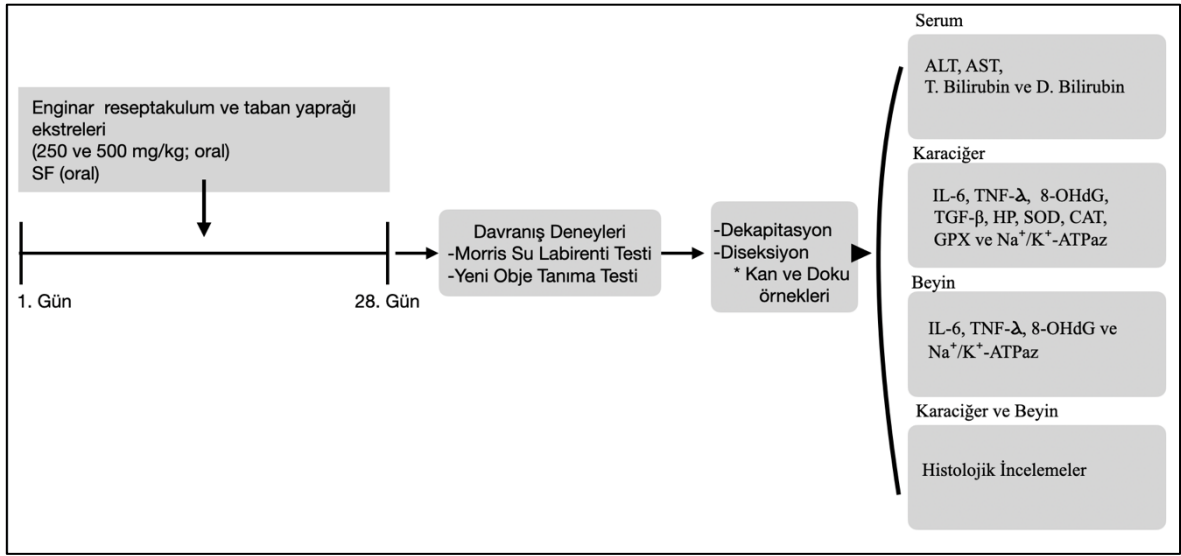
3.1. GRUPLAR VE DENEY PROTOKOLÜ

Çalışmamızda Wistar Albino sıçanlar, randomize olarak altı gruba ayrılmıştır. Kontrol ve SKB grubuna oral serum fizyolojik (SF), 4 ayrı SKB grubuna oral iki farklı dozda enginar taban yaprağı ekstresi (250 ve 500 mg/kg) ve enginar reseptakulum ekstresi (250 ve 500 mg/kg) 28 gün boyunca oral gavajla verilmiştir. Yapılan bir hayvan çalışmasında, enginar yaprağı ekstraktının 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarında safra akışını arttırdığı ve bu etkinin en fazla 200 ve 400 mg/kg dozlarda olduğu gösterilmiştir (104). Diyabetik sıçanlarda antioksidan aktivitenin değerlendirildiği bir çalışmada, 200 ve 400 mg/kg dozlarda antioksidan aktivitenin arttığı gösterilmiştir (105). Parasetamolün indüklediği karaciğer toksisite çalışmasında; enginarın reseptakulum, yaprak ve diğer kısımlarının olası hepatoprotektif etkileri incelenmiş ve günlük 500 mg/kg dozda terapötik etkinliği ortaya konmuştur (102). Biz de çalışmamızdaki ekstrap uygulamasını bu çalışmalarda etkili bulunan miktara göre belirleyip iki farklı doz belirledik. Uygulama öncesinde SF ve enginar ekstrelerinin verilecek miktarları hesaplanıp, oda sıcaklığına getirilmiştir. Oral gavaj uygulaması her gün aynı saatte aynı kişi tarafından yapılmıştır. 28. gün sonunda hayvanlarda bilişsel aktivite değerlendirmesi için Morris su labirenti testi ve yeni obje tanıma testi yapılmış ve ardından hayvanlar kurban edilerek kan ve doku örnekleri alınmıştır. Biyokimyasal parametrelerin ölçümleri için ELISA kullanılmıştır. Karaciğer ve beyin dokularında ise histolojik incelemeler yapılmıştır.

Gruplar:

1. Grup (n=11): Kontrol grubu (Taklit operasyonu yapılan sıçanlara 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml serum fizyolojik verilmiştir)
2. Grup (n=11): SF verilen SKB grubu (Safra kanalı bağlanan sıçanlara 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml SF verilmiştir)
3. Grup (n=11): Düşük doz yaprak (DdY) ekstresi uygulanan SKB grubu (Safra kanalı bağlanan sıçanlara 250 mg/kg dozunda enginar yaprağı ekstresi 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml olarak verilmiştir)

4. Grup (n=11): Yüksek doz yaprak (YdY) ekstresi uygulanan SKB grubu (Safra kanalı bağlanan sıçanlara 500 mg/kg dozunda enginar yaprağı ekstresi 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml olarak verilmiştir)
5. Grup (n=11): Düşük doz reseptakulum (DdR) ekstresi uygulanan SKB grubu (Safra kanalı bağlanan sıçanlara 250 mg/kg dozunda enginar reseptakulum ekstresi 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml olarak verilmiştir)
6. Grup (n=11): Yüksek doz reseptakulum (YdR) ekstresi uygulanan SKB grubu (Safra kanalı bağlanan sıçanlara 500 mg/kg dozunda enginar reseptakulum ekstresi 28 gün boyunca oral yoldan 1 ml olarak verilmiştir)



Şekil 3.1. Deneylerin akış şeması.

3.2. HAYVANLAR

Çalışmamız İstanbul Medeniyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 18.01.2023 tarihli toplantısında 2023/1-1 karar no'lu onayı ile (Ek-1) İstanbul Medeniyet Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Laboratuvarında (DEHAL) yapılmıştır. Deney hayvanları İstanbul Medeniyet Üniversitesi DEHAL'dan temin edilmiştir. 250-400 gram ağırlığında erkek Wistar Albino sıçanlar, her kafeste 2 veya 3 sıçan olacak şekilde barındırılmıştır. Deney ortamı 22 ± 2 °C sıcaklıkta, 50 ± 5 % nemde ve 12 saat gece 12 saat gündüz olacak şekilde tutulmuştur. Deney hayvanlarının su ve standart pellet yemine erişimi serbest bırakılmıştır.

3.3. BİTKİ MATERYALİ

Enginar taban yaprağı ile reseptakulum kısımları İzmir'in Urla ilçesinden 20.05.2022 tarihinde toplanmıştır. Bitki, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmasötik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. İsmail Şenkardeş tarafından teşhis edilmiş olup bitkinin kurutulmuş birkaç örneği Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda 22688 MARE numarası ile kayıt altına alınmıştır.

3.4. EKSTRAKSİYON

Bitkinin kurutulan taban yaprakları ve reseptakulumu ayrı ayrı toz edilerek (940,9 g ve 660,33 g) %80 etanol ile maserasyona bırakılmıştır. Her gün süzülme koşuluyla 3 gün boyunca maserasyona tabi tutulmuştur. Ardından süzülen örneklerin %80 etanol çözeltisi rotary evaporatörde 40 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta kuruluğa kadar uçurulmuştur. Ekstrelerin verimleri reseptakulum için %27,1 taban yaprağı içinse %32,66 olarak hesaplanmış olup ekstreler analizlere kadar + 4 °C'de tutulmuştur. Düşük doz 250 mg/kg, yüksek doz 500 mg/kg uygulanmasına karar verilen ekstreler, tek tek tartılan erkek Wistar Albino sıçanlara ağırlıklarıyla orantılı şekilde verilmiştir. Örneğin tartımda 250 g gelen sıçana düşük doz olarak 1 mL distile suda 62,5 mg; yüksek doz olarak 1 mL distile suda 125 mg olacak şekilde oral yoldan verilmiştir.

3.5. *IN VITRO* ÇALIŞMALAR

3.5.1. Antioksidan aktivite yöntemi

- DPPH radikalini süpürücü aktivite tayini

Ekstrelerin antioksidan aktivitelerine Zou ve arkadaşlarının metoduna göre bakılmıştır (106). Özetle, ekstrelerden 5 mg/mL konsantrasyonda dimetil sülfoksitte hazırlanan stok çözelti dilüe edilerek çeşitli konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir konsantrasyondaki çözeltinin 10 µL'si mikroyukarıya kuyucuklarına aktarılmıştır. Üzerlerine 190 µL 0,1 mM'lık 1,1- 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) çözeltisi ilave edilmiştir. Karışımlar 30 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra absorbansları 517 nm'de kör olarak kullanılacak dimetil sülfoksit karşı ölçülmüştür. Standart olarak askorbik asit (0,25- 0,016 µg/mL) çözeltisi kullanılmıştır. Ekstrelerin, serbest radikali süpürme yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

DPPH radikali süpürme yüzdesi (%): $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$

A kontrol: DPPH çözeltisi ve metanol içermektedir.

A örnek: DPPH çözeltisi ve örnek solüsyonlarını içermektedir.

DPPH radikalinin %50'sini ortadan kaldıran ekstrelerin inhibisyon konsantrasyonları (İK₅₀) Graphpad Prism5 programı aracılığıyla ekstrelerin

konsantrasyonlarına bağılı inhibisyon grafiğı çizilerek hesaplanmıştır. Ölçümler üç defa tekrarlanmıştır (106).

- ABTS^{•+} radikal katyonunu süpürücü aktivite tayini

Ekstrelerin total antioksidan kapasite tayininde kullanılan ABTS^{•+} radikal katyonunun üretimi için, 7 mM 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diammonyum tuzu (ABTS), 2,45 mM potasyum persülfat ile karıştırılmış ve reaksiyonun oda sıcaklığında (23 °C), 16 saat boyunca karanlıkta tamamlanması beklenmiştir. ABTS^{•+} çözeltisi analitik saflıkta %96'lık etanol çözücüsüyle 734 nm'de $0,700 \pm 0,050$ absorbans değeri için dilüe edilmiştir. Ekstrelerden 5 mg/mL konsantrasyonda dimetil sülfoksitte hazırlanan stok çözelti, dilüe edilerek çeşitli konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir konsantrasyondaki çözeltinin 10 µL'si mikropilaka kuyucuklarına aktarılmıştır. Üzerlerine 190 µL ABTS^{•+} solüsyonu eklenmiştir. Çözelti, 30 dakika oda sıcaklığında tutulduktan hemen sonra 734 nm'de ölçülmüştür. Standart olarak troloks kullanılmış ve sonuçlar İK₅₀ değeri olarak ifade edilmiştir (106).

3.5.2. Toplam sekonder metabolit miktar tayini yöntemi

- Toplam fenolik bileşik miktar tayini

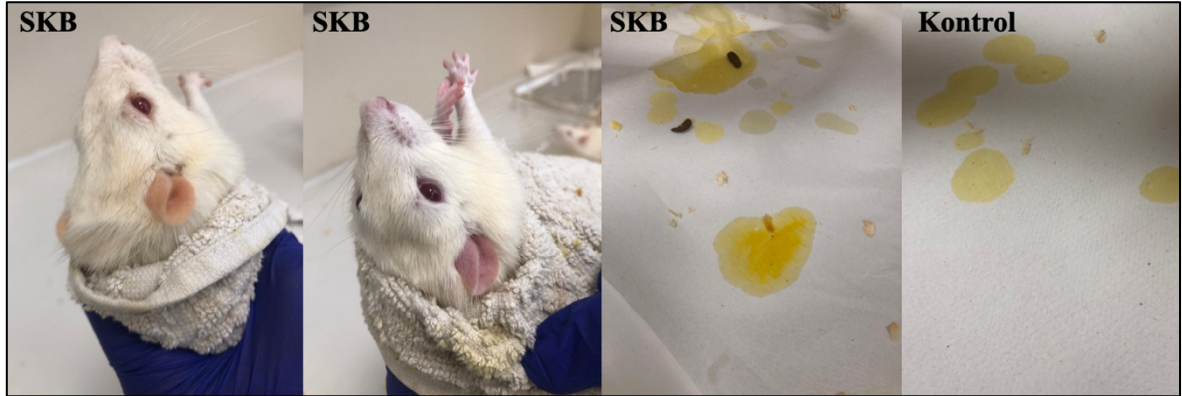
Ekstrelerin toplam fenol içeriğı, Folin-Ciocalteu solüsyonu kullanılarak Gao ve ark.ları tarafından önerilen metoda göre mikropilaga uyarlanarak yapılmıştır (107, 108). Ekstrelerden 5 mg/mL konsantrasyonda dimetil sülfoksitte hazırlanan stok çözelti, dilüe edilerek çeşitli konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Çeşitli konsantrasyondaki çözeltilerden 10 µL mikropilakalara alınmış ve ardından sırasıyla 20 µL Folin-Ciocalteu solüsyonu, 200 µL ultra saf su ve 100 µL %15'lik Na₂SO₄ ilave edilmiştir. Çözeltiler 765 nm absorbansta diğer bileşenler sabit kalmak şartıyla, sadece ekstrenin yerine aynı miktarda dimetil sülfoksit (DMSO) konularak oluşturulan köre karşı okunmuştur. Standart eğri grafiğı için, gallik asit kullanılarak (500-0,977 µg/mL) her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanslar ölçülmüştür. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri, bu grafikten hesaplanarak sonuçlar mg GAE/g bitki ekstresi olarak ifade edilmiştir. Ekstrelerin ölçümleri üç defa, standart eğri ölçümleri ise beş defa tekrarlanmıştır (107, 108).

3.6. SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ

SKB yöntemi için sıçanlar 100 mg/kg dozda ketamin ve 10 mg/kg dozda ksilazin ile genel anestezi altına alınmıştır. Sonrasında karın bölgesindeki tüyler traş edilerek povidon iyot ile kesi yapılacak karın kısmı temizlenmiştir. Karaciğerden duodonuma giden

anatomik kısım açığa çıkarılarak ortak safra kanalı tespit edilmiş ve sonrasında ortak safra kanalı, proksimal ve distalden olmak üzere 4,0 ipek iplik ile proksimaldeki düğüm hepatik alana, distaldeki düğüm pankreasa yakın olacak şekilde iki yerden bağlanmıştır. Sonrasında cilt ve cilt altı kısımları bağımsız şekilde sütürle kapatılmıştır (109, 110).

SKB yapılan gruplarda 24-48 saat sonrası, hayvanların idrar renginde koyulaşma; kulak, vücut tüyleri ve mukoz membranlarda sararma gözlemlenmiştir. Hayvanların vücut ağırlıkları takip edilmiştir.



Şekil 3.2. Safra kanalı bağlama yöntemiyle gelişen sıçan kulağı ve idrarındaki renk değişimleri.

3.7. SERUMDA YAPILAN ÖLÇÜMLER

ALT, AST, total bilirubin ve direkt bilirubin ölçümünde sıçanlardan alınan kanlar 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Serum numuneleri ayrılarak total bilirubin, ALT, AST düzeyleri kullanılan ticari kitlerin protokolüne uygun olarak ELİSA yöntemi ile analiz edilmiştir.

• Bilirubin Analizleri

Bilirubin düzeyleri manuel olarak Biolabo-80403 ticari kit kullanılarak yapılmıştır. 100 uL serum numunesi üzerine 1000uL R1 (total bilirubin için) veya R2 (direk bilirubin için) reaktif eklenmiş, üzerine R3 reaktifi eklenerek 550 nm’de başlangıç absorbans ölçümleri alınmıştır. Kör olarak serum ile aynı miktarda distile su kullanılmıştır. Daha sonra 37 derecede 3 dakika inkübe edilerek 550 nm’de ikinci absorbanlar ölçülmüştür. 3 dakikada değişen absorbans ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) hesaplanmıştır.

Total Bilirubin düzeyi $\text{mg/dL} = (\text{Abs. assay} - \text{Abs. Blank}) \times 11.4$ formülü ile hesaplama yapılmıştır.

- ALT Analizleri

ALT analizleri manuel olarak Biolabo-80027 ticari kit kullanılarak yapılmıştır. 100 uL serum numunesi üzerine 1000 uL reaktif eklenerek 37 derecede 60 saniye inkübe edilmiştir. Kör olarak serum ile aynı miktarda distile su kullanılmıştır. Reaksiyonun 1. ve 3. dakikalarında 340 nm’de absorbanlar ölçülmüştür. Her dakikada değişen absorbans ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) hesaplanmıştır.

ALT Enzim aktivitesi $\text{IU/L} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 1746$ formülü ile hesaplama yapılmıştır.

- AST Analizleri

AST analizleri manuel olarak Biolabo-80025 ticari kit kullanılarak yapılmıştır. 100 uL serum numunesi üzerine 1000 uL reaktif eklenerek 37 derecede 60 saniye inkübe edilmiştir. Kör olarak serum ile aynı miktarda distile su kullanılmıştır. Reaksiyonun 1. ve 3. dakikalarında 340 nm’de absorbanlar ölçülmüştür. Her dakikada değişen absorbans ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) hesaplanmıştır.

AST Enzim aktivitesi $\text{IU/L} = (\Delta\text{Abs}/\text{min}) \times 1746$ formülü ile hesaplama yapılmıştır.

3.8. DOKUDA YAPILAN ÖLÇÜMLER

- 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin Ölçümü

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), oksidatif DNA hasarı göstergesi olarak 8-hydroxydeoxyguanosine düzeyleri ticari kit kullanılarak ölçülmüştür (111). 25 mg tartılan örneklerden önce genomik DNA izolasyonu yapılarak (İnvitrogen K182001) 260/280 nm’de nanodrop ile ölçüm yapılmıştır (Nabi, UV/Vis Spectrophotometer). İzole edilen DNA örneklerinde (200 ug/mL) kit yardımıyla 8-OHdG düzeyleri (Rat 8-OHdG ELISA Kit-Fine test, ER1487) belirlenmiştir.

1. 8-OHdG konjugatı $1\mu\text{g}/\text{ml}$ olacak şekilde Phosphate buffered saline (PBS) tamponu içerisinde sulandırıldı. Her bir mikropalakaya 100 μL konjugat eklenerek 24 saat 4 derecede inkübe edildi.
2. 8-OHdG konjugatı kaplı plakalara 200 μL ölçüm dilüsyon tamponu konuldu ve 1 saat oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı.
3. Ölçüm dilüsyon tamponu döküldü. 1/10 oranında seyreltilen serumlar mikropalakalara ilave edildi ve 10 dakika oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.

4. Her mikrolakaya 1/500 oranında ölçüm dilüsyon tamponu ile seyreltilmiş anti-8-OHdG antikorundan 50 µl ilave edildi ve 1 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
5. Mikrolakalar boşaltıldıktan sonra, 3 defa 250 µl yıkama tamponu eklenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi.
6. Her mikrolakaya 1/1000 oranında ölçüm dilüsyon tamponu ile seyreltilmiş Horseradish Peroksidaz (HRP) konjugatlı sekonder antikordan 100 µl eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
7. Mikrolakalar boşaltıldıktan sonra, 3 defa 250 µl yıkama tamponu eklenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi.
8. Oda sıcaklığında bekletilen substrat solüsyonundan her mikrolakaya 100 µl ilave edildi ve 15 dk oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
9. Renk değişimi görüldükten sonra mikrolakalara 100 µl stop solüsyonu eklendi.
10. Mikrolakalar'ın absorbens değerleri 450 nm'de ELISA okuyucu (Epoch Biotek) kullanılarak okundu.

- Hidroksiprolin Analizleri

Hidroksiprolin analizleri manuel olarak Sigma-MAK008 ticari kit kullanılarak yapılmıştır. Homojenize edilen 10 mg doku üzerine 100 uL hidroklorik asit (12M) ilave edilerek 120 derecede 3 saat kaynatılmıştır. Daha sonra 10.000xg'de 5 dakika santrifüj edilerek 50 uL süpernatant elisa playtleri üzerindeki kuyucuklara yüklenmiştir. Playtler 60 derecede 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Numuneler üzerine 100 uL Chloramine T/Oxidation tamponu eklenerek 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra üzerine Dimetilaminobenzoik reaktifi eklenerek 90 dakika 60 derecede inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında mikrolakalar'ın absorbens değerleri 560 nm'de ELISA okuyucu (Epoch Biotek) kullanılarak okunmuştur. Kontrol numunesi olarak 0.4 µg hydroxyproline standard kullanılmıştır.

Hidroksiprolin miktarı= $\text{Abs Örnek} \times 0.4 / (\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Örnek})$ formülü ile hesaplanmıştır.

- TNF-alfa ölçümü

TNF- α düzeyleri ticari kit (Invitrogen KRC3011) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4C de santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

- A) Standartların hazırlanması: Kitin içindeki stok standart (2000 ng/L) dilüe edilerek 750 ng/L-11,7 ng/L konsantrasyon aralığında standart hazırlanmıştır.
- B) Ölçüm yöntemi: Hazırlanan örnek ve standartlar için kit içerisindeki özel antikor bağlı plateler kullanılmıştır.
1. Platelerdeki kuyucuklara her bir standarttan 100 µL, her bir örnekten 100 µL konuldu. Kör kuyucuğuna hiçbir şey eklenmedi.
 2. Sadece örnek bulunan kuyucuklara biotin bağlı anti-Rat-TNF- α antikoru eklendi.
 3. Örneklerin ve standartların üzerine 100 µL Streptavidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) eklendi.
 4. Plate içindekilerin karışması için 20 rpm de orbital karıştırıcıda karıştırıldı.
 5. Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 1 saat inkübe edildi.
 6. 1 saat sonunda 30X olan yıkama tamponu 1X yapıp hazırlanan yıkama tamponu ile plate 3 defa yıkama yapıldı.
 7. Kör kuyucuk dahil plate'deki her bir kuyucuğa önce 100 µL substrat eklenip 10 dakika inkübe edildi.
 8. Inkübasyon sonunda mavi renk oluşumu gözlenince, 100 µL durdurma solüsyonu konulup oluşan sarı rengin absorbanı 450 nm' de ölçüldü.

● IL-6 ölçümü

IL-6 düzeyleri ticari kit (BioVendor RBMS625R) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4C de santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

- A) Standartların hazırlanması: Kitin içindeki stok standart (2000 ng/L) dilüe edilerek 1000 ng/L-67.5 ng/L konsantrasyon aralığında standart hazırlanmıştır.
- B) Ölçüm yöntemi: Hazırlanan örnek ve standartlar için kit içerisindeki özel antikor bağlı plateler kullanılmıştır.
1. Platelerdeki kuyucuklara her bir standarttan 50 µL, her bir örnekten 40 µL konuldu. Kör kuyucuğuna hiçbir şey eklenmedi.
 2. Sadece örnek bulunan kuyucuklara biotin bağlı anti-Rat-IL-6 antikoru eklendi.
 3. Örneklerin ve standartların üzerine 100 µL Streptavidin-HRP eklendi.
 4. Plate içindekilerin karışması için 20 rpm de orbital karıştırıcıda karıştırıldı.
 5. Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37 derecede 1 saat inkübe edildi.

6. 1saat sonunda 30X olan yıkama tamponu 1X yapıp hazırlanan yıkama tamponu ile plate 3 defa yıkama yapıldı.
7. Kör kuyucuk dahil plate'deki her bir kuyucuğa önce 100 µL Tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyon karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.
8. İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu gözlenince, 100 µL durdurma solüsyonu konulup, oluşan sarı rengin absorbanı 450 nm' de ölçüldü.

● TGF-β ölçümü

Dokuda TGF-β düzeyleri ticari kit (Elabscience E-EL-R0084) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de, +4 derecede santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

- A) Standartların hazırlanması: Kitin içindeki stok standart (2000 ng/L) dilüe edilerek 1000 ng/L-67.5 ng/L konsantrasyon aralığında standart hazırlanmıştır.
- B) Ölçüm yöntemi: Hazırlanan örnek ve standartlar için kit içerisindeki özel antikor bağı plateler kullanılmıştır.
 1. Platelerdeki kuyucuklara her bir standarttan veya örnekten 100 µL konuldu. Kör kuyucuğa herhangi birşey eklenmedi.
 2. Sadece örnek bulunan kuyucuklara biotin bağı anti-Rat-TGF-β antikor eklendi.
 3. Örneklerin ve standartların üzerine 100 µL Streptavidin-HRP eklendi.
 4. Plate içindekilerin karışması için 20 rpm de orbital karıştırıcıda karıştırıldı.
 5. Hazırlanan plate orbital shaker üzerinde 37 derecede 1 saat inkübe edildi.
 6. 1saat sonunda 30X olan yıkama tamponu 1X yapıp hazırlanan yıkama tamponu ile plate 3 defa yıkama yapıldı.
 7. Kör kuyucuk dahil plate'deki her bir kuyucuğa önce 100 µL TMB substrat solüsyon karanlıkta 37 derecede 10 dakika inkübe edildi.
 8. İnkübasyon sonunda mavi renk oluşumu gözlenince, 100 µL durdurma solüsyonu konulup oluşan sarı rengin absorbanı 450 nm' de ölçüldü.

● SOD Ölçümü

Dokuda SOD aktivite düzeyleri ticari kit (Elabscience E-BC-K022-M) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4 derecede santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

1. Platelerdeki kuyucuklara her bir standarttan veya örnekten 100 µL konuldu. Kör kuyucuğa 5 uL distile su konuldu.
2. Örneklerin üzerine 90 uL tampon konuldu ve 30 uL enzim çalışma solüsyonu konularak 37 derecede 50 dakika inkübe edildi.
3. Plate içindeki kuyucuklara 180 uL kromojenik reaktif eklendi ve 10 dakika inkübe edildi ve oluşan rengin absorbansı 550 nm' de ölçüldü.

● CAT Ölçümü

Dokuda CAT aktivite düzeyleri ticari kit (Elabscience E-BC-K031-M) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4 derecede santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

1. Platelerdeki kuyucuklara her bir standarttan (H₂O₂) veya örnekten 20 µL konuldu. Kör kuyucuğuna 20 uL distile su konuldu.
2. Örneklerin üzerine 200 uL tampon konuldu ve 37 derecede 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra 20 uL substrat konuldu ve 37 derecede 1 dakika inkübe edildi. Üzerine 200 uL kromojenik reaktif solüsyonu konularak 10 dakika inkübe edildi.
3. Plate içindeki rengin absorbansı 405 nm' de ölçüldü.

● GPX Ölçümü

Dokuda GPX aktivite düzeyleri ticari kit (Elabscience E-BC-K096-S) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4 derecede santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

1. Ependorf tüplerde önce enzimatik reaksiyon gerçekleştirmek için 100 uL örnek üzerine 200 ul GPX tampon solüsyonu eklendi ve 37 derecede 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra 100 uL asit reaktifi A konuldu ve 37 derecede 5 dakika inkübe edildi. Çökelti oluştuktan sonra 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst faz alındı.
2. 100 uL örneklerin üzerine 100 uL GPX standart solüsyonu eklendi ve 250 uL DTNM (Ellman's reagent) solüsyonu ve 5 uL tuz solüsyonu eklendi. Oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
3. Plate içindeki rengin absorbansı 412 nm' de ölçüldü.

• Na⁺/K⁺-ATPaz Ölçümü

Dokuda Na/K/ATPaz aktivite düzeyleri ticari kit (Elabscience E-BC-K539-M) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Doku örnekleri PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edildikten sonra 3000 rpm de +4 derecede santrifüj edilmiş ve üst faz kit ölçümleri için kullanılmıştır.

1. Ependorf tüplerde önce enzimatik reaksiyon gerçekleştirmek için 100 uL örnek üzerine 45 ul tampon solüsyonu, 40 uL A reaktifi, 20 uL susbtrat, 20 uL B reaktifi konularak 37 derecede 10 dakika inkübe edildi. Çökelti oluştuktan sonra 8000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst faz alındı.
2. 20 uL örneklerin üzerine 200 uL kromojenik solüsyon eklendi ve 37 derecede 15 dakika inkübe edildi.
3. Plate içindeki rengin absorbansı 660 nm' de ölçüldü.

3.9. DAVRANIŞ DENEYLERİ

3.9.1. Morris su labirenti testi

Morris su labirenti testi kemirgenler için uzaysal bir öğrenme testi olup hipokampal aktiviteyi göstermektedir. Hafıza ve öğrenme ile ilgili işlevler bu testte ölçülen parametrelerdir (112). Morris su labirenti testi, içi su dolu olan 180 cm çapında 60 cm derinliğinde bir havuzda yapılmıştır. Su dolu tankı, hayali dört eşit kadrana ayırdığımızı düşünecek olursak kadranslardan birine su seviyesinin iki cm altında kalacak ve 10 cm çapında olacak şekilde bir kaçış platformu kurulmuştur. Suyun sıcaklığı 22±2 °C olarak, platformun görünmemesi için toksik olmayan renkli bir suyla opak hale getirilmiştir. Sıçanların platformun konumunu öğrenmesi için kenarlara renkli görsel ipuçları bırakılmıştır. Her sıçan günde dört kez öğrenme denemelerine tabi tutulmuş ve her deneme arası 16 dk süresince sıçanlar bekletilmiştir. Sıçanların 60 saniye içerisinde platformu bulması beklenmiştir. Platformu bulamayan sıçanların tahta çubuk yardımı ile platformu bulması sağlanmış ve bu esnada platformda 15 saniye bekletilmesine izin verilerek çevredeki renkli görsel ipuçlarını fark etmesi sağlanmıştır. Dört gün boyunca bu denemeler yapılmıştır. Denemeler sonrası 24 saat bekledikten sonra 5. gün kaçış platformu kaldırılarak, platformun olduğu kadranda sıçanın ne kadar zaman geçirdiği hesaplanmıştır (113). Tüm denemelerde tankın tamamını görecektir şekilde, bir kamera ile sıçanın platformu bulma süreleri ve her kadranda bulundukları süre kayıt altına alınmıştır.

3.9.2. Yeni obje tanıma testi

Nesne tanıma, kemirgenlerde çalışma belleğini değerlendirmeyi amaçlayan bir prosedürdür. Test, kemirgenliğin yeniliğe karşı spontan keşif davranışına dayandığından, denek tarafından bir kuralın öğrenilmesini veya deneğe müdahaleyi gerektirmemektedir (114). 50x50x30 cm siyah pleksiglastandan yapılmış bir düzenekte yeni obje tanıma testi gerçekleştirilmiştir. Öncesinde objeler ve düzeneğe etanolle temizlenmiştir. Yeni obje tanıma testine başlamadan bir gün önce aynı kafesteki hayvanlar pleksiglas düzeneğe obje olmaksızın bırakılarak 60 dakika süresince test düzeneğine alışmaları sağlanmıştır. Alıştırma süreci tüm hayvanlar için uygulanmıştır. Test gününde her bir hayvan 60 dakika arayla 3 dakika süresince düzeneğe yerleştirilmiştir. İlk yerleştirme tanıma evresi olarak adlandırılmıştır. Öğrenme aşaması için sıçanlar birbirinin aynısı iki obje yerleştirilmiş olan kafese alınarak 3 dakika boyunca objeleri keşfetmesi sağlanmıştır, ardından barınma kafesine alınmıştır. Bir saat sonra test aşaması için eski objelerden biri yeni bir objeyle değiştirilmiş ve sıçanların serbestçe gezinmesine olanak verilerek yeni objeyi 3 dakika boyunca keşfetmesi sağlanmıştır. Bu aşamalar kamera sistemiyle kayıt altına alınmış ve sıçanların yeni objeye olan ilgisinin eski objeye olan ilgisine oranı bu hayvanın öğrenme ve bellek fonksiyonlarının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (115).

Fark skorunda nesnelerin tercih edilme oranları, toplam keşif için geçen zamanın nesneyi keşfetme zamanına bölünmesi ile hesaplanır (116). Fark skoru her iki nesnenin toplam keşif süresine kıyasla yeni nesneyle geçirilen sürenin hesaplanmasıyla bulunur:

$$\text{Yeni Nesne} / (\text{Yeni Nesne} + \text{Eski Nesne})$$

Yeni nesne için geçirilen zaman ve tercih edilme oranı, “1” değerine ne kadar yakınsa, yeni nesne için keşfetme isteğinin o kadar fazla olduğu gösterilmiş olur.

3.10. HİSTOLOJİK İNCELEMELER

Işık mikroskopik incelemeler için karaciğer ve beyinden alınan örnekler %10 formaldehit ile fikse edildi, %70, %90, %96 ve %100 alkollerden geçirilerek dehidrate edilip ksilen ile şeffaflaştırıldı ve parafine gömüldü. Karaciğer örnekleri (3 µm) genel morfolojik değerlendirme için hematoksilen ve eozin (H&E) ile ve fibrozisin tespiti için Masson'un üçlü boyaması ile boyandı, beyin kesitleri (3 µm) ise krezil viole ile boyandı. Tüm boyalı kesitler dijital kamera (Olympus, Tokyo, Japonya) eklentili fotomikroskop (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) ile incelendi ve fotoğraflandı. Deney gruplarının her birinde, her hayvandan bir kesit ve her kesitte en az beş benzer alan değerlendirildi.

3.11. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistiksel analiz GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Çalışmadaki veriler ortalama $\pm$ S.E.M olarak belirtilmiştir. Veri grupları tek yönlü varyans analizi olan ANOVA ile yapılmış ve $p<0,05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir. Deneyde kullanılan hayvan sayısı için Power Analiz testi (G-Power v3.1.9.4) yapılmıştır. Güç analizine göre, minimum %80 güç ve 0,5 etki büyüklüğü ile tek yönlü ANOVA ($\alpha=0,05$) kullanılarak tasarlanan deney planı için 6 grubun her grubunda $n=11$ olacak şekilde örneklem büyüklüğü belirlenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. *IN-VİTRO* ANTİOKSİDAN AKTİVİTE

4.1.1. DPPH radikalini süpürücü aktivite tayini

Cynara scolymus yaprak ekstresi (CSY), 133,10 µg/mL'lik IK_{50} değeriyle *Cynara scolymus* reseptakulum ekstresi (CSR) (IK_{50} :1364.00 µg/mL)'nden daha iyi derecede DPPH radikal süpürücü etkiye sahip olduğu olduğu, her iki ekstrenin de standartla (Askorbik asit IK_{50} : 40,23 µg/mL) karşılaştırıldığında düşük antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Tablo 4.1).

4.1.2. ABTS⁺ radikal katyonunu süpürücü aktivite tayini

CSY, 394,80 µg/mL'lik IK_{50} değeriyle CSR'den (IK_{50} : 893,40 µg/mL) daha iyi derecede ABTS radikal katyonunu süpürücü etkiye sahip olduğu olduğu, her iki ekstrenin de standartla (Troluks IK_{50} : 4,54 µg/mL) karşılaştırıldığında düşük antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Tablo 4.1).

4.2. EKSTRENİN TOTAL BİLEŞİK MİKTAR TAYİNLERİ

4.2.1. Toplam fenolik bileşik miktarı

Ekstrelerin gallik asite eş değer olarak total fenolik bileşik miktarları standart gallik asit grafiğinden elde edilen denklem üzerinden hesaplanmıştır ($y=0.088x+0.073$; R^2 : 0,98)

CSY'nin, g ekstrede 36,19 mg gallik asite eşdeğer miktarıyla CSR'den (11,18 mg/g) neredeyse 3,5 kat daha yüksek toplam fenolik bileşik miktarına sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.1).

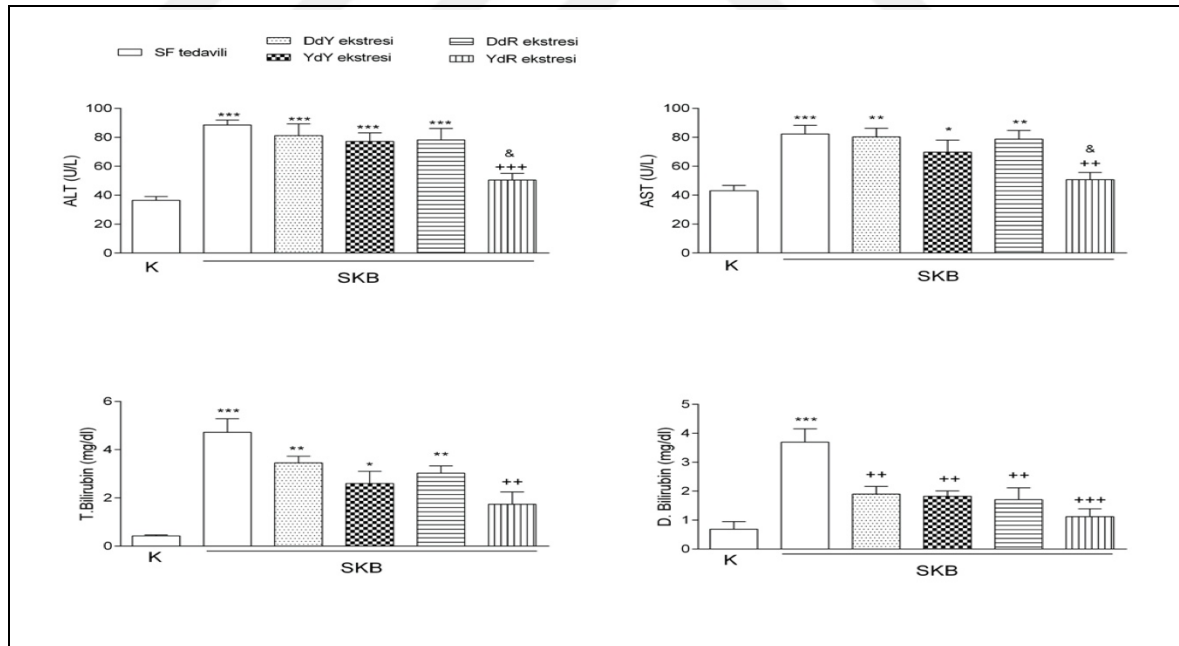
Tablo 4.1. *Cynara scolymus* türünün farklı kısımlarından %90 etanolla elde edilen ekstrelerin antioksidan ve toplam madde miktarları.

Deneyler	Ekstreler		Standartlar
	CSY	CSR	
DPPH radikalini süpürücü aktivite (IK ₅₀ , µg/mL)	133,10±0,64	1364,00±0,71	Askorbik asit 40,23 ± 2,08
ABTS radikal katyonunu süpürücü aktivite (IK ₅₀ , µg/mL)	394,80±6,86	893,40±7,07	Trolaks 4,541 ± 0,08
Toplam fenolik bileşik miktarı (mg GAE / g ekstre)	36,19±0,58	11,18± 0,53	

CSY: *Cynara scolymus* yaprak ekstresi; CSR: *Cynara scolymus* reseptakulum ekstresi
IK₅₀: Radikalın veya enzimin %50'sini inhibe eden konsantrasyon
GAE: Gallik asit eşdeğeri

4.3. SERUM ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR

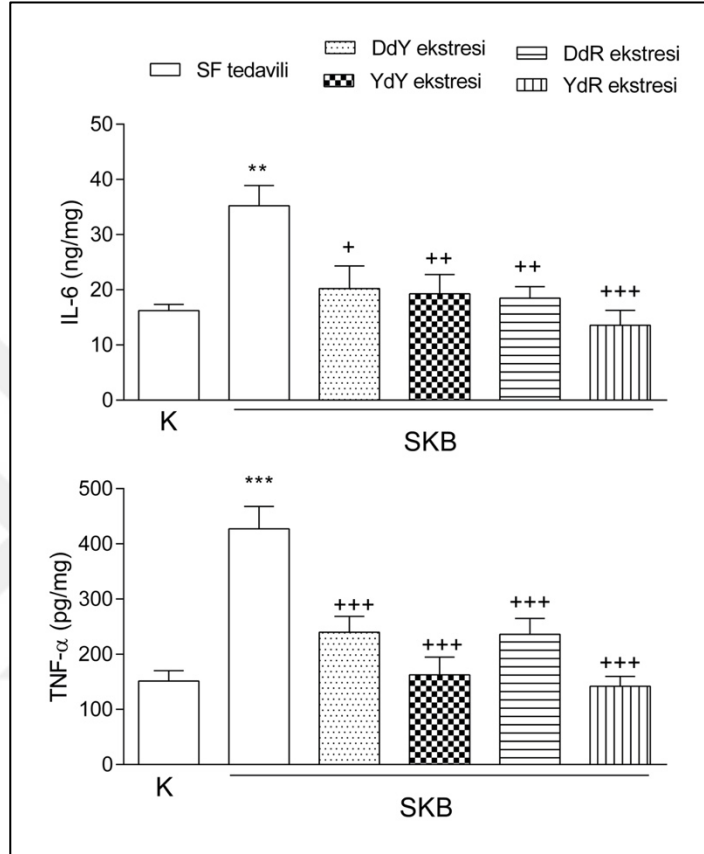
Çalışmamızda SKB uygulanan grupta ALT, AST, T. Bilirubin ve D. bilirubin değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Enginar tedavi gruplarının tümünde ALT, AST, total ve direkt bilirubin değerleri SF uygulanan SKB grubuna göre düşmüştür ancak bu düşme YdR ekstresi verilen grupta anlamlı düzeyde bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde D. Bilirubin seviyesi SF uygulanan SKB grubuna göre anlamlı düzeyde düşmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Serum ALT, AST, T. bilirubin ve D. bilirubin sonuçları. ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, T. bilirubin: Total bilirubin ve D. bilirubin: Direkt bilirubin, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. *p<0,05, **p<0,01 ve *p<0,001; Kontrol grubuna göre, &p<0,05; DdR grubuna göre, ++p<0,01 ve +++p<0,001; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.**

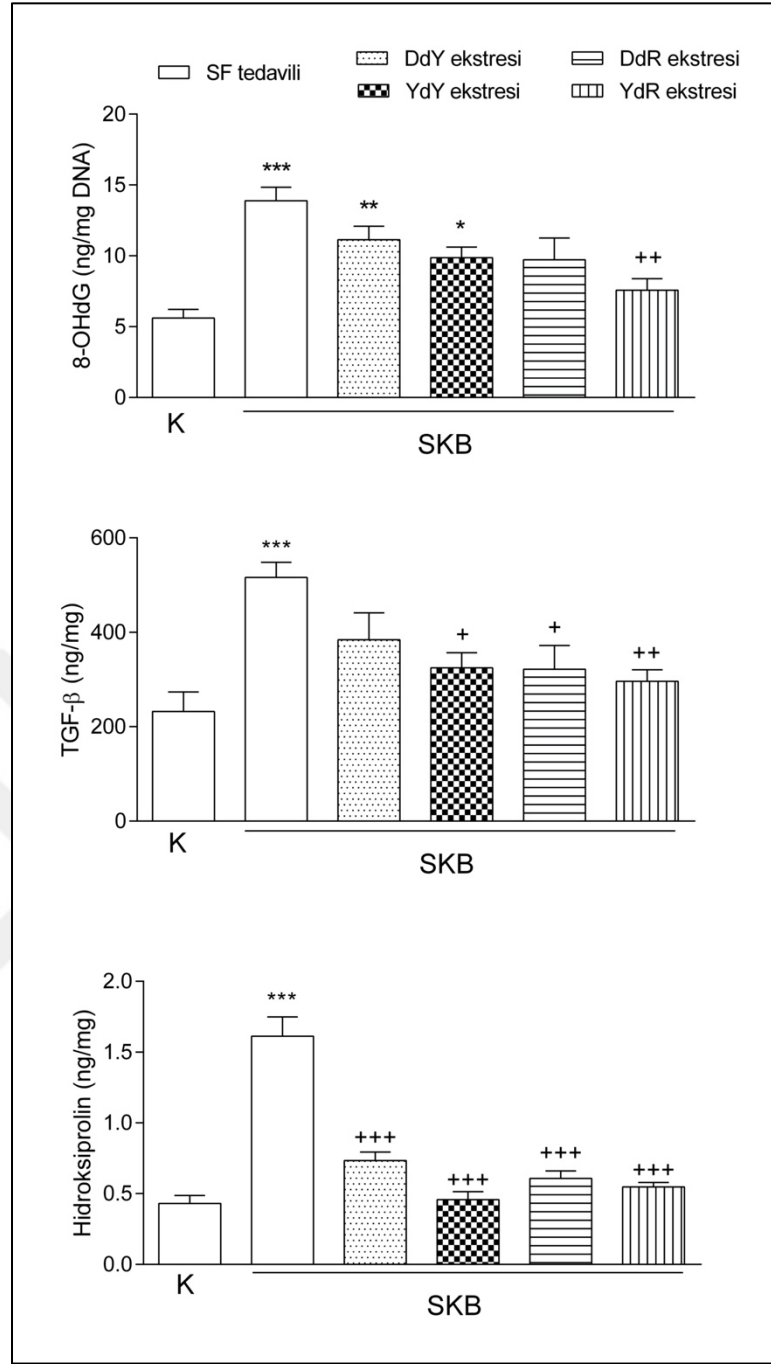
4.4. KARACİĞER DOKU ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR

Çalışmamızda SKB uygulanan grupta IL-6 ve TNF- α değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde IL-6 ve TNF- α seviyeleri SF uygulanan SKB grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (Şekil 4.2).



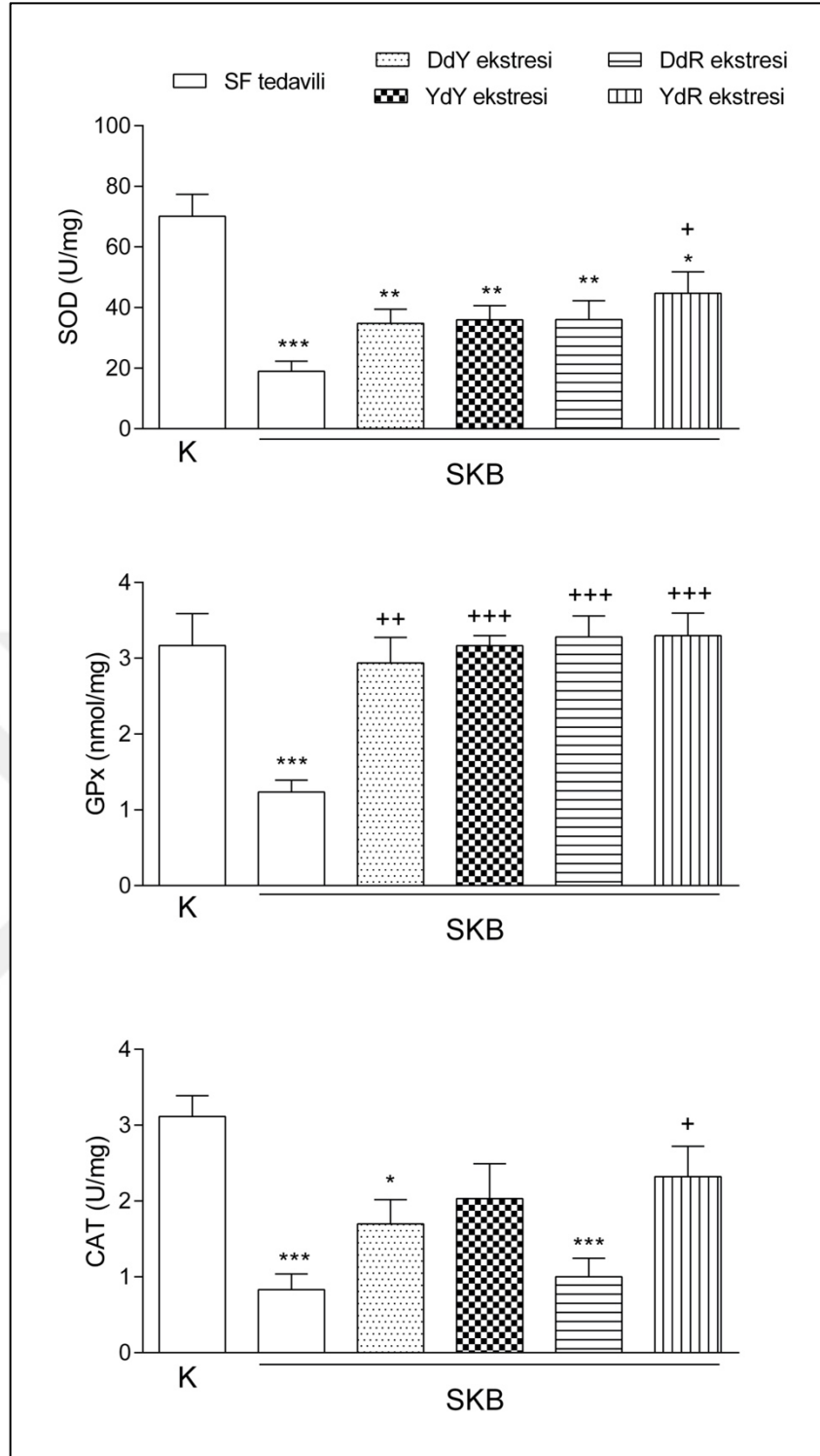
Şekil 4.2. Karaciğer dokusuna ait IL-6 ve TNF- α sonuçları. IL-6: İnterlökin-6, TNF- α : Tümör nekroz faktörü alfa, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, ++ $p<0,01$ ve +++ $p<0,001$; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

SKB yapılan sıçanların karaciğer dokularında 8-OHdG, TGF- β ve hidroksiprolin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde 8-OHdG, TGF- β ve hidroksiprolin değerleri SF uygulanan SKB grubuna göre düşük bulunmuştur. 8-OHdG düzeyindeki düşme sadece YdR ekstresi verilen grupta, TGF- β düzeyindeki düşme DdY grubu dışındaki tüm enginar tedavi gruplarında ve hidroksiprolin düzeyindeki düşme tüm enginar tedavi gruplarında anlamlı düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.3).



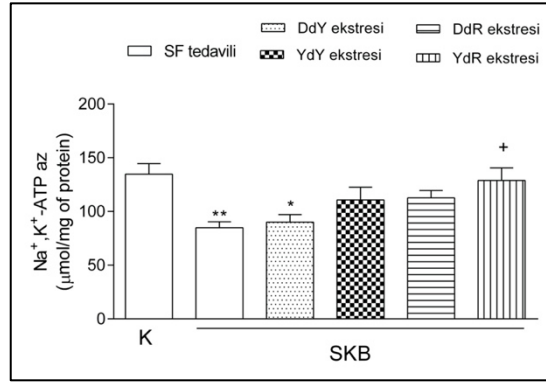
Şekil 4.3. Karaciğer dokusuna ait 8-OHdG, TGF-β ve Hidroksiprolin sonuçları. 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, TGF-β: Transforme edici büyüme faktörü, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, ++ $p<0,01$ ve +++ $p<0,001$; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

SKB grubu sıçanların karaciğer doku örneklerinde; SOD, GPX ve CAT enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde, bu enzim aktivitelerinde SF uygulanan SKB grubuna göre artış görülmüştür. SF uygulanan SKB grubuna kıyasla, GPX enzim aktivitesindeki artış enginar tedavi gruplarının tümünde, SOD ve CAT enzim aktivitelerindeki artış sadece YdR grubunda anlamlı düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Karaciğer dokusuna ait SOD, GPx ve CAT sonuçları. SOD: Süperoksit dismutaz, GPx: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. *p<0,05, **p<0,01 ve ***p<0,001; Kontrol grubuna göre, +p<0,05, ++p<0,01 ve +++p<0,001; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

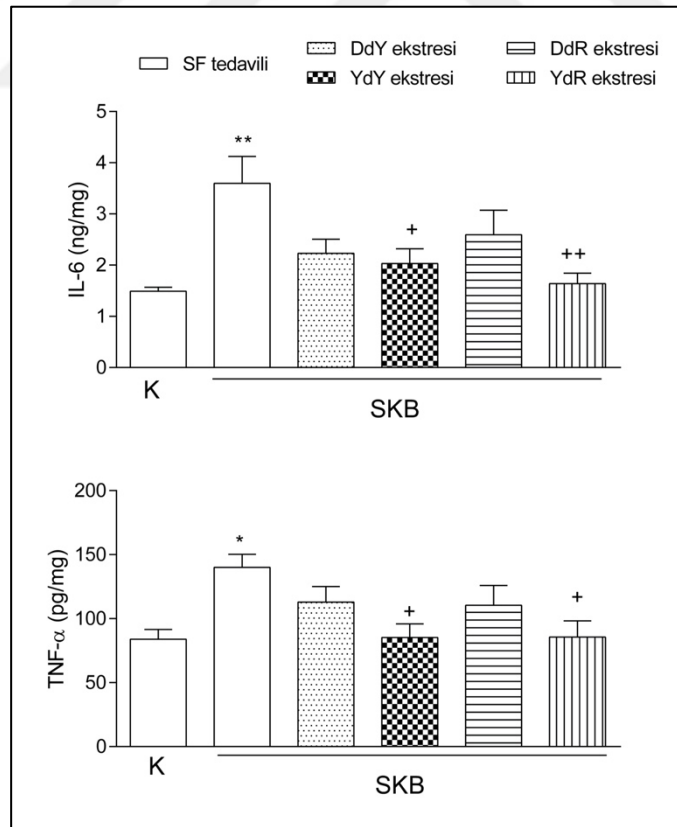
Çalışmamızda SKB uygulanan grupta Na^+/K^+ -ATPaz düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Na^+/K^+ -ATPaz düzeyindeki artış SF uygulanan SKB grubuna göre sadece YdR grubunda anlamlı düzeyde tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Karaciğer dokusuna ait Na⁺/K⁺-ATPaz sonuçları. Na⁺/K⁺-ATPaz: Sodyum-potasyum adenozin trifosfataz, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. *p<0,05 ve **p<0,01; Kontrol grubuna göre, +p<0,05; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

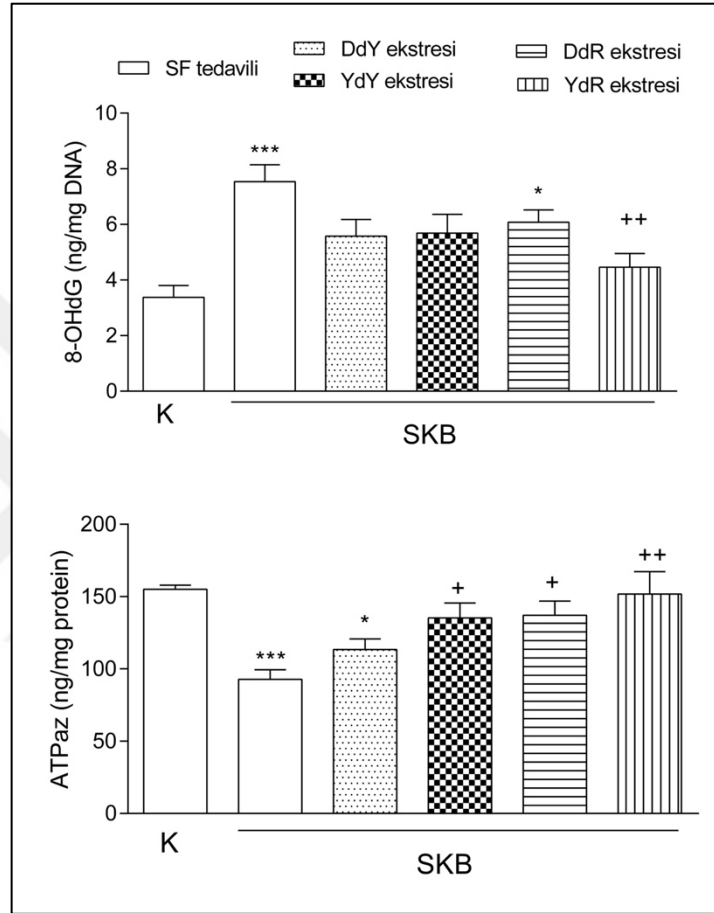
4.5. BEYİN DOKU ÖRNEKLERİNE AİT BULGULAR

SKB yapılan sıçanların beyin dokularında IL-6 ve TNF-α değerleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde IL-6 ve TNF-α seviyeleri SF uygulanan SKB grubuna göre düşmüş ancak bu düşme sadece YdY ve YdR gruplarında anlamlı düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Beyin dokusuna ait IL-6 ve TNF-α sonuçları. IL-6: İnterlökin-6, TNF-α: Tümör nekroz faktörü alfa, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. *p<0,05 ve **p<0,01; Kontrol grubuna göre, +p<0,05 ve ++p<0,01; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

SKB grubu sıçanların beyin doku örneklerinde 8-OHdG ve Na^+/K^+ -ATPaz düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Enginar tedavi gruplarının tümünde 8-OHdG ve Na^+/K^+ -ATPaz düzeyleri SF uygulanan SKB grubuna göre yükselmiştir. Ancak SF uygulanan SKB grubuna göre 8-OHdG düzeyinde yükselme sadece YdR grubunda, Na^+/K^+ -ATPaz düzeyindeki yükselme; YdY, DdR ve YdR gruplarında anlamlı düzeyde tespit edilmiştir (Şekil 4.7).



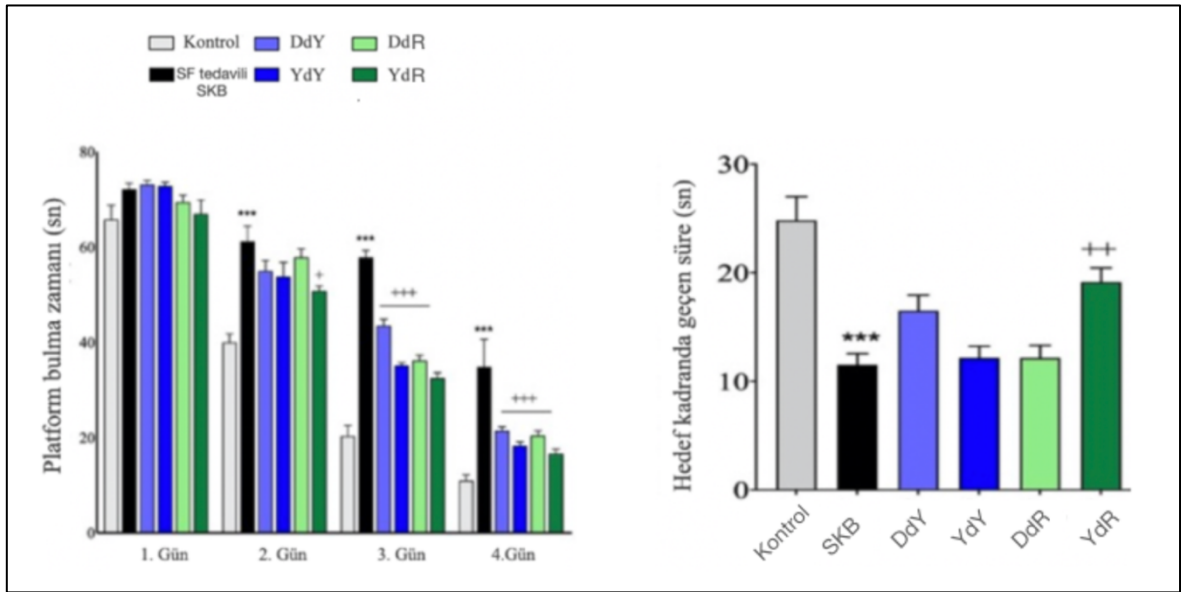
Şekil 4.7. Beyin dokusuna ait 8-OHdG ve Na^+/K^+ -ATPaz sonuçları. 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, Na^+/K^+ -ATPaz: Sodyum-potasyum adenozin trifosfataz, K: Kontrol, SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi ANOVA uygulanmıştır. * $p<0,05$ ve *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ ve ++ $p<0,01$; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

4.6. DAVRANIŞ DENEYLERİ BULGULARI

4.6.1. Morris su labirent testi bulguları

Morris su labirenti testinin ilk 4 günü alıştırma günü olup, bu dört günün verilerine baktığımızda; tüm gruplarda platformu bulma süresi en uzun birinci gün, en kısa dördüncü gün olmuştur. SKB grubu sıçanlarda platform bulma zamanı ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır. İkinci günde platformu bulma

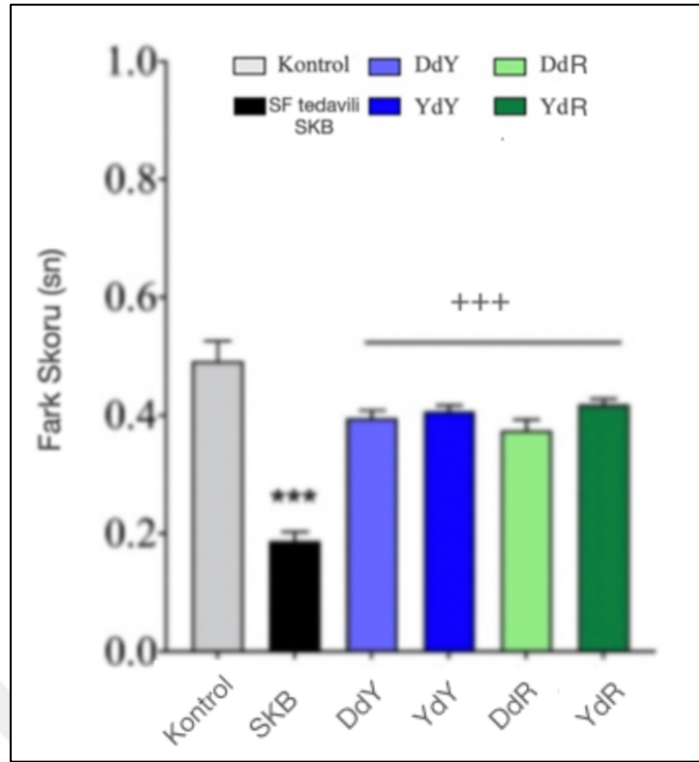
zamanı, SF uygulanan SKB grubuna göre tüm enginar tedavi gruplarında azalmıştır ancak bu azalma sadece YdR grubunda anlamlı düzeyde bulunmuştur. Üçüncü ve dördüncü günlerde ise platformu bulma zamanı, SF uygulanan SKB grubuna göre tüm enginar tedavi gruplarında anlamlı düzeyde azalmıştır. Morris su labirenti testinin beşinci gününde ise hedef kadranda geçen süre ölçülmüştür. Bu verilere göre hedef kadranda geçen süre SF uygulanan SKB grubu sıçanlarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır. Hedef kadranda geçen süre SF uygulanan SKB grubuna göre tüm enginar tedavi gruplarında artmış olsa da anlamlı düzeyde artış sadece YdR grubunda tespit edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Morris su labirent testine ait platform bulma zamanı ve hedef kadranda geçen süre grafikleri. SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. ***p<0,001 kontrol grubuna göre, +p<0,05, ++p<0,01 ve +++p<0,001; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

4.6.2. Yeni obje tanıma testi bulguları

Çalışmanın sonunda yapılan yeni obje tanıma testi verilerine göre, SF uygulanan SKB grubu sıçanlarda fark skoru değeri, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Bu değer enginar tedavi gruplarının tümünde, SF uygulanan SKB grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yükselmiştir (Şekil 4.9).

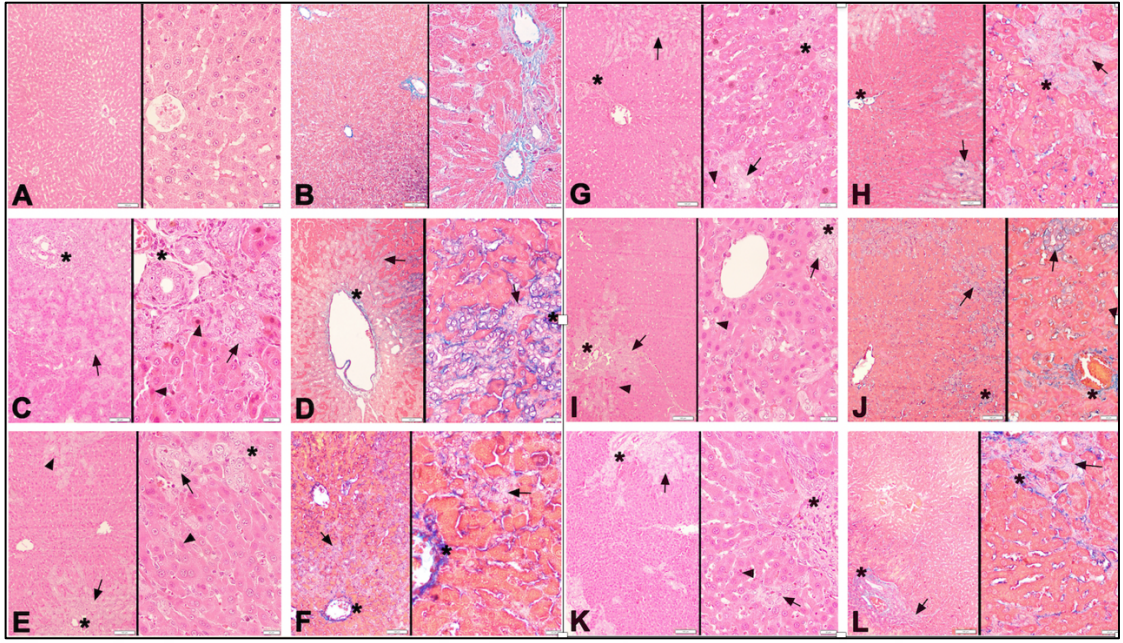


Şekil 4.9. Yeni obje tanıma testine ait fark skoru grafiği. SKB: Safra kanalı bağlama, SF: Serum fizyolojik, DdY: Düşük doz yaprak, YdY: Yüksek doz yaprak, DdR: Düşük doz reseptakulum, YdR: Yüksek doz reseptakulum. *** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, +++ $p < 0,001$; SF uygulanan SKB grubuna göre karşılaştırılmıştır.

4.7. HİSTOLOJİK BULGULAR

4.7.1. Karaciğer doku örnekleri ait histolojik bulgular

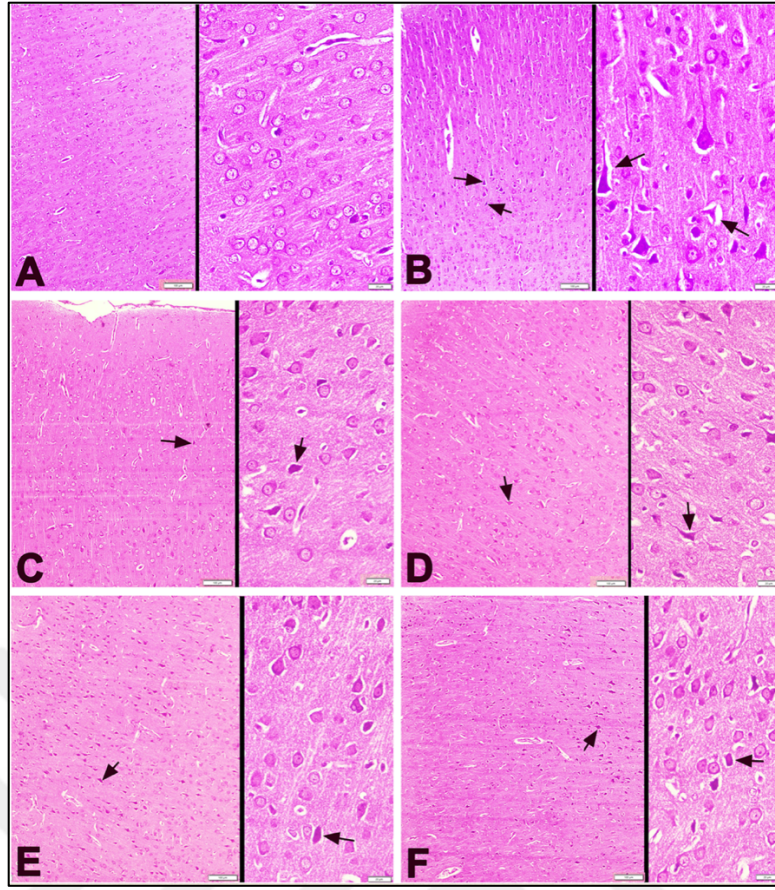
Kontrol grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde, sağlam hepatositler, sinüzoidler ve portal sistem ile düzenli bir karaciğer parankim morfolojisi gözlenmiştir. SF uygulanan SKB grubunda, ciddi safra kanalı proliferasyonu, portal alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu, düzensiz hepatik kordlar ve artmış eozinofili ile hasarlı hepatositler gözlenmiştir. Yine bu grupta, asinüs çevresinde ve prolifer olmuş safra kanalları etrafında bağ doku elemanlarının artışı ile gözlenen fibrozis gözlenmiştir. DdY ve DdR ekstresi verilen grupların hepatik kord düzensizliklerinde ve dejenere hepatositlerin sayısında azalma görülmüştür. Ayrıca, hafif düzeyde safra kanalı proliferasyonunda azalma, asinüs etrafında orta derecede fibrozis ve portal alan içinde azalmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. YdY ve YdR gruplarında ise hepatik kordlardaki düzensizliğin hafif düzeyde olduğu ve hasarlı hepatosit sayısında azalmanın orta düzeyde olduğu gözlenmiştir. Ek olarak, safra kanalı proliferasyonunun, portal sistem içindeki inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve asinüs etrafındaki fibrozisin hafif ve orta düzeyde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.10: A-L).



Şekil 410. Deney gruplarının karaciğer örneklerine ait temsili mikrofotografılar. Kontrol grubunda (A, B) normal morfolojide, hepatositler, sinüzoidler ve portal alan içeren karaciğer parankimi görülmektedir. SF uygulanan SKB grubunda (C, D) hepatik kordlarda düzensizlik, dejenere hepatosit sayısında artış (okbaşı), asinüs etrafında bantlar şeklinde fibrozis ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (*) ve ciddi safra kanalı proliferasyonu (ok) görülmektedir. SKB+DdY (E,F), SKB+YdY (G,H), SKB+DdR (I,J), SKB+YdR (K,L) gruplarında hepatik kordlardaki düzensizlik, dejenere hepatosit sayısında (okbaşı), inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve asinüs çevresindeki fibrozisde (*) ve safra kanalı proliferasyonunda (ok) azalma gözlenmektedir. A, C, E, G, I, K: H&E boyama; B, D, F, H, J, L: Masson'un üçlü boyaması. Büyütme ölçeği: sol taraf: 100 µm, sağ taraf: 20 µm

4.7.2. Beyin doku örnekleri ait histolojik bulgular

Beyin örneklerinin ışık mikroskopik değerlendirmesinde; kontrol grubunda akson, dendrit ve sinapsların meydana getirdiği düzenli nöropil yapısı, büyük çekirdekleri ve belirgin nükleolusları olan düzenli morfolojide nöronları olan korteks yapısı gözlenmiştir. SF uygulanan SKB grubunda ciddi derecede artmış sitoplazmik bozulma ve piknotik hücre çekirdeği olan hasarlı düzensiz nöron yapılarının olduğu görülmüştür. DdY ve DdR gruplarında düzensiz morfolojisi olan hasarlı nöronların azaldığı gözlenmiştir. YdY ve YdR gruplarında ise daha az sayıda hücre yapısı düzensizliği, sitoplazmik bozulma ve piknotik hücre çekirdeği olan hasarlı nöronların olduğu gözlenmiştir (Figure 2 A-F).



Şekil 4.11. Deney gruplarının beyin örneklerine ait temsili mikrofotograflar. Kontrol grubunda (A) düzenli nöropil yapısı, büyük çekirdekleri ve belirgin nükleolusları olan düzenli morfolojide nöronları olan korteks yapısı görülmektedir. SF uygulanan SKB grubunda (B) ciddi derecede artmış sitoplazmik bozulma ve piknotik hücre çekirdeği olan hasarlı düzensiz nöron yapılarının (ok) olduğu görülmektedir. SKB+DdY (C), SKB+YdY (D), SKB+DdR (E), SKB+YdR (F) gruplarında düzensiz morfolojisi olan hasarlı nöronların (ok) azaldığı gözlenmektedir. Krezil viole boyaması Büyütme ölçeği: sol taraf: 100 μ m, sağ taraf: 20 μ m.

5. TARTIŞMA

Karaciğer; endojen ve eksojen maddelerin metabolize edilmesi, bazı maddelerin salgılanması ve depo edilmesi, toksik maddelerin detoksifiye edilmesi gibi birçok faaliyette temel rol oynar (117, 118). Bu nedenle karaciğer hastalıkları, halk sağlığına yönelik ciddi bir tehdit olup tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak devam etmektedir. Bu amaçla birçok doğal ürünün hepatoprotektif etkileri araştırılarak bununla ilgili araştırmalar yapılmaktadır (118).

Yaptığımız çalışmada geleneksel olarak sıklıkla kullanılan enginar (*Cynara scolymus*) bitkisinin karaciğer fibrozisi modeli oluşturulan sıçanlarda antioksidan, antiinflamatuvar ve antikolestatik etkileri incelenmiştir.

Enginarın aktif maddesi sinarin olup, en çok bulunduğu yer enginar bitkisinin yapraklarıdır (85). Enginarın antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılmış olan biyolojik aktivite çalışmalarında enginarın hem reseptakulum (çiçek tablası) hem de yaprak kısımlarının bu aktiviteleri gösterdiği ortaya konmuştur (64). Drog olarak kullanılan enginar yaprağı ve sofralarda sıklıkla tüketilen reseptakulum kısımlarının, karaciğerdeki hepatoprotektif etkileri ve HE'deki olası olumlu etkilerini ortaya koymak amacıyla yaptığımız çalışmamızda, özellikle besin olarak tüketilen reseptakulum kısımlarının faydalı etkilerini ortaya koymuş olduk.

Kronik karaciğer hastalıkları, uygun tedavi edilemezse karaciğer fibrozisi ve karaciğer yetmezliği ile sonlanmaktadır. Fibrotik karaciğer hastalıklarının nedenlerini anlamak ve yeni tedavi yöntemlerini bulmak için, insandaki patojeniteye benzer şekilde hastalığın ortaya konması önemli olduğundan çalışmamızda SKB modeli kullanılmıştır.

Cynara scolymus türünde fenolik bileşikler ve terpenler ana bileşik grubu olarak tanımlanmışlardır (102). Bu bileşik gruplarının karaciğer fibrozisine karşı etkili oldukları bildirilmiştir (119, 120). Ancak çoğu çalışmada yaprak kısımlarından hazırlanan drog veya ekstrakter kullanılmıştır.

Enginarın hem yaprak hem de reseptakulum kısımlarının etkisinin araştırıldığı çalışmamızda reseptakulum ekstresinin yaprak ekstresine göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Bitkisel ürünlerin; özellikle fenolik bileşiklerinin aktiviteleri, etkilerden

sorumlu olduğundan hazırladığımız ekstrelerin total fenolik bileşik miktar tayinleri yapıldığında yaprak ekstresinin daha fazla miktarda fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Öte yandan reseptakulum ekstresinin karaciğer fibrozisine karşı koruyucu etkilerine fenolik bileşiklerle birlikte içerdiği diğer bileşiklerin de (terpenik yapıda bileşikler vb.) önemli katkı sağlamış olduğu düşünülmektedir.

Karaciğer fibrozisine neden olan hastalıklardan biri de kolestazdır. Karaciğer safra akımındaki tıkanıklık kolestaz olarak tanımlanmaktadır. Kolestaz sonrası biriken safra asitleri karaciğerde hasara neden olup sonrasında karaciğer sirozuna yol açabilmektedir (121). Tıkanma sarılığına bağlı olarak gelişen direk bilirubin artışı, özellikle karaciğerde sitotoksik etki yaratarak nekroza ve fibroze neden olmaktadır (122, 123). Klinikte tıkanma sarılığı olarak bilinen ekstrahepatik kolestazın yol açtığı patolojik durumların saptanması ve safra stazına bağlı olarak gelişen karaciğer fibrozisinde tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için çalışmalarda SKB modeli sıklıkla uygulanmaktadır (121).

Ana safra kanalını bağlayarak oluşturulan kolestaz modelinde hedef, karaciğer hasarı ile karaciğer fibrozisi oluşturmaktır (124). Çalışmamızda yapılan SKB modeli ile kolestaz oluşturulmuş sıçanlarda sarılık takibi, idrar renginde koyulaşma vb. parametrelerle değişim tespit edilerek kolestaz olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca tedavi sürecinin sonunda yapılan dekapitasyon sonrası hayvanların karaciğerleri ve batın içi incelenerek de makroskopik olarak kolestaz tespit edilmiştir. Tüm bu parametreler, SKB yapılmayan kontrol sıçanlarınkiler ile kıyaslanmıştır.

Ayrıca serumda ve karaciğerde yapılan biyokimyasal ölçümler sonucu SKB uygulanan sıçanlardaki ALT ve AST değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükselmesi de bu bulguları desteklemektedir. ALT ve AST enzimlerinin karaciğer dokusunda oldukça yoğun bir şekilde bulunduğu, ALT'nin sadece hücresel sitoplazmada, AST'nin de hem sitozolde hem mitokondride lokalize olduğu, ALT düzeylerinin artışının karaciğer hasarıyla ilişkili olarak daha spesifik olduğu bilinmektedir (125). SKB modelinde karaciğer hasarı ve sonrasında uygulanan tedavi başarısının tespiti için serum aminotransferaz enzimlerinin karaciğer fibrozisi oluşturulan sıçanlarda normal sıçanlara göre yüksek olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (126-130). Çalışmamızda antioksidan, antiinflamatuvar ve antikolestaz etkileri araştırılan enginar ekstrelerinin reseptakulum kısımlarının, 500 mg/kg verilen sıçanlarda SKB'ya bağlı artan aminotransferaz enzimlerini anlamlı olarak düşürdüğü tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, sıçanlarda karaciğer hasarı sonrası artan aminotransferaz enzimlerinin *Cynara scolymus* ekstresi ile düştüğü gösterilmiştir (96, 131, 132). Bu çalışmalarda *Cynara*

scolymus yaprak ekstreleri kullanılmıştır. Bir çalışmada ise *Cynara scolymus* bitkisinin farklı kısımlarından en fazla reseptakulum kısmının (500 mg/kg dozda) aminotransferaz enzimlerini düşürdüğü ortaya konmuştur. Ayrıca SKB sıçan modeli ile yapılan iki çalışmada, enginar yaprağı ekstrelerinin artan transaminaz enzimlerini sırasıyla 320 mg/kg/gün ve 1,5 g/kg/gün dozda düşürdüğü gösterilmiştir (98, 100). Bizim çalışmamızda, SKB sıçan modelinde reseptakulum kısımları ilk defa çalışılmış olup, bu kısım ile ilgili ALT ve AST değerlerinde azalma yaptığı tespit edilmiştir.

Bilirubin, retiküloendoteyal sistemde hemoglobinin yıkımı sonrası ortaya çıkan bir ürün olduğundan çalışmamızda ölçümleri yapılmış ve SF uygulanan SKB grubu sıçanlarda T. bilirubin ve D. bilirubin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. T. bilirubinin enginar ekstrelerinin hem reseptakulum hem de yaprak ekstrelerinin her iki dozunda da T. bilirubini anlamlı seviyede düşürdüğü görülmüştür.

SKB modelinin uygulandığı başka çalışmalarda da kolestazın indüklendiği sıçanlarda, T. bilirubin ve D. bilirubin serum seviyelerinin sham opere gruptaki sıçanlara göre anlamlı düzeyde yükseldiği ortaya konmuştur (129, 130, 133). Bizim çalışmamıza benzer şekilde SKB modeli yapılan sıçanlarda *Cynara scolymus* yaprak ekstresinin artan total bilirubini anlamlı düzeyde düşürdüğü bildirilmiştir (98, 100). Çalışmamızda, SKB sıçan modelinde enginarın artan D. Bilirubine olan etkisi ilk defa çalışılmış olup D. bilirubindeki azalmanın sadece reseptakulum yüksek dozunda anlamlı düzeyde olduğu görülmüştür. Ayrıca şu anki çalışmayla enginarın reseptakulum kısmının etkinliği de ilk defa gösterilmiştir.

Serbest radikaller yüksek oranda kararsız olup, başka moleküllerle kimyasal tepkimelere karşı aktif olan eşleşmemiş elektronları içeren atom, molekül veya iyonlardır. Oksidatif stres elemanlarının üretimi ile nötralizasyonu arasında önemli bir denge mevcuttur. Bu denge oksidatif stres elemanlarının aşırı üretimi lehine bozulursa, hücreler oksidatif stresin olumsuz etkilerine maruz kalır (134). Karaciğer hücresi olan hepatositler de oksidatif strese karşı yetersiz antioksidan enzim aktivitesinde zarar görür ve sonrasında hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinom da dahil olmak üzere birçok karaciğer hastalığı gelişebilir (135). Birçok çalışma, etyolojiden bağımsız olarak oksidatif stres ve inflamasyonun karaciğer fibrozisinin patofizyolojisinde yer aldığını göstermektedir (136). Ayrıca oksidatif stres sonrası ortaya çıkan reaktif oksijen türleri inflamasyona neden olur. Çünkü ROS elemanları inflamatuvar olup, proinflamatuvar genlerin indüklenmesine sebep olmaktadır (137). Oksidatif stresin karaciğer fibrozisindeki etkisi ve rolü ile ilgili mekanizmaların çok daha detaylı ortaya konması oldukça önemlidir. Bu durum,

antioksidan özellikteki terapötik maddelerin daha rasyonel ve akılcı bir zeminde tartışılmasını sağlayacaktır.

Flavonoidler çok çeşitli bitkilerden elde edilen fenolik maddelerdir. Flavonoidlerin antialerjik, antiinflamatuvar ve antioksidan gibi bazı biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (138). Bu nedenle bazı bitkisel ürünlerin antioksidan enzim aktivitelerini arttırarak hepatoprotektif etkiler ortaya koyduğu düşünülmektedir. Vücudumuz enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir. SOD, GPX ve CAT enzimleri hücreyi serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyan temel antioksidan aktiviteye sahip enzimlerdir (139). SKB kolestaz modelinin uygulandığı çalışmalarda bu 3 enzim aktivitesinin sağlıklı sıçanlara göre azaldığı görülmüştür (140-142). Çalışmamızda da benzer şekilde SKB uygulanan sıçanlarda SOD, GPX ve CAT enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma olduğu görülmüştür. GPX'ın, enginar ekstrelerinin hem reseptakulum hem de yaprak ekstrelerinin verildiği her iki dozunda da anlamlı seviyede arttığı, SOD ve CAT'daki artışın ise sadece reseptakulum yüksek dozunda anlamlı olduğu ortaya konmuş olup antioksidan aktiviteyi arttırmada bu ekstraktların etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarı oluşturulan bir çalışmada SOD, CAT ve GPX enzim aktivitelerinin enginar yaprağı ekstresi verilen sıçanlarda anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir (143). Yine bir çalışmada, günlük 400mg/kg dozda enginar yaprağı ekstresinin uygulandığı karragenan pençe ödemi modelinde bu 3 antioksidan enzim aktivitesinin belirgin düzeyde arttığı gösterilmiştir (144). Bir çalışmada ise alfa-amanitin ile indüklenen mantar zehirlenmesinde karaciğer SOD, CAT ve GPX düzeyleri anlamlı düzeyde düşmüş, düşen SOD aktivitesi, 1 mg/kg dozunda enginar yaprak ekstresi tedavisi ile anlamlı düzeyde yükselirken, CAT ve GPX aktivitelerinde artış istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır (145). Bunun nedeni, ekstraksiyonun bir hafta süre ile verilmesi olabilir. Çalışmamıza benzer şekilde *Cynara scolymus* yaprak ekstraktının, SKB kolestaz modeli uygulanan sıçanlarda, 300 mg/kg dozda 10 gün boyunca oral gavajla uygulanması sonrası, azalan GPX'ı anlamlı olarak arttırdığı, çalışmamızdan farklı olarak SOD ve CAT'daki artışın da anlamlı düzeyde olduğu gösterilmiştir. Sözkonusu çalışmada enginarın metanol ekstraksiyonunun total fenolik içeriği $38,03 \pm 0,95$ µg GAE/mg olarak belirtilmiş olup çalışmamızda ise bu değer $36,19 \pm 0,95$ µg GAE/mg olarak tespit edilmiştir (99). Bizim çalışmamızda ayrıca reseptakulum kısmın etkinliği incelendiğinden, fenolik içeriği $11,18 \pm 0,53$ µg GAE/mg olarak bulunmuş olup bu bileşiklerin etkiden diğer bileşiklerle (terpenik vb.) birlikte sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

TGF- β , birçok hastalığın patofizyolojik mekanizmalarında yer alan polipeptid ailesinden bir moleküldür (146). TGF- β , karaciğer hasarı sonrası inflamasyona, siroza ve hepatoselüler karsinoma neden olan hastalıklara katkı sağlamaktadır (147). Yapılan çalışmalarda TGF- β 'nın nöroinflamasyonla birlikte HE'ye neden olduğu ortaya konmuştur (148). Çalışmamızda SF uygulanan SKB grubundaki karaciğer TGF- β seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede arttığı görülmüştür. SKB modelinin uygulandığı başka çalışmalarda da kolestazın neden olduğu karaciğer fibrozisinde, karaciğer dokusu TGF- β seviyelerinin sham opere gruptaki sıçanlara göre anlamlı düzeyde arttığı ortaya konmuştur (149-153). Çalışmamızda düşük doz enginar yaprağı ekstresi verilen sıçanlar hariç; yüksek doz enginar yaprağı ve enginar reseptakulum kısmının her iki dozunun SKB sonrası yükselen karaciğer dokusu TGF- β düzeyini anlamlı seviyede düşürdüğü gösterilmiştir. Yaptığımız çalışma, enginar yaprak ekstresinin karaciğer fibrozisini azaltmada etkili olduğu ve karaciğer TGF- β düzeyindeki azalmanın bunu desteklediği sonucuna varılmıştır.

HP, fibriler kollajenin bileşeni olan önemli bir esansiyel aminoasittir. HP metabolizmasındaki patolojik değişiklikler farklı hastalıkların patofizyolojisinde yer alabilmektedir (154). HP, fibrozis derecesini ve bazı terapötiklerin karaciğer fibrozisindeki olası olumlu etkilerini anlamak için ölçülmekte ve HP düzeyindeki azalma olumlu olarak kabul edilmektedir (155, 157). Çalışmamızda SF uygulanan SKB grubuna ait karaciğer HP seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede arttığı belirlenmiştir. SKB modeli uygulanan diğer çalışmalarda da karaciğer fibrozisi gelişen sıçanların karaciğer dokusunda HP seviyeleri çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (153, 158-161). Çalışmamızda artan karaciğer HP düzeyi, enginarın hem reseptakulum hem yaprak kısımlarının her iki dozunda da kontrol grubuna göre anlamlı seviyede azalmış olması, enginarın reseptakulum ve yaprak kısımlarının karaciğer fibrozisini azalttığını desteklemektedir. Karaciğer fibrozisi ile HP düzeyi ilişkisinin gösterildiği başka çalışmaya literatürde raslanmamıştır.

Proinflamatuvar özellikte olan IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin üretimi, karaciğer inflamasyonuna neden olabilmektedir. Hastalığın ilerlemesinde hasarlı bölgede artan inflamatuvar hücreler kritik rol almaktadır (162). TNF- α , makrofaj ve monositler de dahil olmak üzere çeşitli immun sistem hücreleri tarafından üretilen ve karaciğer fibrozisine yol açan pleiotropik bir sitokindir (163). TNF- α gibi IL-6 da karaciğerde enfeksiyon savunmasında önemli yeri olan diğer bir sitokindir. Fakat bu sitokinlerin sürekli üretimi karaciğer için zararlı olabilmektedir (164). Yapılan bir çalışmada, karbon tetraklorür

toksitesini kaynaklı bir karaciğer fibrozisi modelinde, TNF reseptörü nakavt farelerinde karaciğer fibrozisinde azalma olduğu tespit edilmiştir (165). Bu durum, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin karaciğer fibrozisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Çalışmamızda SKB ile oluşturulan kolestaz sonrası, sıçanlarda karaciğer TNF- α ve IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Enginarın reseptakulum ve yaprak ekstrelerinin her iki dozunun da yükselen TNF- α ve IL-6 karaciğer doku düzeylerini anlamlı seviyede düşürdüğü gösterilmiştir.

Sıçanlarda SKB ile geliştirilen karaciğer fibrozisi modelinin uygulandığı diğer çalışmalarda da TNF- α ve IL6 sitokin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (166-168). Enginar yaprağının hepatoprotektif etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanların kan örneklerinde artan IL6 ve TNF- α düzeylerinin, günlük 150 mg/kg doz enginar yaprağı ekstresi ile anlamlı seviyede düştüğü ortaya konmuştur (169). Başka bir çalışmada, farelerde alkolik yağlı karaciğer hastalığında artan karaciğer dokusu IL6 ve TNF- α sitokin düzeylerinin enginar ile azaldığı gösterilmiştir (170). SKB kolestaz modelinin uygulandığı bir çalışmada da enginar yaprağı ekstraktının günlük 1,5 gr/kg dozda, artan TNF- α 'yı anlamlı düzeyde azalttığı ortaya konmuştur (100). Bu sonuçlar, çalışmamızdaki bulgularla benzer şekilde enginar yaprağının karaciğer hastalıklarında inflamasyonla birlikte artan TNF- α ve IL6 sitokinlerini azalttığını göstermiştir. Çalışmamız enginarın SKB kolestaz modelinde artan karaciğer dokusu IL6 sitokin düzeylerinin ölçülerek değerlendirildiği ilk çalışma olmuştur. Ayrıca bu çalışma ile enginarın reseptakulum kısmının TNF- α ve IL6 sitokin değerleri üzerinden karaciğer fibrozisindeki etkinliği de ilk defa ortaya konmuş oldu.

Karaciğer sirozunun önemli bir komplikasyonu olan HE'nin kesin mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Etyogenezindeki muhtemel sebeplerden birisi de inflamasyondur. Ortaya koyduğumuz çalışmada, SF uygulanan SKB grubuna ait sıçanların beyin dokusu TNF- α ve IL6 sitokin seviyelerinin, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda da SKB kolestaz modeli ile sıçanlarda gelişen HE sonrası beyin IL6 ve TNF- α düzeyleri ölçülmüş ve çalışmamıza benzer şekilde SKB uygulanan hayvanlarda bu düzeylerin yükseldiği tespit edilmiştir (171, 172). Çalışmamızda ayrıca incelenen beyin dokusundaki IL-6 ve TNF- α sitokin miktarları, SKB sonrası artmış, enginarın hem reseptakulum hem yaprak kısımlarının yüksek dozları (500 mg/kg) ile azalmıştır. Başka bir aflatoksin kaynaklı nörotoksisite çalışmasında, enginar yaprağı ekstraktının olası nöroprotektif etkileri beyin TNF- α düzeyi bakılarak araştırılmış ve bu çalışmada beyin TNF- α konsantrasyonunun enginar tedavisi ile anlamlı olarak

azaldığı belirlenmiştir (173). Bizim çalışmamız, enginarın reseptakulum ve yaprak kısımlarının karaciğer fibrozisi ve HE'ye olan etkisini hem karaciğer hem de beyin dokusundaki TNF- α aktivitesi ile ilişkisini inceleyen ilk çalışma olmuştur.

Hücrelerin dış membranında yer alan transmembranal bir pompa olan Na⁺/K⁺ pompası, hücrelerde osmotik denge sağlanarak membran potansiyelinin korunmasını sağlar (174). Na⁺/K⁺-ATPaz pompası, tüm hücrelerde bulunduğu gibi hepatositlerde de bulunur ve hepatosit membranında Na-K dengesini sağlamada görev alır (174). Çalışmamızda, SF uygulanan SKB grubuna ait beyin ve karaciğer dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür. Diğer çalışmalarda da benzer şekilde SKB uygulanan sıçanların beyin ve karaciğer dokularında Na⁺/K⁺-ATPaz seviyelerinin azaldığı ortaya konmuştur (175, 176). Çalışmamızda enginarın reseptakulum kısmının 500 mg/kg dozda uygulandığı sıçanlarda, azalan karaciğer dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir. Enginar yaprak kısmının her iki dozunun uygulandığı sıçanlarda da beyin dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz düzeyi her ne kadar artma gösterse de bu artış anlamlı bulunmamıştır. Parasetamol ile indüklenerek hepatik hasar oluşturulan başka bir çalışmada enginar yaprak ekstresinin 250 mg/kg dozda azalan karaciğer dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz düzeyini anlamlı olarak arttırdığı ortaya konmuştur (143). Bu durum, sözkonusu çalışmada uygulanan *Cynara scolymus* yaprak ekstresinin 58,5 μ g/mL'lik IK₅₀ değeriyle, çalışmamızda kullanılan ve Urla sakız enginarı olarak bilinen enginarın yaprak ekstresi (IK₅₀:133,10 μ g/mL)'nden daha iyi düzeyde DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Ayrıca beyin Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesindeki azalma HE'deki beyin ödeminin sebeplerinden birisi olduğundan, çalışmamızda beyin dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz düzeyleri de ölçülmüştür. Çalışmamızda düşük doz enginar yaprağı ekstresi verilen sıçanlar hariç; yüksek doz enginar yaprağı ve enginar reseptakulum kısmının her iki dozunun beyin dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz düzeyini anlamlı seviyede arttırdığı gösterilmiştir. Enginarın hem reseptakulum hem de yaprak kısımlarının olası hepatoprotektif ve nöroprotektif etkilerinin SKB modelinde karaciğer ve beyin dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz düzeyinin ölçülerek değerlendirildiği başka çalışmaya rastlanmamıştır.

Vücudumuzda antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda, serbest radikaller DNA hasarına yol açarak hasar ürünlerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Birçok metabolik hastalığa, yaşlanmaya, kansere ve DNA yapısında değişikliklere neden olan bu hasar ürünlerinden bir tanesi de mutajenitesi en çok bilinen 8-OHdG'dir (177, 178). 8-OHdG, kronik karaciğer hastalıklarında ve buna bağlı gelişen HE'de oksidatif

stresin sebep olduğu DNA hasarını belirlemede önemli bir belirteç olarak kullanılabilir (179). Çalışmamızda SF uygulanan SKB grubu sıçanlara ait beyin ve karaciğer dokusunda 8-OHdG seviyeleri artmıştır. Benzer çalışmalarda da sıçanlarda SKB'nın tetiklediği karaciğer sirozunda oksidatif stres belirteçlerindeki değişiklikler incelenmiş ve çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde 8-OHdG'nin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (159, 180). Çalışmamızda enginarın reseptakulum kısmının 500 mg/kg günlük dozu artan 8-OHdG düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı seviyede düşürmüştür. Farklı bir streptozosin ile indüklenen diyabetik sıçan modeli yapılan bir çalışmada, günlük 200 mg/kg dozda enginar yaprağı ekstresinin oksidatif hasar sonucu artan üriner 8-OHdG düzeyini düşürdüğü ortaya konmuştur (181). Enginarın reseptakulum ve yaprak kısımlarının karaciğer sirozu ve HE'deki olası antioksidan etkilerinin karaciğer ve beyin 8-OHdG düzeylerine olan etkisi ilk defa çalışılmıştır.

Yaptığımız histolojik incelemelerde sıçanlarda uyguladığımız SKB sonrası, karaciğerde görülen belirgin hasarın enginar yaprağı ekstresi ile azaldığı benzer çalışmalarda da ortaya konmuştur (99, 100). Ancak enginar reseptakulum kısmının hepatoprotektif etkilerinin karaciğer histopatolojisinin bu modelde incelendiği başka çalışmaya raslanmamıştır. Ek olarak çalışmamızda, SKB modeli sonrası enginarın heriki kısmının sıçan beyin dokusundaki etkilerinin histopatolojik incelemesi ilk defa yapılmıştır. Morris su labirenti testi, kemirgen modellerinde uzaysal öğrenme ve hafızanın ele alınarak nörobiyolojik, nörofarmakolojik ve nörobilişsel bozuklukların incelenmesi için kullanılan bir yöntemdir (182). Karaciğer yetmezliği sonrası gelişen ve nöropsikiyatrik bir hastalık olan HE'de de, öğrenme ve hafızadaki bozukluğu değerlendirmek için bu test kullanılmaktadır (183). Çalışmamızda Morris su labirenti testinde; SF uygulanan SKB grubu sıçanların bilişsel performanslarının kontrol grubuna göre azaldığı, hedef kadranda geçirdiği sürenin kısaldığı görülmüştür. SKB kolestaz modelinin uygulandığı diğer çalışmalarda da çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiş, SKB sonrası kolestaza bağlı gelişen HE'de, sıçanların uzaysal öğrenme performansında bozulma olduğu gösterilmiştir (159, 184-186). Enginar ekstresinin HE'deki etkilerinin bu test ile ortaya konduğu çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada, enginarın brakte olarak adlandırılan açmamış çiçekleri ile tüketilen reseptakulumun tümüne ait kısmının, Alzheimer hastalığı modeli uygulanan farelerde; farelerin öğrenme, hafıza ve bilişsel yetenekleri incelenmiş, Morris su labirenti testinde kognitif becerileri ve öğrenmeyi arttırdığı ortaya konmuştur (187). Sıçanlarda bilişsel aktivitenin değerlendirildiği diğer bir yöntem olan yeni obje tanıma testi de hassas ve güvenilir bir yöntemdir (188). HE'deki beyin hasarı ile gelişen bilişsel

aktivitede, sıçanların yeni objeyi tanımada güçlük çektiği ve teste ait fark skor bulgularının düştüğü çalışmamızda ortaya konmuştur. Yapılan bir SKB kolestaz modeli çalışmasında da çalışmamıza benzer şekilde sıçanlarda yeni obje tanıma testi uygulanmış ve sıçanlarda teste ait fark skor bulgularının azaldığı görülmüştür (159). Çalışmamız, enginarın reseptakulum ve yaprak kısımlarının HE'deki nöroprotektif etkilerinin Morris su labirenti ve yeni obje tanıma testi ile incelendiği ilk çalışma olmuştur. Myeloid ve lenfoid bağışıklık hücrelerinin büyük bir kısmını ihtiva eden ve bu bağlamda immün sistemin önemli bir unsuru olan karaciğerde meydana gelen doku hasarı ve enfeksiyon, güçlü proinflamatuvar yanıtları tetikleyebilir. Sistemik inflamasyonun algılanması ve buna verilen yanıtta da merkezi bir rol üstlenen karaciğerdeki oksidatif ve inflamatuvar aktivite dengesindeki bozulma, karaciğer fibrozisinin patofizyolojisini oluşturmaktadır (162). Karaciğerdeki hasarın derecesi ve süresine bağlı olarak, bağışıklık sistemi ve inflamasyonun fizyolojik cevabı hepatik yara iyileşmesi ve karaciğer rejenerasyonu çerçevesinde kalırken, patolojik yanıt karaciğer fibrozisine, siroza ve hepatoselüler karsinomuna ilerleyebilmektedir. Ancak, inflamasyon ve karaciğer fibrozisi arasındaki kompleks ilişkideki olası mekanizmaların, temel düzenleyicilerin ve ilgili yolların yeni çalışmalarla ortaya konması yeni antifibrotik ilaçların keşfi için temel dayanak noktası olacaktır. Ortaya konan çalışmalarda fibrozisin geriye döndürülebildiği görülmekte ve bu durum antifibrotik ilaçların keşfi için umut verici olmaktadır. Birçok tedavi edici yöntemin deneysel karaciğer fibrozisi modellerinde etkili olduğu ortaya konmuş olsa da bu yöntemlerin insanlarda ne kadar güvenli ve etkili olduğu hala kesin olarak bilinmemektedir.

Vücudumuzda oksidan ve antioksidan sistem arasındaki dengeye benzer şekilde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sistem arasında da denge bulunmaktadır. Bu dengenin inflamatuvar süreç yönünde bozulması, antifibrotik ilaçların keşfinde antiinflamatuvar unsurların önemini ortaya koymaktadır. Söz konusu antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilerin fonksiyonunu ortaya koymak amacıyla yaptığımız çalışmada, karaciğer fibrozisi ve buna bağlı gelişen HE'de, enginarın besin olarak tüketilen reseptakulum kısmı ile yaprak kısmının hepatoprotektif ve nöroprotektif etkileri gösterildi. Özellikle reseptakulum kısmının yüksek dozlarında anti-oksidan ve anti-inflamatuvar etkiler karaciğer fibrozisi ve HE'de daha etkili olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Enginarın özellikle reseptakulum kısmının karaciğer fibrozisi ve en sık komplikasyonu olan HE’de yararlı olabileceği gösterilmiştir.
- Enginarın hepatoprotektif etkisi artan SOD, CAT, GPX ve Na⁺/K⁺-ATPaz, azalan ALT, AST, T. bilirubin, D. bilirubin, IL-6, TNF- α , TGF- β , 8-OHdG ve HP değerleri ile ortaya konan antioksidan, antiinflamatuvar ve antikolestatik aktiviteleriyle açıklanabilir.
- Enginar ekstrelerinin beyin dokusundaki antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitesi ile birlikte HE’de görülen bilişsel fonksiyonlarda meydana getirdiği iyileştirme bu etkilerini desteklemektedir.
- Enginar taban yaprağı ve reseptakulum ekstrelerinin, karaciğer fibrozisi ve HE’deki olumlu etkilerinin klinik çalışmalarla desteklenmesi önemlidir.
- Karaciğer fibrozisi, karaciğer sirozu ve buna bağlı olarak gelişen HE’de yeni tedavi geliştirmeye yönelik, çalışmamızda gösterilen etkilerden yola çıkarak enginarın uygun şekilde hazırlanan ekstraktlarının tedavide kullanımına ilişkin ileri çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Mol Aspects Med.* 2019;65:37-55.
2. Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *Turk J Gastroenterol.* 2018;29(1):14.
3. Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives. *Cells.* 2020;9(4):875.
4. Tan Z, Sun H, Xue T, et al. Liver fibrosis: therapeutic targets and advances in drug therapy. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Sep 21;9:730176.
5. Rose CF, Amodio P, Bajaj JS, et al. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *J Hepatol.* 2020;73(6):1526-1547.
6. Disibeyaz S. Hepatik ensefalopati. Available from: <https://guncel.tgv.org.tr/journal/14/pdf/168.pdf> (Erişim tarihi: Ekim 2023)
7. Delire B, Stärkel P, Leclercq I. Animal models for fibrotic liver diseases: what we have, what we need, and what is under development. *J Clin Transl Hepatol.* 2015;3(1):53.
8. Latief U, Ahmad R. Herbal remedies for liver fibrosis: A review on the mode of action of fifty herbs. *J Tradit Complement Med.* 2018;8(3):352-360.
9. Shallan MA, Ali MA, Meshrf WA, Marrez DA. In vitro antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) bracts and receptacles ethanolic extract. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2020;29:101774.
10. Salem MB, Affes H, Ksouda K, et al. Pharmacological studies of artichoke leaf extract and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr.* 2015;70:441-453.
11. Gebhardt R. Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) and of their metabolites. *Med Sci Monit.* 2001;7:316-320.
12. Kalra A, Yetiskul E, Wehrle CJ, Tuma F. Physiology, liver. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/> (Erişim tarihi: Eylül 2023)
13. Zarei A, Noroozi S, Khadem E. A Review on the Structure and Function of Liver from Avicenna Point of View and Its Comparison with Conventional Medicine. *Trad Integr Med.* 2019;4(1):28-36.
14. Hassani M. Liver structure, function, and its interrelationships with other organs: A review. *Int J Dent Med Sci Res.* 2022;4(1):88-92.
15. Dursun M. İkterli Hastaya Güncel Yaklaşım. *Klinik Tıp Bilimleri.* 2017;5(2):13-17.
16. Corrons JLV, Casafont LB, Frasnado EF. Concise review: how do red blood cells born, live, and die? *Ann Hematol.* 2021;100(10):2425-2433.
17. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management. 10th Edition. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2015. Available from: https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=4CMJBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Feldman+M,+Friedman+LS,+Brandt+LJ.+Sleisenger+and+Fordtran%27s+Gastrointestinal+and+Liver+Disease&ots=IW1y56zLeq&sig=5iCmZK9KFZtAXCVi7aHz2bPJc04&redir_esc=y#v=onepage&q=Feldman%20M%2C%20Friedman%20LS%2C%20Brandt%20LJ.%20Sleisenger%20and%20Fordtran's%20Gastrointestinal%20and%20Liver%20Disease&f=false (Erişim tarihi: Eylül 2023)
18. Wu JW, Lin LC, Tsai TH. Drug-drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics. *J Ethnopharmacol.* 2009;121(2):185-193.

19. Fargo MV, Grogan SP, Saguil A. Evaluation of jaundice in adults. *Am Fam Physician*. 2017;95(3):164-168.
20. Batailler R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005;115(2):209-218.
21. Baran B, Karasu Z. Karaciğer sirozu ve komplikasyonları. Available from: <https://www.tkad.org.tr/wp-content/uploads/2021/09/karaciger-sirozu-ve-komplikasyonlari.pdf> (Erişim tarihi: Eylül 2023)
22. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006;44(1):217-231.
23. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-411.
24. Wang Y, Gao J, Zhang D, Zhang J, Ma J, Jiang H. New insights into the antifibrotic effects of sorafenib on hepatic stellate cells and liver fibrosis. *J Hepatol*. 2010;53(1):132-144.
25. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker N. TGF- β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis—updated 2019. *Cells*. 2019;8(11):1419.
26. Dropmann A, Dediulia T, Breitkopf-Heinlein K, et al. TGF- β 1 and TGF- β 2 abundance in liver diseases of mice and men. *Oncotarget*. 2016;7(15):19499.
27. Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2010;16(48):6035.
28. Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis. *J Clin Invest*. 2017;127(1):55-64.
29. Reyes-Gordillo K, Shah R, Muriel P. Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Diseases: Current and Future Therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3140673.
30. Ramos-Tovar E, Muriel P. Molecular mechanisms that link oxidative stress, inflammation, and fibrosis in the liver. *Antioxidants*. 2020;9(12):1279.
31. Wang Z, Zhang S, Xiao Y, et al. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;17;2020:4063562.
32. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatol Int*. 2009;3(4):526-536.
33. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*. 2016;1(1):65-76.
34. Seki E, Schwabe RF. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology*. 2015;61(3):1066-1079.
35. Robinson MW, Harmon C, O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol*. 2016;13(3):267-276.
36. Mederacke I, Hsu CC, Troeger JS, et al. Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology. *Nat Commun*. 2013;4(1):2823.
37. Demir K. Hepatik ensefalopati. Available from: <https://www.tihud.org.tr/uploads/content/kongre/10/10.29.pdf> (Erişim tarihi: Kasım 2023)
38. Ferenci P. Hepatic encephalopathy in adults: Treatment. In: Runyon BA, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate; 2015. Available from: <https://medilib.ir/uptodate/show/1255> (Erişim tarihi: Kasım 2023)
39. Hirode G, Vittinghoff E, Wong RJ. Increasing burden of hepatic encephalopathy among hospitalized adults: an analysis of the 2010–2014 national inpatient sample. *Dig Dis Sci*. 2019;64:1448-1457.
40. Cordoba J, Ventura-Cots M, Simón-Talero M, et al. Characteristics, risk factors, and mortality of cirrhotic patients hospitalized for hepatic encephalopathy with and without acute-on-chronic liver failure (ACLF). *J Hepatol*. 2014;60(2):275-281.
41. Kosenko E, Venediktova N, Kaminsky Y, Montoliu C, Felipe V. Sources of oxygen radicals in the brain in acute ammonia intoxication in vivo. *Brain Res*. 2003;981(1-2):193-200.
42. Van Der Rijt CC, Schalm SW, Schat H, Foeken K, De Jong G. Overt hepatic encephalopathy precipitated by zinc deficiency. *Gastroenterology*. 1991;100(4):1114-1118.
43. Heidari R. Brain mitochondria as potential therapeutic targets for managing hepatic encephalopathy. *Life Sci*. 2019;218:65-80.

44. Layrargues GP, Shapcott D, Spahr L, Butterworth RF. Accumulation of manganese and copper in the pallidum of cirrhotic patients: role in the pathogenesis of hepatic encephalopathy? *Metab Brain Dis.* 1995;10:353-356.
45. Suarez I, Bodega G, Rubio M, Felipe V, Fernandez B. Neuronal and inducible nitric oxide synthase expression in the rat cerebellum following portacaval anastomosis. *Brain Res.* 2005;1047(2):205-213.
46. Dejong CH, Van de Poll MC, Soeters PB, Jalan R, Olde Damink SW. Aromatic amino acid metabolism during liver failure. *J Nutr.* 2007;137(6 Suppl 1):1579-1585.
47. Cudalbu C, Taylor-Robinson SD. Brain Edema in Chronic Hepatic Encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol.* 2019;9(3):362-382.
48. Butterworth RF. Pathogenesis of hepatic encephalopathy and brain edema in acute liver failure. *J Clin Exp Hepatol.* 2015;5(Suppl 1):96-103.
49. Ochoa-Sanchez R, Rose CF. Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2018;8(3):262-271.
50. Montagnese S, Lauridsen M, Vilstrup H, et al. A pilot study of golexanolone, a new GABA-A receptor-modulating steroid antagonist, in patients with covert hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2021;75(1):98-107.
51. Mincheva G, Gimenez-Garzo C, Izquierdo-Altarejos P, et al. Golexanolone, a GABAA receptor modulating steroid antagonist, restores motor coordination and cognitive function in hyperammonemic rats by dual effects on peripheral inflammation and neuroinflammation. *CNS Neurosci Ther.* 2022;28(11):1861–1874.
52. Butterworth RF, Spahr L, Fontaine S, Layrargues GP. Manganese toxicity, dopaminergic dysfunction and hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 1995;10:259-267.
53. Torres DS, Abrantes J, Brandão-Mello CE. The Neurobiology of Hepatic Encephalopathy. In: *Liver Disease and Surgery.* London, United Kingdom: IntechOpen; 2019. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/67158> (Erişim tarihi: Kasım 2023)
54. Palomero-Gallagher N, Zilles K. Neurotransmitter receptor alterations in hepatic encephalopathy: a review. *Arch Biochem Biophys.* 2013;536(2):109-121.
55. Van Kralingen C, Kho DT, Costa J, Angel CE, Graham ES. Exposure to inflammatory cytokines IL-1 β and TNF α induces compromise and death of astrocytes; implications for chronic neuroinflammation. *PLoS One.* 2013;8(12):e84269.
56. Hadjihambi A, Arias N, Sheikh M, Jalan R. Hepatic encephalopathy: a critical current review. *Hepatol Int.* 2018;12:135-147.
57. Weiss N, Barbier Saint Hilaire P, Colsch B, et al. Cerebrospinal fluid metabolomics highlights dysregulation of energy metabolism in overt hepatic encephalopathy. *J Hepatol.* 2016;65(6):1120–1130.
58. Holtmann TM, Inzaugarat ME, Knorr J, et al. Bile acids activate NLRP3 inflammasome, promoting murine liver inflammation or fibrosis in a cell type-specific manner. *Cells.* 2021;10(10):2618.
59. García-Martínez R, Diaz-Ruiz R, Poncela M. Management of hepatic encephalopathy associated with advanced liver disease. *Clin Drug Investig.* 2022;42(Suppl 1):5-13.
60. Ciećko-Michalska I, Szczepanek M, Słowik A, Mach T. Pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Res Pract.* 2012;642108.
61. Çadırcı K, Cerrah S. Hepatik Ensefalopatili Hastalarımızda Presipitan Faktörlerin Değerlendirilmesi. *Fırat Tıp Dergisi.* 2019;24(2):75-79.
62. Sharma K, Akre S, Chakole S, Wanjari MB. Hepatic Encephalopathy and Treatment Modalities: A Review Article. *Cureus.* 2022;14(8),e28016.
63. Poh Z, Chang PE. A current review of the diagnostic and treatment strategies of hepatic encephalopathy. *Int J Hepatol.* 2012;2012:480309.
64. Mullen KD, Sanyal AJ, Bass NM, et al. Rifaximin is safe and well tolerated for long-term maintenance of remission from overt hepatic encephalopathy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(8):1390-1397.
65. Bajaj JS. Potential mechanisms of action of rifaximin in the management of hepatic encephalopathy and other complications of cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016;43:11-26.

66. Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med*. 2010;362(12):1071-1081.
67. Sharma BC, Singh J, Srivastava S, et al. Randomized controlled trial comparing lactulose plus albumin versus lactulose alone for treatment of hepatic encephalopathy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017;32(6):1234-1239.
68. Sidhu SS, Sharma BC, Goyal O, Kishore H, Kaur N. L-ornithine L-aspartate in bouts of overt hepatic encephalopathy. *Hepatology*. 2018;67(2):700-710.
69. Esin K, Bingöl FN, Akbulut G. Kronik karaciğer hastalıklarında tıbbi beslenme tedavisi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2017;6(4):334-347.
70. Subash S, Subramanian P. Effect of morin on the levels of circulatory liver markers and redox status in experimental chronic hyperammonaemic rats. *Singapore Med J*. 2008;49(8):650-655.
71. Baek SY, Lee EH, Oh TW, et al. Network Pharmacology-Based Approaches of Rheum undulatum Linne and Glycyrriza uralensis Fischer Imply their Regulation of Liver Failure with Hepatic Encephalopathy in Mice. *Biomolecules*. 2020;10(3):437.
72. Jones EA, Weissenborn K. Neurology and the liver. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;63(3):279–293.
73. Goh ET, Andersen ML, Morgan MY, Gluud LL. Flumazenil versus placebo or no intervention for people with cirrhosis and hepatic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7(7):CD002798.
74. Chavez-Tapia NC, Cesar-Arce A, Barrientos-Gutiérrez T, Villegas-López FA, Méndez-Sánchez N, Uribe M. A systematic review and meta-analysis of the use of oral zinc in the treatment of hepatic encephalopathy. *Nutr J*. 2013;12:74.
75. Kornerup LS, Gluud LL, Vilstrup H, Dam G. Update on the Therapeutic Management of Hepatic Encephalopathy. *Curr Gastroenterol Rep*. 2018;20(5):21.
76. Ahboucha S, Pomier-Layrargues G, Mamer O, Butterworth RF. Increased levels of pregnenolone and its neuroactive metabolite allopregnanolone in autopsied brain tissue from cirrhotic patients who died in hepatic coma. *Neurochem Int*. 2006;49(4):372-378.
77. Leke R, Bak LK, Iversen P, et al. Synthesis of neurotransmitter GABA via the neuronal tricarboxylic acid cycle is elevated in rats with liver cirrhosis consistent with a high GABAergic tone in chronic hepatic encephalopathy. *J Neurochem*. 2011;117(5):824-832.
78. Bosoi CR, Parent-Robitaille C, Anderson K, Tremblay M, Rose CF. AST-120 (spherical carbon adsorbent) lowers ammonia levels and attenuates brain edema in bile duct-ligated rats. *Hepatology*. 2011;53(6):1995-2002.
79. Ventura-Cots M, Concepción M, Arranz JA, et al. Impact of ornithine phenylacetate (OCR-002) in lowering plasma ammonia after upper gastrointestinal bleeding in cirrhotic patients. *Ther Adv Gastroenterol*. 2016;9(6):823-835.
80. Weiss N, Tripon S, Lodey M, et al. Treating hepatic encephalopathy in cirrhotic patients admitted to ICU with sodium phenylbutyrate: a preliminary study. *Fundam Clin Pharmacol*. 2018;32(2):209-215.
81. Stickel F, Hellerbrand C. Herbs to treat liver diseases: More than placebo? *Clin Liver Dis*. 2015;6(6):136.
82. De Smet PA. Herbal remedies. *N Engl J Med*. 2002;347(25):2046-2056.
83. Ghosh N, Ghosh R, Mandal V, Mandal SC. Recent advances in herbal medicine for treatment of liver diseases. *Pharm Biol*. 2011;49(9):970-988.
84. Sharma P, Verma PK, Pankaj NK, Agarwal S. The Phytochemical Ingredients and Therapeutic Potential of *Cynara scolymus* L. *Pharm and Biomed Res*. 2021;7(3):141-160.
85. Aksu Ö, Altinterim B. Hepatoprotective effects of artichoke (*Cynara scolymus*). *Bilim ve Gençlik Dergisi*. 2013;1(2):44-49.
86. Ozsan T, Onus AN. A protocol on in vitro rooting of 'Bayrampaşa' artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Mediterr Agric Sci*. 2019;32(2):129-134.
87. Ersin Ş. Bizans sanatında yemek sahneleri [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: Mimar Sinan Üniversitesi Güzel Sanatlar Fakültesi; 2011.

88. Esiyok D, Akcicek E, Ozturk B. ENGİNAR, Kalbi Olan Lezzet ve Sağlık Sebzesi. Available from: <https://itb.org.tr/i/dosya/yayin/enginar-kalbi-olan-lezzet-ve-saglik-sebzesi.pdf> (Erişim tarihi: Eylül 2023)
89. Negro D, Montesano V, Grieco S, et al. Polyphenol compounds in artichoke plant tissues and varieties. *J Food Sci.* 2012;77(2):244-252.
90. Gezer C. Potential health effects of the popular compound of artichoke: Cynarin. *Prog Nutr.* 2017;19:5-9.
91. Adzet T, Camarasa J, Laguna JC. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes. *J Nat Prod.* 1987;50(4):612-617.
92. De Falco B, Incerti G, Amato M, Lanzotti V. Artichoke: Botanical, agronomical, phytochemical, and pharmacological overview. *Phytochemistry reviews.* 2015;14:993-1018.
93. Eid HM, Haddad PS. *Cynara scolymus* leaf extract stimulates adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes and suppresses hepatic glucose output in H4IIE hepatocytes. *Can J Diabetes.* 2013;37-59.
94. Miccadei S, Venere D, Cardinali A, et al. Antioxidative and apoptotic properties of polyphenolic extracts from edible part of artichoke (*Cynara scolymus* L.) on cultured rat hepatocytes and on human hepatoma cells. *Nutr Cancer.* 2008;60:276-283.
95. Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997;144(2):279-86.
96. Ben Salem M, Ksouda K, Dhouibi R, et al. LC-MS/MS Analysis and Hepatoprotective Activity of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Leaves Extract against High Fat Diet-Induced Obesity in Rats. *Biomed Res Int.* 2019;2019:4851279.
97. Kaymaz MB, Kandemir FM, Pamukçu E, Eröksüz Y, Özdemir N. Effects of aqueous artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract on hepatic damage generated by alpha-amanitine. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 2017;23(1):155-160.
98. Neveen ME, Noha MI. The Possible Anti-fibrotic Effect of Artichoke on the Liver and Heart of Bile Duct Ligation Rat Model. *Anatomy Physiol Biochem Int J.* 2017;2(1):555577.
99. Celepli S, Çolak B, Celepli P, et al. Artichoke for biochemistry, histology, and gene expression in obstructive jaundice. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2022;68(5):647-652.
100. Adawı A. Sıçanlarda safra yolu ligasyonunun karaciğerde oluşturduğu hasar ve bu hasarın *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, kolşisin ve pioglitazon ile önlenmesine yönelik yaklaşımlar: Üç boyutlu mikroskopik bir çalışma [Doktora Tezi]. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2022.
101. El Sayed AM, Hussein R, Motaal AA, Fouad MA, Aziz MA, El-Sayed A. Artichoke edible parts are hepatoprotective as commercial leaf preparation. *Rev Bras Farmacogn.* 2018;28:165-178.
102. Sümer E, Senturk GE, Demirel ÖU, Yesilada E. Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *Cynara scolymus* against liver and kidney damages. *J Ethnopharmacol.* 2020;249:112458.
103. Shallen MA, Ali MA, Meshrf WA, Marrez DA. In vitro antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) bracts and receptacles ethanolic extract. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2020;29:101774.
104. Rodriguez TS, Giménez DG, De la Puerta Vázquez R. Choleretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine.* 2002;9(8):687-693.
105. Ben Salem M, Ben Abdallah Kolsi R, Dhouibi R, et al. Protective effects of *Cynara scolymus* leaves extract on metabolic disorders and oxidative stress in alloxan-diabetic rats. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17(1):328.
106. Zou Y, Chang SKC, Gu Y, Qian SY. Antioxidant Activity and Phenolic Compositions of Lentil (*Lens culinaris* var. Morton) Extract and Its Fractions. *J Agric Food Chem.* 2011;59(6):2268-2276.
107. Gao X, Ohlander M, Jeppsson N, Björk L, Trajkovski V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *J Agric Food Chem.* 2000;48(5):1485-1490.
108. Yıldırım A, Ali Şen E, Doğan A, Bitis L. Antioxidant and anti-inflammatory activity of capitula, leaf and stem extracts of *Tanacetum cilicicum* (Boiss.) Grierson. *Int J Sec Met.* 2019;6(2):211-222.

109. Fayed AM, Mansour DF, Saleh DO. Progression of hepatic encephalopathy induced by bile duct ligation versus thioacetamide in rats: Regulatory role of apigenin. *J Appl Pharm Sci.* 2021;11(12):158-168.
110. Criado M, Flores O, Ortiz MC, et al. Elevated glomerular and blood mononuclear lymphocyte nitric oxide production in rats with chronic bile duct ligation: role of inducible nitric oxide synthase activation. *Hepatology.* 1997;26(2):268-276.
111. Arabaci Tamer S, Yildirim A, Köroğlu MK, Çevik Ö, Ercan F, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 ameliorates testicular injury and supports gonadal function in rats induced with testis torsion. *Peptides.* 2018;107:1-9.
112. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc.* 2006;1(2):848-858.
113. Babur E, Tan B, Yıldız N, Batakçı M, Süer C, Dursun N. Hipotiroidili sıçanlarda uzamsal öğrenme performansında cinsiyet bağımlı farklılıklar. *Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2017;26(3):233-239.
114. Lueptow LM. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments).* 2017;(126):e55718.
115. Bevins RA, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nat Protoc.* 2006;1(3):1306-1311.
116. Huang TN, Hsueh YP. Novel object recognition for studying memory in mice. *Bio-protocol.* 2014;4(19):e1249.
117. Gordillo M, Evans T, Gouon-Evans V. Orchestrating liver development. *Development.* 2015;142(12):2094-2108.
118. Madrigal-Santillán E, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I, et al. Review of natural products with hepatoprotective effects. *World J Gastroenterol.* 2014;20(40):14787.
119. Ma X, Jiang Y, Wen J, Zhao Y, Zeng J, Guo Y. A comprehensive review of natural products to fight liver fibrosis: alkaloids, terpenoids, glycosides, coumarins and other compounds. *Eur J Pharmacol.* 2020;888:173578.
120. Pan X, Ma X, Jiang Y, et al. A Comprehensive Review of Natural Products against Liver Fibrosis: Flavonoids, Quinones, Lignans, Phenols, and Acids. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020;2020:7171498.
121. Wu H, Chen C, Ziani S, et al. Fibrotic Events in the Progression of Cholestatic Liver Disease. *Cells.* 2021;10(5):1107.
122. Marques TG, Chaib E, da Fonseca JH, et al. Review of experimental models for inducing hepatic cirrhosis by bile duct ligation and carbon tetrachloride injection. *Acta Cir Bras.* 2012;27(8):589-594.
123. Oruc MT, Özmen MM, Han U. A new technique for inducing and releasing obstructive jaundice in rats. *Eur Surg Res.* 2009;43(4):354-359.
124. Gedik N, Kabasakal L, Şehirli O, et al. Long-term administration of aqueous garlic extract (AGE) alleviates liver fibrosis and oxidative damage induced by biliary obstruction in rats. *Life Sci.* 2005;76(22):2593-2606.
125. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ.* 2005;172(3):367-379.
126. Zhen YZ, Li NR, He HW, et al. Protective effect of bicyclol against bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats. *World J Gastroenterol.* 2015;21(23):7155-7164.
127. Nam Y, Ko SK, Sohn UD. Hepatoprotective effect of ultrasonicated ginseng berry extract on a rat mild bile duct ligation model. *J Ginseng Res.* 2019;43(4):606-617.
128. Şener G, Kabasakal L, Şehirli Ö, Ercan F, Gedik N. 2-Mercaptoethane sulfonate (MESNA) protects against biliary obstruction-induced oxidative damage in rats. *Hepatology Research.* 2006;35(2):140-146.
129. Sheen JM, Chen YC, Hsu MH, et al. Melatonin alleviates liver apoptosis in bile duct ligation young rats. *Int J Mol Sci.* 2016;17(8):1365.
130. Hsu MH, Chen YC, Sheen JM, Li SW, Huang LT. Melatonin prevented spatial deficits and increases in brain asymmetric dimethylarginine in young bile duct ligation rats. *Neuroreport.* 2018;29(7):541.
131. Colak E, Ustuner MC, Tekin N, et al. The hepatocurative effects of *Cynara scolymus* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injury in rats. *Springerplus.* 2016;5:216.

132. Aktay G, Deliorman D, Ergun E, Ergun F, Yeşilada E, Cevik C. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000;73(1-2):121-129.
133. Tarcin O, Basaranoglu M, Tahan V, et al. Time course of collagen peak in bile duct-ligated rats. *BMC Gastroenterol*. 2011;11:45.
134. Karakan M, Nazlıkul H. Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi*. 2017;11(2):7-11.
135. Watafua M, Ejiofor JI, Musa A, Ahmad MH. *Acacia sieberiana* (Fabaceae) attenuates paracetamol and Bile Duct Ligation-Induced hepatotoxicity via modulation of biochemical and oxidative stress biomarkers. *Front Pharmacol*. 2022;13:959661.
136. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2016;4(1).
137. Ko EY, Cho SH, Kwon SH, et al. The roles of NF-κB and ROS in regulation of pro-inflammatory mediators of inflammation induction in LPS-stimulated zebrafish embryos. *Fish Shellfish Immunol*. 2017;68:525-529.
138. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 2000;63(7):1035-1042.
139. Aslankoç R, Demirci D, İNAN Ü, et al. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2019;26(3):362-369.
140. Fahmy SR. Anti-fibrotic effect of *Holothuria arenicola* extract against bile duct ligation in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2015;15(1):1-12.
141. Orellana M, Rodrigo R, Thielemann L, Guajardo V. Bile duct ligation and oxidative stress in the rat: effects in liver and kidney. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2000;126(2):105-111.
142. Nasehi Z, Kheiripour N, Taheri MA, Ardjmand A, Jozi F, Shahaboddin ME. Efficiency of Hesperidin against Liver Fibrosis Induced by Bile Duct Ligation in Rats. *Biomed Res Int*. 2023;2023:5444301.
143. Ali ZY, Atia HA, Ibrahim NH. Possible hepatoprotective potential of *Cynara scolymus*, *Cupressus sempervirens* and *Eugenia jambolana* against paracetamol-induced liver injury: in-vitro and in-vivo evidence. *Nat Sci*. 2010;10:75-86.
144. Ben Salem M, Affes H, Athmouni K, et al. Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:4951937.
145. Kaymaz MB. Alfa-amanitin ile oluşturulmuş mantar toksisitesi ve enginarın (*cynara scolymus*) bu toksisite üzerine etkileri [Yüksek Lisans Tezi]. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2015.
146. Tzavlaki K, Moustakas A. TGF-β Signaling. *Biomolecules*. 2020;10(3):487.
147. Dooley S, Ten Dijke P. TGF-β in progression of liver disease. *Cell Tissue Res*. 2012;347(1):245-256.
148. McMillin M, Grant S, Frampton G, et al. Elevated circulating TGFβ1 during acute liver failure activates TGFβR2 on cortical neurons and exacerbates neuroinflammation and hepatic encephalopathy in mice. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):69.
149. Chilvery S, Bansod S, Saifi MA, Godugu C. Piperlongumine attenuates bile duct ligation-induced liver fibrosis in mice via inhibition of TGF-β1/Smad and EMT pathways. *Int Immunopharmacol*. 2020;88:106909.
150. Kong R, Wang N, Luo H, Lu J. Hesperetin mitigates bile duct ligation-induced liver fibrosis by inhibiting extracellular matrix and cell apoptosis via the TGF-β1/Smad pathway. *Curr Mol Med*. 2018;18(1):15-24.
151. Zepeda-Morales AS, Del Toro-Arreola S, García-Benavides L, et al. Liver fibrosis in bile duct-ligated rats correlates with increased hepatic IL-17 and TGF-β2 expression. *Ann Hepatol*. 2016;15(3):418-426.
152. Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, et al. Curcumin prevents and reverses cirrhosis induced by bile duct obstruction or CCl4 in rats: role of TGF-beta modulation and oxidative stress. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22(4):417-427.
153. Abdelfattah AM, Mahmoud SS, El-Wafaey DI, Abdelgeleel HM, Abdelhamid AM. Diacerein ameliorates cholestasis-induced liver fibrosis in rat via modulating HMGB1/RAGE/NF-κB/JNK pathway and endoplasmic reticulum stress. *Sci Rep*. 2023;13(1):11455.

154. Srivastava AK, Khare P, Nagar HK, Raghuwanshi N, Srivastava R. Hydroxyproline: a potential biochemical marker and its role in the pathogenesis of different diseases. *Curr Protein Pept Sci*. 2016;17(6):596-602.
155. Seedorf K, Weber C, Vinson C, et al. Selective disruption of NRF2-KEAP1 interaction leads to NASH resolution and reduction of liver fibrosis in mice. *JHEP Rep*. 2022;5(4):100651.
156. Mu M, Zuo S, Wu RM, et al. Ferulic acid attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation via inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:109-117.
157. Ye Q, Zhou Y, Zhao C, Xu L, Ping J. Salidroside inhibits CCl₄-induced liver fibrosis in mice by reducing activation and migration of HSC induced by liver sinusoidal endothelial cell-derived exosomal SphK1. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:677810.
158. Pereira RM, dos Santos RA, Oliveira EA, et al. Development of hepatorenal syndrome in bile duct ligated rats. *World J Gastroenterol*. 2008;14(28):4505-4511.
159. Albayrak Ö. Safra Kanalı Bağlama Yöntemi İle Oluşturulan Karaciğer Fibrozuna ve Beyin Hasarına Karşı Küsküt (*Cuscuta Sp.*) Bitkisinin Etkinliğinin Araştırılması [Doktora Tezi]. İstanbul: Marmara Üniversitesi; 2022.
160. Tian X, Zhao C, Guo J, et al. Carvedilol attenuates the progression of hepatic fibrosis induced by bile duct ligation. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4612769.
161. Chen L, Zhou T, Wu N, et al. Pinealectomy or light exposure exacerbates biliary damage and liver fibrosis in cholestatic rats through decreased melatonin synthesis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(6):1525-1539.
162. Anapalı M, Balkan E. Karaciğer Fibrozisinde Sitokinlerin Rolü. *Kafkas Journal of Medical Sciences*. 2021;11(1):111-22.
163. Yang YM, Seki E. TNF α in liver fibrosis. *Curr Pathobiol Rep*. 2015;3(4):253-261.
164. Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J Hepatol*. 2016;64(6):1403-1415.
165. Sudo K, Yamada Y, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. Lack of tumor necrosis factor receptor type 1 inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Cytokine*. 2005;29(5):236-244.
166. Şehirli AÖ, Kökeş A, Velioglu-Öğünç A, et al. The effects of spironolactone in preventing bile duct ligation-induced hepatitis in a rat model. *Iran J Pharm Res*. 2021;20(2):35-44.
167. Gabbia D, Pozzo L, Zigiutto G, et al. Dexamethasone counteracts hepatic inflammation and oxidative stress in cholestatic rats via CAR activation. *PLoS One*. 2018;13(9):e0204336.
168. Tung HC, Lee FY, Wang SS, et al. The beneficial effects of P2X7 antagonism in rats with bile duct ligation-induced cirrhosis. *PLoS One*. 2015;10(5):e0124654.
169. Mocelin R, Marcon M, Santo GD, et al. Hypolipidemic and antiatherogenic effects of *Cynara scolymus* in cholesterol-fed rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2016;26:233-239.
170. Wang Y, He B, Zhang L, Zhu R, Huang L. Physicochemical properties of superfine grinding-microwave modified artichoke soluble dietary fiber and their alleviation of alcoholic fatty liver in mice. *Front Nutr*. 2023;10:1253963.
171. Claeys W, Van Hoecke L, Geerts A, et al. A mouse model of hepatic encephalopathy: bile duct ligation induces brain ammonia overload, glial cell activation and neuroinflammation. *Sci Rep*. 2022;12(1):17558.
172. Wright G, Davies NA, Shawcross DL, et al. Endotoxemia produces coma and brain swelling in bile duct ligated rats. *Hepatology*. 2007;45(6):1517-26.
173. Ibrahim EA, Yousef MI, Ghareeb DA, et al. Artichoke leaf extract-mediated neuroprotection against effects of aflatoxin in male rats. *BioMed Res Int*. 2022.
174. Pivovarov AS, Calahorra F, Walker RJ. Na⁺/K⁺-pump and neurotransmitter membrane receptors. *Invert Neurosci*. 2018;19(1):1.
175. Toklu H, İnac TA, Şehirli A, Şener G. The protective effect of *Nigella sativa* oil in the brain of the biliary obstructed rats. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2013;17(1):46-51.
176. Muriel P. Interferon- α preserves erythrocyte and hepatocyte ATPase activities from liver damage induced by prolonged bile duct ligation in the rat. *J Appl Toxicol*. 1995;15(6):449-453.

- 177.Ercan N, Fidanci UR. Oksidatif DNA hasar ürünleri ve hastalıklar. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2012(2):40-57.
- 178.Graille M, Wild P, Sauvain JJ, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB. Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3743.
- 179.Kitada T, Seki S, Iwai S, Yamada T, Sakaguchi H, Wakasa K. In situ detection of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in chronic human liver disease. *J Hepatol.* 2001;35(5):613-618.
- 180.Huang YT, Hsu YC, Chen CJ, Liu CT, Wei YH. Oxidative-stress-related changes in the livers of bile-duct-ligated rats. *J Biomed Sci.* 2003;10(2):170-178.
- 181.Magielse J, Verlaet A, Breynaert A, et al. Investigation of the in vivo antioxidative activity of *Cynara scolymus* (artichoke) leaf extract in the streptozotocin-induced diabetic rat. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(1):211-215.
- 182.Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp.* 2011;(53):e2920.
- 183.Cheng L, Wang X, Ma X, Xu H, Yang Y, Zhang D. Effect of dihydromyricetin on hepatic encephalopathy associated with acute hepatic failure in mice. *Pharm Biol.* 2021;59(1):555-562.
- 184.Huang LT, Tiao MM, Tain YL, Chen CC, Hsieh CS. Melatonin ameliorates bile duct ligation-induced systemic oxidative stress and spatial memory deficits in developing rats. *Pediatr Res.* 2009;65(2):176-180.
- 185.Huang LT, Chen CC, Sheen JM, Chen YJ, Hsieh CS, Tain YL. The interaction between high ammonia diet and bile duct ligation in developing rats: assessment by spatial memory and asymmetric dimethylarginine. *Int J Dev Neurosci.* 2010;28(2):169-174.
- 186.Baghbaderani S, Hashemi M, Ebrahimi-Ghiri M, Zarrindast MR, Nasehi M, Entezari M. Curcumin prevents cognitive deficits in the bile duct ligated rats. *Psychopharmacology.* 2020;237:3529-3537.
- 187.El-Nashar HA, Abbas H, Zewail M, et al. Neuroprotective effect of artichoke-based nanoformulation in sporadic Alzheimer's disease mouse model: focus on antioxidant, anti-inflammatory, and amyloidogenic pathways. *Pharmaceuticals.* 2022;15(10):1202.
- 188.Mathiasen JR, DiCamillo A. Novel object recognition in the rat: a facile assay for cognitive function. *Curr Protoc Pharmacol.* 2010;49(1):5-59.
- 189.Li S, Tan HY, Wang N, et al. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015;16(11):26087-26124.

EKLER

EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU

 İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (İMÜ-HADYEK) KARAR FORMU		
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Berna TERZİOĞLU BEBİTOĞLU	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Safra Kanalı Bağlama ile Karaciğer Fibrozu oluşturulan sıçanlarda <i>Cynara scolymus</i> bitki ekstresinin olası koruyucu etkilerinin incelenmesi	
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL NO	0017	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023/1-1	Karar Tarihi: 18.01.2023
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.	

EK 2: İNTİHAL RAPORU

SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE KARACİĞER FİBROZU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA CYNARA SCOLYMUS BİTKİ EKSTRELERİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

18%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

- | | | |
|---|---|-----------------|
| 1 | acikbilim.yok.gov.tr
Internet | 1281 words — 7% |
| 2 | Albayrak, Ömercan. "Safra Kanalı Bağlama Yöntemi İle Oluşturulan Karaciğer Fibrozuna ve Beyin Hasarına Karşı Küsküt (Cuscuta Sp.) Bitkisinin Etkinliğinin Araştırılması", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023
ProQuest | 937 words — 5% |
| 3 | tip.medeniyet.edu.tr
Internet | 83 words — < 1% |
| 4 | acikerisim.uludag.edu.tr
Internet | 72 words — < 1% |
| 5 | Adakul, Betül Ayaz. "Platanus orientalis (Çınar Ağacı) Bitkisinin Üriner Sistem Taş Hastalığı Üzerine Etkisi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2022
ProQuest | 66 words — < 1% |
| 6 | dergipark.org.tr
Internet | 61 words — < 1% |
| 7 | 9lib.net
Internet | |