

***HYPERICUM PERFORATUM*'UN HEPATOPROTEKTİF
ETKİLERİ.**

Süleyman AYDIN

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Farmakoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Yusuf ÖZTÜRK

Eylül-1990

Süleyman AYDIN'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "*HYPERICUM PERFORATUM*'UN HEPATOPROTEKTİF ETKİLERİ" başlıklı bu çalışma jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

.../.../....

Üye :

Üye :

Üye :

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TESEKKÜR	viii
SEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİS VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karaciğerin Morfolojisi ve Hepatik Yapı	2
2.1.1. Karaciğerin Morfolojisi	2
2.1.2. Karaciğerin Lenf, Damar ve Sinirleri	3
2.1.3. Hepatik Yapı ve Hepatositler	4
2.1.4. Ekstrahepatik Safra Kanalları	8
2.2. Karaciğerin Fonksiyonları	8
2.2.1. Vasküler İşlevler	8
2.2.1.1. Karaciğerde Kan Akışı	8
2.2.1.2. Hepatik Damarlarda Basınç ve Rezistans	8
2.2.1.3. Karaciğerde Kan Depolanması	8
2.2.1.4. Karaciğerde Lenfatik Akış, Karaciğer Terlemesi ve Asit Oluşumu	9
2.2.2. Sekestrasyon ve Ekskresyon	9
2.2.2.1. Safra Tuzları	9
2.2.2.2. Safra Tuzlarının Enterohepatik Döngüsü	10

	<u>Sayfa</u>	
2.2.2.3.	Bilirubin Atılması	10
2.2.3.	Karaciğerin Metabolik İşlevleri	11
2.2.3.1.	Karbohidrat Metabolizması	11
2.2.3.2.	Yağ Metabolizması	11
2.2.3.3.	Protein Metabolizması	11
2.2.3.4.	Karaciğerin Diğer Metabolik İşlevleri	12
2.2.3.4.1.	Vitamin Depolanması	12
2.2.3.4.2.	Karaciğer-Koagulasyon İlişkisi	12
2.2.3.4.3.	Demir Depolanması	12
2.2.3.4.4.	Karaciğerde Eliminasyon İşlemleri	13
2.3.	Farmakolojik Açından Karaciğer	13
2.3.1.	Ekskresyon	13
2.3.2.	İlaç Biyotransformasyonu	13
2.3.3.	Sitokrom P-450 Enzimleri	16
2.4.	Hepatotoksisite	17
2.4.1.	Hepatosellüler Reaksiyonlar	17
2.4.1.1.	Parasetamol	17
2.4.1.2.	Karbon tetraklorür (CCl ₄) ve Hepatotoksisite Mekanizması	19
2.4.1.3.	Halotan	19
2.4.1.4.	Hidrazinler	20
2.4.2.	Hepatokarsinojen Ajanlar	20
2.4.3.	Bitkisel Kökenli Hepatosellüler ve Hepatokarsinojen Etkili Kimyasal Bileşikler	20
2.5.	Hepatoprotektivite ve Hepatoprotektif Maddeler	23
2.6.	<i>Hypericum perforatum</i> L. (Sarı Kantaron)	26

	<u>Sayfa</u>
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	30
3.1. Kullanılan Malzeme ve Kimyasal Maddeler	30
3.1.1. Malzemeler	30
3.1.2. Kimyasal Maddeler	30
3.2. Deney Hayvanları	30
3.3. Bitkinin Toplanması ve Ekstraksiyonu	30
3.4. Safra Akışı ve Karaciğer Ağırlığı	31
3.5. İnce Tabaka Kromatografi (İTK) Analizi	31
3.6. Barbitürat Uyku Zamanı Deneyleri	31
3.7. Farelerin Genel Durum ve Davranışları	32
3.8. İstatistik Analizler	32
4. BULGULAR	33
4.1. Safra Akışı ve Karaciğer Ağırlığı	33
4.2. İnce Tabaka Kromatografisi Bulguları	33
4.3. Barbitürat Uyku Zamanı Deneyleri	33
4.4. Diğer Bulgu ve Gözlemler	33
5. TARTIŞMA	40
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	43

ÖZGEÇMİŞ

ÖZET

Hepatoprotektif etkili çeşitli bitki ve bitkisel kaynaklı kimyasal bileşiklere olan ilgi, son yıllarda giderek artmaktadır. Halk tababetinde karaciğeri koruyucu etkisi de dahil olmak üzere, çeşitli amaçlarla kullanılan *Hypericum perforatum* L. (Sarı Kantaron, Binbirdelikotu, Yaraotu)'un, bu çalışmada hepatoprotektif etkisi araştırılmıştır. *In vivo* olarak, sıçanlarda safra akışı, safra kanalı kanüle edilerek ölçülmüş, fareler üzerinde barbiturat uyku deneyleri ile karaciğer harabiyeti üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. *Hypericum perforatum* L. ekstrelerinin sıçanlara intraduodenal enjeksiyonla verildikten sonra önemli düzeyde safra akışını artırdığı ve ekstre içindeki bileşiklerin safraya geçerek safra rengini değiştirdiği, yapılan İTK analizinde, bu bileşiğin "hiperisin" olduğu bulunmuştur. Fareler üzerinde sedatif etkili olduğu ve barbiturat uyku zamanını azaltarak, karaciğer üzerinde koruyucu olduğu gözlenmiştir. Çeşitli ülkelerin halk tababetlerinde antitümoral olduğu ve son yıllarda antiviral ve anti-AIDS etkinliği de bildirilen Hyp'nin, etki mekanizması tartışılmış, sitokinler ve immun sistem ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hepatoprotektif, Antihepatotoksik, *Hypericum perforatum*, Sarı Kantaron, Binbirdelikotu, Yaraotu, Karaciğer, Safra, Hiperisin.

SUMMARY

In recent years, the interest in the hepatoprotective plants and plant based chemicals is increasing. The hepatoprotective activity of *Hypericum perforatum* L. named as "Binbirdelikotu", "Yaraotu" or "Sarı Kantaron" and used for various diseases including liver protection was investigated in this study. Its effects on liver is examined *in vivo* by cannulating the rat bile duct for choleric activity and by barbiturate sleeping time following CCl₄-induced hepatic injury. The increase in the bile secretion following intraduodenal injection of *Hypericum perforatum* L. extract, and the appearance of its constituents in the bile were observed by its colour change and this observation was confirmed by Thin Layer Chromatographic analysis indicating the excretion of "hypericin" into the bile as well. It was observed that the extract possesses a sedative action and shortens the barbiturate sleeping time of mice suggesting hepatoprotection. Its mechanism of action was discussed and speculated the involvement of possible cytokine and immune functions.

Key words: Hepatoprotective, Antihepatotoxic, *Hypericum perforatum*, Liver, Bile, Hypericin, St. John's wort.

TEŞEKKÜR

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nin tüm olanaklarını bana açan, deney materyalim olan bitkiyi bizzat toplayıp teşhis eden, hoşgörü ve yardımlarını her zaman gördüğüm Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi Müdürü ve Eczacılık Fakültesi Dekan Yardımcısı sayın hocam Prof. Dr. K. Hüsnü Can BAŞER'e,

Tüm çalışmalar boyunca bilim adamlarına özgü eleştirel ve titiz yaklaşımı ve hoşgörüsüyle yol göstermekle kalmayıp, çalışmanın son şeklini almasına dek çaba gösteren değerli hocam Doç. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvar olanaklarını ve Hayvan Evi'nin tüm kaynaklarını en geniş şekilde kullanmamı sağlayan Anadolu Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Doç. Dr. Neş'e TUNÇEL'e,

Farmakoloji Anabilim Dalı Hayvan Evi'nin kaynaklarını kullanmakla kalmayıp, değerli görüş ve önerilerinden yararlandığım Anadolu Üniv. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Doç. Dr. M. İpek CİNGİ'ye

DeneySEL çalışmalarda değerli destek yardımlarını esirgemiyen Anadolu Üniv. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Mehmet Z. AKIN, Ar. Gör. Dr. Hakan TIKIZ,

ve eşim Arş. Gör. Yasemin AYDIN'a,

Ekstrenin hazırlanmasında büyük emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Neşe KIRIMER ve Arş. Gör. Nilgün KURTAR-ÖZTÜRK'e,

Kromatografik analizlerdeki yardımlarından dolayı Müheddet VATANSEVER'e
ve

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1.	Sıçanlarda safra akışı sonuçlarını gösteren grafik.	36
Şekil 4.2.	Sıçanlarda Safra akışı sonuçlarını gösteren histogram.	37
Şekil 4.3.	İnce Tabaka Kromatogramı.	38
Şekil 4.4.	Barbiturat uyku zamanı deneylerini gösteren histogram.	39

TABLolar DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 2.1.	Karaciğer biyotransformasyon reaksiyonlarının Faz I ve Faz II şeklinde sınıflandırılması.	14
Tablo 2.2.	Karaciğer biyotransformasyon reaksiyonlarının hepatosit lokalizasyonuna göre sınıflandırılması	15
Tablo 2.3.	Hepatotoksik ilaçlar ve sonuçları.	18
Tablo 2.4.	Karsinojen etkili kimyasal maddeler.	21
Tablo 2.5.	Bitkilerde bulunan bazı hepatoprotektif maddeler	25
Tablo 4.1.	Sıçanlarda safra akışı deneyleri.	35
Tablo 4.2.	Farelerde barbiturat uyku deneylerinin sonuçları.	35

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

Açıklamalar

AER	Agranüler endoplazmik retikulum
AIDS	Kazanılmış bağışıklık yoksunluğu sendromu
AZ	% 2'lik Arap zamkı
Barb	Barbitürat; Hekzobarbital
CCl ₄	Karbon tetraklorür
GER	Granüler endoplazmik retikulum
HIV	İnsan bağışıklık yoksunluğu virusu (Human İmmunodeficiency Virus)
Hyp	% 2'lik Arap zamkı içinde çözünmüş <i>Hypericum perforatum</i> L. ekstresi
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
İTK	İnce tabaka kromatografisi
LAK	Lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücre (Lymphokine Activated Killer cell)
LGL	Büyük granuler lenfosit (Large granular lymphocyte)
MAO	Monoaminoksidaz
MFO	Karma işlevli oksidaz (Mixed Function Oxidase)
NK	Doğal öldürücü hücre (Natural Killer cell)
OSH	Ortalama standart hatası
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tümör nekroz faktör
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipopolisakkarit (Very Low Density Lipopolysaccharide)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanın yaşamını devam ettirebilmesi için gerekli organlardan biri olan karaciğer, en kompleks metabolik aktiviteye sahip organların başında gelmektedir. Karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki rollerinin yanısıra immün sistem ile de doğrudan ilişkili bir organdır. Bu önemli metabolik işlevlerinin yanısıra, ksenobiyotik ve ilaç biyotransformasyon merkezi olarak karşımıza çıkmaktadır. Sehirleşme ve sanayileşmede kaydedilen gelişmeler, çevre kirliliği, kimya ve ilaç sanaiindeki hızlı gelişme ve dolayısıyla insanın giderek artan oranlarda sentetik ve doğal ilaçlara, non-terapötik pestisit, herbisit, ve ksenobiyotiklere maruz kalmasıyla karaciğerin yükü artmaktadır. Buna bağlı olarak da karaciğere bağlı hastalıklar, örneğin hepatitlerde dramatik bir artış olduğu görülmektedir. Böylece, karaciğeri koruyucu özellikteki maddelerin önemi giderek artmakta ve son yıllarda daha çok ilgi ve araştırma konusu olmaktadır.

Bu tezde, *Hypericum perforatum* L. 'un hepatoprotektif etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Farmakolojinin önde gelen isimlerinden Sir William D.M. PATON, farmakolojinin tanımına ilişkin şunları söylemektedir: "...Eğer fizyoloji vücudun işlevlerini, anatomi yapısını ve biyokimya da kimyasal yapısını inceliyorsa, farmakoloji de kimyasal maddelerin vücut yapı, işlev ve kimyasal yapısında neden olduğu değişiklikleri inceler..." (1).

Dolayısıyla, karaciğeri yapı, işlev ve biyokimyasal açıdan kısaca ele almanın hepatoprotektif (antihepatotoksik) etkinlik konusuna bütünlük kazandıracığı düşünülmelidir.

2.1. Karaciğerin Morfolojisi ve Hepatik Yapı

2.1.1. Karaciğerin morfolojisi

Vücuttaki en büyük bez olan karaciğer (*hepar*), karın boşluğunun üst-sağ tarafındadır. Yaklaşık 2 kg ağırlığında, kırmızı-kahverengi renkte, hayli gevrek ve kolaylıkla zedelenebilen bir yapısı bulunmaktadır. Büyük hacmine rağmen diğer abdominal organların tersine, bağı dokudan oluşan bağlantı ve ligamentlerden ziyade intraabdominal basınç ve abdominal kasların tonusu ile yerinde durmakta ve ayrıca hepatik venlerin, *v. cava inferior* ile olan bağlantısı da bu organın pozisyonun korunmasında rol oynamaktadır (2-5).

İlk bakışta çeşitli bağı ve ligamentler ve bunların yerleştiği fissürler ile karaciğer sağ ve sol olmak üzere hemen ikiye ayrılabilir. Ancak, hepatik arter, portal ven ve safra kanallarının dağılımı ve segmental dallanması incelendiğinde, *lobus dexter* (sağ lob), *lobus sinister* (sol lob), *lobus quadratus* (dörtgenli lob) ve *lobus caudatus* (kuyruksu lob) şeklindeki klasik sınıflamadan farklı olarak, *lobus quadratus* ve *lobus caudatus*'un (*processus caudatus* dışında) sol loba dahil olduğu görülmektedir (2).

Karaciğer ilk bakışta üstten diafram ile örtülü olan bir diafragmatik yüze ve aşağı-arkaya bakan böylece karın içi organlarla komşuluk yaparak bu organların girinti ve çıkıntılarında dolayı düzgün olmayan bir visseral yüzeye sahiptir. Visseral yüzey ile karaciğer şu organ ve yapılarla komşudur: Mide, duodenum, asendan kolon, sağ böbrek, sağ böbreküstü bezi ve safra kesesi. Damar, sinir, lenf ve safra kanallarının girip-çıktığı yer olan *porta hepatis* de bu yüzde bulunmaktadır. Diafram ile karaciğer arasındaki üçgenimsi bir alan dışında, karaciğer her yandan periton ile örtülüdür. Periton, visseral yüzde bulunan safra kesesini karaciğerin kendi dokusu gibi sarmakta, böylece safra kesesi ile karaciğer arasında sadece bağı dokusu bulunmaktadır. Aynı periton, *porta hepatis*'ten aşağı uzanan *v.porta*, *a.hepatica propria* ve *ductus choledochus* (safra kanalı) sararak, kalın bir demet, *lig. hepatoduodenale*'yi oluşturur (2,4,5). Karaciğeri terk ederken *porta hepatis*'i kullanmayan tek yapı, karaciğerin

arkasından yukarı doğru uzanan *v.cava inferior*'e bir ya da birkaç dal halinde doğrudan dökülen *v. hepatica*'dır. Yine karaciğer dokusu içinde portal triatlara paralel olmayıp, tümüyle düzensiz bir şekilde dağılım gösteren yegane yapı *v.hepatica* dallarıdır (2).

2.1.2. Karaciğerin Lenf, Damar ve Sinirleri.

Karaciğerle bağlantılı olan üç adet damar vardır: Portal ven (*v.porta*), hepatik arter (*a.hepatica propria*) ve hepatik ven (*v.hepatica*) (2,3).

Portal ven ve hepatik arter, karaciğer ile mide arasında uzanan periton kısmı olan omentum minus'un iki yaprağı arasında *porta hepatis*'e tırmanmakta ve burada dallanırlar. Safra kanalları ve lenf damarları *porta hepatis*'den yine bu iki yaprak arasında aşağı uzanırlar. Bu yapıların tümü, "perivasküler fibröz kapsül (ya da Glisson'un hepatobilier kapsülü)" adı verilen bir gevşek areolar doku içinde bulunmaktadır. Bu doku, karaciğer dokusu içinde portal kanallar boyunca giden damar ve kanalları yol boyunca sarmakta, beri yandan da karaciğerin fibröz kapsülüne karışarak devam etmektedir (2).

Hepatik venler (*v.hepatica*), kanı karaciğerden *v.cava inferior*'e taşırlar. Kendisini saran çok ince bir fibröz örtü ile çevre dokuya tutunur. Tek başına bulunan ven olarak, arter ve safra kanallarıyla beraber bulunan *v.porta* dallarından kolaylıkla ayırılır (4).

Karaciğer dokusunda dağılan *a.hepatica* dalları, *aorta abdominalis*'den ayrılan *truncus coeliacus*, buradan ayrılan *a.hepatica communis*, ve yine bundan ayrılan *a.hepatica propria*'dan gelirler. Daha sonra safra kanalı ve *v.porta* dalları ile birlikte hepatik triatlar oluşturarak dağılırlar. Hepatik arter dallarının beslediği bölgeler arasında bir anastomoz yoktur ve bu anlamda her bir dal bir terminal (son) arter'dir (2).

Karaciğer dokusunun sinirleri, *plexus hepaticus*'dan gelir ve hem sempatik hem parasempatik (vagal) lifler bulundurur. Sinirler de damarlar gibi *porta hepatis*'den girer ve yine safra ve kan damarlarını izleyerek dağılır. Çok az bazı sinir lifleri karaciğer hücreleri arasında seyredir. Bu tip sinirlerin sonlanmaları halen tartışmalıdır. Karaciğer parenkimasında, hem myelinli hem myelinsiz sinir lifleri dağılmış olarak bulunmaktadır (2).

Karaciğerden gelen lenf sıvısının bir kısmı özofagus'a paralel biçimde diaframı geçerek aksa da, önemli bir kısmı *porta hepatis*'ten çıkan lenf damarları ile *ductus thoracicus*'a dökülmektedir. Karaciğerden gelen lenfatik sıvı içinde bol miktarda protein bulunmaktadır. Karaciğerin venöz dönüşünde bir obstrüksiyon olması durumunda ise *d. thoracicus* lenf sıvısı önemli miktarda artmaktadır (2).

2.1.3. Hepatik Yapı ve Hepatositler

Karaciğerin küçük bir bölümü dışında her tarafı peritonla örtülüdür ve bunun altında ince bir dağ doku kapsülü (Glisson kapsülü) bulunmaktadır. Diğer birçok memeli hayvanda olduğu gibi, karaciğer klasik olarak bir çok polihedral "hepatik lobül"den oluşmuştur. Bu hepatik lobüller yaklaşık 1 mm çapındadır. Histolojik kesitlerde heksagonal görünümde ve merkezlerinde küçük bir vena centralis görülür ki bunlar *v.hepatica*'nın uç dalları olarak kabul edilir. Lobül, kenarlarından, üçlü tüp yapılarıyla sarılmış durumdadır. Bunların herbirine "portal triat" adı verilir. Her bir portal triat, bir *v.porta* dalı, bir *a.hepatica* dalı ve bir interlobuler safra kanalcığından meydana gelir. Bu üçlü yapı, bağ doku örtüsüyle sarılmıştır, böylece "portal kanal" veya "perivasküler fibröz kapsül" oluşmuştur. Her bir hepatik lobülün bir bağ doku septumu ile birbirinden ayrılması domuz gibi bazı hayvanlar dışında, diğer memeli ve insanlarda görülmez (2).

"Portal lobül" kavramı ile, bir safra kanalcığını besleyen birbirine komşu üç hepatik lobül kısımları ifade edilir. Diğer bir deyişle bu kavram, histolojik değil, işlevsel bir ayrımdır. Kesitlere bakıldığında, merkezinde portal triatın yer aldığı, sınırlarının ise üç hepatik lobülün *v.centralis*'leri arasında çekilecek çizgilerle oluşan poligonal bir bölge olduğu görülmektedir (2).

Üçüncü yapı birimi "portal asinus"dur. Bu birim, kan akımı, oksijenlenme derecesi ve patolojik dejenerasyon derecesini belirtmekte son derece yararlı bir kavramdır. Bu birim, preterminal hepatik arteriöl merkez alınarak, bu merkez ve bunun beslediği parankima bölgesini belirtir. Asinusun her iki yan uçları, kanın harabiyet, glikojen depolanması ve toksik travma gibi arteriyel kan akımına bağlı birçok olgudan dolayı, diğer sınıflama tiplerinden daha çok, bu olaylar, portal asinus dağılımına uymaktadır. Öte yandan ne hepatik lobül, ne de portal lobül sabit yapılar değildir ve ancak normal koşullarda gözlenirler. Portal ve hepatik venlerde gelişecek bir kan basıncı farklılığı hemen kendini portal lobül yapısında ifade eder. Bu tür değişimler, genellikle geri dönüşümlüdür (2).

Karaciğerde hücrelerin düzenleniş şekline bakıldığında, hepatositlerin şeritler halinde, ışınsal olarak *v.centralis*'ten hepatik lobül periferine doğru uzandığı görülür. Işınsal uzanan bu şeritler, tek sıralı hepatositlerden oluşmaktadır. Bu tek sıra hücrelerden oluşan lamina veya tabakalar, karaciğer boyunca uzanırken aralarında interlaminar köprüler oluştururlar. Laminalar arasındaki boşluklara da "hepatik laküna" adı verilir ki bu lakünalar venöz sinuzoitleri oluşturur ve ayrıca lakünalar arasında venöz geçişleri sağlayan perforasyonlar bulunur. Portal kanal veya *v.hepatica* yakınlarındaki hepatositler, bu kanal ve damarları saran bir sınırlayıcı tabaka, "limiting plate" oluştururlar. Bu sınırlayıcı tabaka, damar ve safra kanallarının uç dallarının geçiş yerlerinde perfore olmuştur. Aynı şekilde bir sınırlayıcı plak karaciğer kapsülü altında bulunmaktadır (2).

İntralobüler venöz sinuzoitler, kan kapillerlerinden daha geniştir ve hayli fazla fenestralı ve ince endotel hücreleri ile örtülmüştür. Bu endotel hücreleri arasında "von Kuppfer stellat hücreleri" (2), yada kısaca "Kuppfer hücreleri" de denilen ve mononukleer fagosit sisteminin önemli bir kısmını oluşturan hücreler yer almaktadır (6).

Portal kanaldan ayrılarak, hepatositlerin oluşturduğu sınırlayıcı tabakayı delerek hepatik lobüle giren venüllere "inlet venülleri" adı verilir ve bu venüller aracılığıyla gelen kan, artık sinuzoitler içinde akar (2).

Portal kanaldaki hepatik arterlerin preterminal dalları, daha alt dalları aracılığıyla, çeşitli şekillerde kanı sinuzoitlere iletirler. Bu yollardan en çok görüleni, arteryel kapillerlerin, interlobüler hepatik kanallar etrafında pleksuslar yaparak hepatik portal ven dallarına, inlet venüllerine veya doğrudan hepatik sinuzoitlere dökülmesidir. Arteryel kanın bir kısmı da, böyle bir kapiller ağına uğramadan doğrudan sinuzoitlere dökülür, fakat bu, toplam akışın çok küçük bir kısmını oluşturur. Dolayısıyla sinuzoitlerde hem venöz kan, hem arteryel kan bulunur. Arteryel kanın hepatosit beslenmesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (2,5).

Karaciğerin herhangi bir bölgesine, herhangi bir zamanda akan kanın bileşimi, miktarı ve hızı, o andaki gereksinimlere göre sfinkter işlevleri ile ayarlanır. Bu sfinkter işlevleri, inlet venülleri, hepatik arter dalları ve sinuzoitlerin kontraktil duvarlarında bulunmaktadır (2).

Sinuzoitler ile hepatosit laminaları arasında "Disse perisinuzoidal aralıkları" bulunur. Bu aralıklar, anoksik koşullarda esneme ve genişleme özelliği taşımaktadır. Disse aralıklarında, retikulin lifleri, fagositik hücrelerin ve hepatositlerin mikrovillus ve uzantıları görülür. Lobül periferine doğru gidildikçe, Disse aralığı "Moll aralığı" ile devam eder. Moll aralığı, portal kanalda bulunan damar ve safra kanallarını sararak, hepatositlerden oluşan sınırlayıcı plak ile bu damarlar arasında bir mesafenin oluşmasını sağlar. Birçok organda olduğu gibi, karaciğerde de lenf damarları kör uçlarla ve Moll aralığından başlar. Disse aralığında bazen adipositler de görülebilmektedir (2,5).

Sinuzoitlerdeki kan, hepatik lobül merkezinden *v.centralis*'e doğru akar. *V.centralis*'ler birleşerek interlobuler venleri (*vv. interlobulares*) ve bunlar da *v. hepatica*'ları oluşturarak kanı karaciğerden *v. cava inferior*'a taşırlar (2,4,5). Son yapılan farmakolojik çalışmalar, bu venlerin sindirim kanalı venleri tipinde olduğu ve *v. hepatica*'dan alınan sirkuler striplerin histamine ileri derecede duyarlı, longitudinal striplerin ise daha çok noradrenaline duyarlı olduğunu ortaya koymuştur (7).

Hepatik lobüllerde, çok küçük safra kanalcıkları, her bir hepatositi (hepatositlerin venöz sinuzoitlere bakan yüzleri dışında) poligonal bir ağ şeklinde tümüyle sarar. Bir başka deyişle, küçük safra kanalcıklarının duvarları, etrafını çevreleyen hepatositlerin membranları

tarafından oluşturulur. Hepatik lobul periferine doğru gidildikçe, bu kanalcıklar çok ince "intralobuler safra kanalcıkları"na karışırlar. Bu intralobuler safra kanalcıklarına, "terminal kanalcıklar" ya da "Hering kanalları" adı verilir. Hering kanalları, kubik epitelle döşelidir ve bu şekilde terminal plakları delerek portal kanalda bulunan "interlobuler" hepatik kanallara akmaktadır (2).

Hering kanalları, safra sisteminin diğer kanallarından hem yapısal hem de harabiyetlere karşı reaksiyonları açısından farklılıklara sahiptir. Örneğin, safra akışı ekstraheptik bir obstrüksiyona uğradığında, hızla proliferer olurlar. Portal kanaldaki safra sistemini döşeyen kubik yapıdaki epitel, yerini giderek silindirik epitele bırakır, bu arada kolesterol ve yağ damlacıkları sitoplazmada görülebilir (2). Ayrıca, Hering kanallarında lokalize olmuş stem cell varlığı son yıllarda gösterilmiştir. Bu hücrelerin, her zaman aktif olmayıp, sadece hepatositlerin proliferer olamadıkları durumlarda proliferasyona geçtikleri, dolayısıyla "fakültatif stem cell" olarak iş yaptıkları görülmüştür (8).

Kan-hepatosit ve safra kanalcıkları arasındaki ilişkiye bakıldığında, kana verilen "horseradish peroxidase" gibi enzimlerin rahatlıkla sinuzoitlerdeki endoteller arası aralıklardan geçerek hepatositlere eriştikleri, fakat hepatositlerin "tight junction" tipindeki tutunma yerlerini aşamayıp safra kanalcıklarına geçemedikleri görülmüştür. Dolayısıyla, kan ile gelen maddelerin safra kanalcıklarına geçebilmeleri için mutlaka hepatosit sitoplazması içinden geçmesi ve safraya salgılanmaları gerekmektedir (2).

Büyük yapısı, işgal ettiği alan, önemi ve metabolik işlevlerine rağmen, hepatositler arasında hemen hiç bir işbölümü ve fark yoktur (9) ve tüm karaciğer dokusunda sadece dört ayrı tip doku görülür (10):

- Kan damarları
- Safra kanal ve kanalcıkları
- Doku makrofajları (Kuppfer hücreleri)
- Hepatositler ya da Karaciğer parenkima hücreleri.

Hepatositler, karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık % 80 ini oluşturur ve barsaklardan gelen besinleri işler, çeşitli madde sentezi, degradasyonu ve depolanmasını yürütür (9).

Hepatik lobuller kanlanma derecesine göre, kendi içinde çeşitli zonlara ayrılır:

- Periportal bölge (1. zon)
- Sentrilobuler bölge (3. zon)
- Arada kalan bölge (2. zon)

Oksijen basıncı periportal bölgede en yüksek, ve dolayısıyla mitokondrial aktivite bu bölgede çok fazladır. Sentrilobuler bölge, hepatik kan azalmasına en duyarlı ve bu nedenle en çok harab olan bölgedir. Direkt hepatotoksik ajanlar, kendilerini ilk karşılayan yer olan periportal bölge (1. zon)'de en çok harabiyete yol açarlar (10).

Korozif ve toksik maddelere maruz kalan barsak epitel hücrelerinin çok yüksek olan yenilenme hızlarının aksine, besinlerin yanısıra kanla gelen toksik ajanlara da maruz kalan hepatositlerin yenilenme hızları nispeten daha yavaş ve daha kontrollüdür. Bir sıçan karaciğerinin üçte ikisi parsiyel hepatektomi ile alınır, hemen proliferasyona başlayan doku, iki hafta içinde bu organı eski normal boyutlarına ulaştırabilmektedir (9).

Embriyonik endoderm hücrelerinden gelişen hepatositlere yakından bakıldığında, % 20 gibi yüksek oranda mitokondri, lizozom, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, granüler ve agranüler endoplazmik retikulum (GER ve AER) görülür. Bu görünüm, karaciğerde oldukça yüksek bir metabolik etkinlik bulunduğunun işaretidir. Glikojen granülleri ve lipid vakuolleri en fazla bulunan depo materyalidir. Kristal yapıda üreaz gibi enzimler içeren peroksizomal vakuoller, bu hücrelerin karakteristik özellikleridir ve aynı zamanda kompleks metabolik yol ve işlevlerin varlığını gösterir. Hemosiderin ve ferritin kristalleri içeren, demir depolayan vakuollerin varlığı, bu hücrelerin demir metabolizmasında da önemli rol oynadığını gösterir. Safra kanalcıklarını oluşturan hepatosit yüzeyinde ise çok sayıda membrana tutunmuş vezikül kümeleri bulunur. Dolayısıyla, hepatositlerde birçok metabolik aktivite ve buna uygun yapılar bulunmaktadır (2,9).

AER, genellikle hücrelerde çok az oranda bulunur ve endoplazmik retikulumun düzgün kısmını oluştururlar. Söz konusu bu yapı, genellikle sentezlenen proteinleri Golgi'ye doğru taşıyan veziküllerin tomurcuklandığı geçiş bölgesidir. Ancak, lipid metabolizmasının aktif olduğu hücrelerde, AER lipid metabolizmasında rol oynayan enzimleri bulundurduğundan daha fazla yer kaplamaktadır (9).

Hepatosit AER'u fraksiyonlandığında, mikrozomlar elde edilir. Mikrozomlar, kolesterol, lipoprotein, safra asitleri ve steroid hormon metabolizması, bilirubin-glukuronat konjugatlarının oluşumu ve birçok terapötik maddenin metabolik dönüşümlerinde rol oynayan enzimlerin yerleşmiş olduğu yerdir. Nitekim, ekzokrin pankreas hücresinde AER oranı % 1 den daha az iken, hepatosit AER oranı % 16, fenobarbital gibi ilaçlar verildiğinde ise detoksifiye edici enzim sentezi arttığı ve AER yüzey alanının da yaklaşık iki katlık bir genişleme ile daha fazla yer kapladığı görülmektedir. İlaç verilmesi kesildiğinde ise otofagozom gibi lizozomal aktiviteyle AER oranı eski düzeyine inmektedir (9).

2.1.4. Ekstrahepatik Safra Kanalları

Birbiriyle birleşerek daha büyük kanallar oluşturan interlobular safra kanalları, sonuçta sağ lobdan (*ductus hepaticus dexter*) ve sol lobdan (*d. hepaticus sinister*) olmak üzere iki ana kol halinde porta hepatisden çıkmaktadır. Bu iki kanalın birleşmesiyle oluşan ortak kanala (*d. hepaticus communis*), safra kesesinden gelen kanal (*d. cysticus*) da katılarak esas safra kanalını (*d. choledochus*) oluşturur. Bu safra kanalı, duodenumun ikinci kısmı yada inen kısmının lümenine açılır. Genellikle, lümenine açılmadan önce pankreas ekzokrin salgısını taşıyan pankreas kanalı (*d. pancreaticus*) da duodenum duvarı içinde safra kanalına karışır ve burada bir genişleme görülür ki bu yapıya "Hepatopankreatik Ampulla (Vater ampullası)" adı verilmektedir. Böylece, pankreas ve safra salgısı genellikle aynı yerden lümenine akarlar. Pankreas kanalı ve safra kanallarındaki sfinkterlere ek olarak, hepatopankreatik ampullada bulunan "Oddi sfinkteri" ile safra ve pankreas ekzokrin salgısının duodenum lümenine akışı kontrol edilir (2-5).

2.2. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğerin fonksiyonları üç ana grupta incelenebilir.

1. Vasküler işlevler,
2. Sekestrasyon ve Ekskresyon,
3. Metabolik işlevler.

2.2.1. Vasküler İşlevler

Burada daha çok kan filtrasyonu ve depolanması sözkonusudur.

2.2.1.1. Karaciğerde Kan Akışı.

Portal venden hepatik sinuzoitlere 1100 ml/dk kan akar. Arterlerden gelen 350 ml/dk kan ile birlikte toplam 1450 ml/dk kan sinuzoitlere akmaktadır (11).

2.2.1.2. Hepatik Damarlarda Basınç Ve Rezistans.

Dakikada 1.45 litre kanın geçtiği karaciğer sinuzoitlerinde, direnç çok düşüktür, çünkü *v.porta*'da direnç 9 mm Hg, *v.hepatica*'da ise hemen hemen 0 mm Hg civarındadır. Patolojik durumlarda bu değer 20-30 mm Hg ulaşabilir. Vasküler direnç artışının en sık görülen patolojik nedeni, sinuzoitlerin fibröz doku birikimi ile daraldığı veya tümüyle bloklandığı ve harabiyete uğradığı siroz hastalığıdır (11).

2.2.1.3. Karaciğerde Kan Depolanması

Gerçek anlamda bir kan depo organı bulunmayan insanlarda, kan depolama görevini üstlenmiş organlardan biri de karaciğer venleridir. Hepatik venöz basıncın 4-5 mm Hg artmasıyla 200-400 ml kan depolanabilir, bir hemorajik durumda ise karaciğer

sinuzoitlerindeki kan, sistemik dolaşıma boşalır. Ayrıca, kalp yetmezliği gibi durumlarda, santral venöz basınç 10-15 mm Hg kadar yükselerek karaciğer konjesyonuna, bu da sinuzoitlerin gerilmesi ve giderek hepatik plaklardan hepatosit dejenerasyonuna neden olur (11).

2.2.1.4. Karaciğerde Lenfatik Akış, Karaciğer Terlemesi ve Asit Oluşumu.

Sinuzoitleri çevreleyen endotel porlarının genişliğinden dolayı, proteinler rahatlıkla Disse aralığına ve dolayısıyla Moll aralığı ve lenf sıvısına karışabilirler. Sinuzoit geçirgenliğinin bu fazlalığı nedeniyle toplam lenf sıvısının yarısı, istirahat durumunda karaciğerden gelir ve bu lenfatik sıvıdaki protein derişimi, plazma protein derişimine yakın olan 6 g/dl dolaylarındadır (11).

Hepatik venöz basınç, 3-7 mm Hg oranında normalin üstüne çıkarsa, fazla miktarda sıvının lenfe geçtiği, bunun yanısıra karaciğer kapsülünden dışarıya, abdominal boşluğa sıvı sızmaya başladığı görülür. Bu sıvı, hemen tümüyle saf plazmadır ve içinde % 80-90 oranında kan plazma proteini bulunur. 10-15 mm Hg gibi daha yüksek venöz basınçlarda, karaciğer yüzeyinin "terlemesi" artarak şiddetli "asit (ascites)" görülür (11).

Portal kan akımının karaciğerde bloklanması sonucunda tüm gastrointestinal sistemde kapiller basıncın çok fazla yükselmesine, dolayısıyla barsak duvarlarında ödem ve abdominal boşluğa sıvı transüstasyonu görülür. Böylece gelişen asit, karaciğer terlemesinin aksine, portal ven ile sistemik venler arasındaki kollaterallerin (porta-caval anastomozların) devreye girmesi ile eski, normal barsak basıncına indiği izlenir (11).

2.2.2. Sekestrasyon ve Ekskresyon

Bu işlevlerden, safra oluşumu ve salgılanması anlaşılmaktadır. Safra bileşiminde yer alan komponentler şunlardır:

- Safra tuzları (bunlar en çok bulunan madde grubudur)
- Bilirubin
- Kolesterol
- Lesitin
- Plazma elektrolitleri (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , HCO_3^-)

2.2.2.1. Safra tuzları

Karaciğerden günde 0.5 g kadar safra tuzları salgılanır. Ana öncü madde, diyetle alınan veya yağ metabolizması esnasında hepatositlerde sentezlenen kolesteroldür.

Barsak sisteminde safra tuzlarının iki önemli işlevi vardır:

i) Besinle gelen yağ partikülleri üstünde deterjan etkisi yaparak, partikül yüzey gerilimini düşürerek yıkılmasını sağlamaktadır. Bu etki, safra tuzlarının emulsifiyan veya deterjan etkisi olarak bilinmektedir (11).

ii) Yağ asitlerinin, monogliseritler, kolesterol ve diğer lipitler ile miseller yaparak barsaktan emilmelerini sağlamaktadır (11).

Safra tuzlarının yokluğunda, lipid emilimi zorlaşır ve % 48 oranında lipid, bu absorpsiyon eksikliğine bağlı olarak barsaktan atılır ve metabolik defektler gelişir. Aynı nedenle, A, D, E, K vitaminlerinin emiliminde azalma özellikle K avitaminozuna bağlı olarak, koagulyasyon sürecinde ciddi bozukluklar görülür (11).

2.2.2.2. Safra Tuzlarının Enterohepatik Döngüsü

Safra tuzlarının yaklaşık % 94'ü distal ileumdan aktif transport ile reabsorbe edilir. Portal kan ile karaciğere geldikten sonra tekrar hepatositler tarafından safraya salgılanır. Böylece tekrar tekrar, bir döngü içinde barsaklara safra tuzları verilmiş olur. Feçesle atılan az bir miktar ise hepatositlerce sentezlenerek yerine konur. Bu şekildeki döngüye, "enterohepatik dolaşım/enterohepatik döngü" adı verilir (11).

Hergün salgılanan safra miktarı, karaciğere gelen safra miktarıyla doğru orantılıdır. Yani, ağız yada enterohepatik döngü aracılığıyla gelen safra miktarı, safra salgısı üzerinde önemli rol oynar (11).

Safra sekresyonu üzerinde etkili bir diğer faktör, duodenum duvarından salgılanan sekretin'dir. Mide içeriğinin duodenuma gelmesiyle "S" hücrelerinden salgılanan sekretin (2) ile safra miktarında bir artış görülür. Ancak bu artış, doğrudan hepatosit aktivitesinden kaynaklanmaz, daha çok safra kanallarındaki epitel hücreleri tarafından salgılanan ve bikarbonatça zengin solusyondan ileri gelmektedir. Safra kanal epitellerinin salgıladığı bu bikarbonatça zengin sulu çözelti, pankreasdan gelen aynı nitelikteki sıvı ile duodenumda birleşerek, mideden gelen asitli içeriğin nötralizasyonunda önemli rol oynar (11).

Sekretin etkisiyle salgılanan alkali çözeltinin, besinlerle de bol miktarda alınabilen ve taş oluşumunda önemli rol oynayan kolesterolün lesitin ve safra tuzlarıyla miseller yaptığı, böylece litolitik etkinlik gösterebildiği bilinmektedir (11). Bu arada, kolesterolden başka, Ca²⁺ iyonları gibi diğer faktörlerin de taş oluşumunda rol oynayabildiğini belirtmek gerekmektedir.

2.2.2.3. Bilirubin atılması

Karaciğer tarafından safra yoluyla barsaklara ve dolayısıyla feçesle vücuttan atılabilen bir diğer bileşik, yeşilimsi-kahverengi renkteki bilirubin pigmentidir. Bilirubin, hemoglobin yıkımı sonucu oluşan, tüm membranlardan rahatça geçebilen, son derece toksik ve dolayısıyla

atılması karaciğerin önemli işlevleri arasında olan bir bileşiktir. Bilirubin atılım metabolizmasında gelişen bir bozukluk, bağ dokularda birikme ve sarımtırak rengin (sarılığın) görülmesine yol açar (11). Sarılık, aynı zamanda karaciğer işlevlerinin anlaşılması ve tanısında da rol oynar. Sarılık; hemolitik sarılık, obstrüktif ve hepatojenik sarılık olmak üzere oluştuğu yere göre de sınıflandırılmaktadır (10).

2.2.3. Karaciğerin Metabolik İşlevleri

2.2.3.1. Karbohidrat Metabolizması

Karbohidrat metabolizmasıyla ilişkili olarak karaciğer şu işlevleri yerine getirir (11):

- a) Glikojen depolanması
- b) Galaktoz ve fruktozun glukozu çevrilmesi
- c) Glukoneogenesis
- d) Karbohidrat metabolizması ara ürünlerinden önemli kimyasal bileşiklerin oluşumu.

2.2.3.2 Yağ Metabolizması

Hemen her hücrede yağ metabolizması olmakla birlikte, esas olarak yağ metabolizması karaciğerde olur. Karaciğer yağ metabolizmasının bazı spesifik işlevleri şunlardır (11):

- a) Yağ asitlerinin yüksek oranda beta-oksidasyonu ve asetoasetik asid oluşumu
- b) Lipoproteinlerin birçoğunun oluşumu
- c) Bol miktarda kolesterol ve fosfolipid oluşumu
- d) Fazla miktarda karbohidrat ve proteinin yağa dönüştürülmesi.

2.2.3.3 Protein Metabolizması

Karbohidrat ve yağ metabolizmasının çok büyük bir bölümünü üstlenen karaciğerde bu işlevler yerine gelmese de yaşam devam edebilir, ancak karaciğerdeki protein metabolizması durduğunda birkaç günden fazla yaşamak olası değildir. Karaciğerdeki protein metabolizmasının belli başlı işlevleri şunlardır (11):

- a) Amino asid deaminasyonu
- b) Amonyanın temizlenmesi için üre oluşumu
- c) Plazma proteinlerinin yapımı
- d) Vücuttaki metabolik proseslerde önemli olan birçok farklı amino asid ve diğer bileşiklerin birbirlerine dönüşümü.

Amino asidlerin enerji kaynağı olarak kullanılabilmesi veya karbohidrat ve yağlara dönüşebilmesi için, önce deaminasyona uğraması gerekmektedir. Böbrek gibi diğer organlarda da deaminasyon görülmekle birlikte, çok az oranda olduğundan ihmal edilebilir ve ana deaminasyon yerinin karaciğer olduğu görülür (11,12).

Karaciğerde oluşan üre ile vücut sıvılarındaki deaminasyon sırasında bol miktarda oluşan amonyak temizlenir. Barsak bakterileri de sürekli amonyak oluşturmakta ve bakteriyel kökenli amonyak da kana geçmektedir. Karaciğerin üre oluşturma işlevinin yokluğunda, plazma amonyak derişimi hızla yükselerek "hepatik koma" ve ölüme yol açmaktadır. Porta-caval anastomozlarda görüldüğü gibi, karaciğerden geçen kanın azalması durumunda, fazla miktarda amonyak doğrudan dolaşıma geçeceğinden şiddetli toksik etkilere yol açar (11).

Plazmasit'ler tarafından yapılan gamma-globulinler dışında, tüm plazma proteinleri hepatositlerde yapılır ki, bu da tüm plazma proteinlerinin yaklaşık % 90'ı demektir. Karaciğerde günde 15-20 g plazma proteini yapılır, dolayısıyla plazma proteinlerinin yarısı vücuttan kaybolursa, bir-iki hafta içinde eski düzeyine tekrar erişirler, ancak bu esnada hepatositlerin hızla mitozla girdiği ve karaciğerin büyüdüğü görülmektedir (11).

Karaciğerin diğer metabolik işlevleri arasında, bazı amino asitleri ve amino asitlerden de diğer önemli bileşikleri sentezlemek bulunmaktadır. Bunların yapılması için önce keto asitler sentezlenir, daha sonra transaminasyon ile bir amino radikali amino asitten keto asidine aktarılır (11). Bu tür bir transaminaz reaksiyonu şekil 2'de gösterilmiştir (12).

2.2.3.4. Karaciğerin Diğer Metabolik İşlevleri

2.2.3.4.1. Vitamin Depolanması

Çeşitli hastalıkların tedavisinde vitamin kaynağı olarak bilinen karaciğerde daha çok A, D, ve B₁₂ vitaminler depolanır (11).

2.2.3.4.2. Karaciğer-Koagulasyon İlişkisi

Fibrinojen, protrombin, faktör VII gibi birçok faktörler koagulasyonda rol oynar. Pıhtılaşma faktörlerinin yanısıra, kininojenler, kompleman komponentleri, seruloplasmin, anjiyotensinojen gibi diğer akut faz proteinleri de karaciğerde yapılır. Bu faktörlerin yapılmasında ise, monokinlerin -ki karaciğerde bunların kaynağı Kuppfer hücreleridir-gerekli olduğu bildirilmektedir (13). Öte yandan akut faz proteinlerinin fizyolojik rollerinin yanısıra, immunolojik reaksiyonlarda da önemli rol oynadığı bilinmektedir (6).

2.2.3.4.3. Demir Depolanması

Vücutta bulunan demir, kandaki hemoglobin dışında karaciğerde "ferritin" şeklinde depolanır. Demir bağlayan "apoferritin" proteini hepatositlerde bol bulunur ve dolaşımdaki demir miktarının yükselmesiyle, demiri bağlayarak ferritine dönüşür. Böylece ferritin-apoferritin sistemi, hem vücudun kan-demir tamponu, hem de demir deposu olarak iş görür (11).

2.2.3.4.4. Karaciğerde Eliminasyon İşlemleri

Karaciğerin biyokimyasal açıdan hayli yüksek olan aktivitesi ile, birçok ilaç ve endojen madde hepatositlerde detoksifiye edilmekte ve bir kısmı da değişime uğramadan safraya geçmektedir (11). Endokrin bezlerden salgılanan tiroksin, östrojen, kortizol, aldosteron gibi birçok hormon da bu aktivitelerle kimyasal yapıları değiştirilir ve atılır (11). Dolayısıyla karaciğerde gelişen bir harabiyet, vücuda giren ilaç ve kimyasal maddelerin yanısıra, bu hormonların vücut sıvılarındaki miktarında da önemli artışlara yol açacaktır (11).

2.3. Farmakolojik Açıdan Karaciğer

Fizyolojik mekanizmalarda önemli rol oynayan karaciğer, vücuda giren ilaç ve kimyasal bileşiklerin elimine edildiği organların başında gelir. Eliminasyon, ekskresyon (atılım) şeklinde ya da biyotransformasyon şeklinde olabilir (14).

2.3.1. Ekskresyon

Safra, ilaçların karaciğerden atılımı için bir taşıyıcı görevi yapar, ancak ekskresyonla ilaçların atılabilmesi için molekül ağırlıklarının insanda 500, sıçanlarda 300'ün altında olmamalıdır. Safrayla atılan ilaçların bir bölümü enterohepatik döngüye girebilir. Örneğin morfin ve kloramfenikol, glukuronid bileşikleri şeklinde, eritromisin ve rifamisin değişmeden atılır (14). İlaç biyotransformasyonunda en önemli organ olan karaciğerin, böbrekle kıyaslandığında ekskresyonda pek önemi yoktur.

2.3.2. İlaç Biyotransformasyonu

Birçok ilaçlar yağda çözünür zayıf organik asid ve baz özelliğinde olduğundan, vücuttan elimine edilemezler. Bu tür ilaçlar, renal glomerullardan filtre edildikten sonra diffuze olarak renal tubül hücrelerinden reabsorbe olur. İlaç metabolitleri ise daha polardır ve daha çok suda çözünerek ekskresyonları artar. Biyotransformasyon, sadece ilaç eliminasyonunu artırmakla kalmaz, bileşiklerin inaktivasyonunu da sağlar. Ancak, bazı ilaçların metabolitleri farmakolojik açıdan aktif olabilirler. Bu durumda alınan ilaca "prodrug / önilaç" adı verilir. Metabolitler, ön ilaca benzer ya da farklı aktiviteye sahip olabilirler ve önemli toksik ya da terapötik etkilere yol açabilirler. Örnek olarak, purin ve pirimidin analogları (14), prontosil, kloralhidrat, amitriptilin, kortizon, prednizon, vitamin D₃ ve enalapril verilebilir (15).

Biyotransformasyon, faz I ve faz II gibi iki ayrı fazda (Tablo 2.1), ya da reaksiyonların olduğu yere göre (Tablo 2.2) ele alınabilir (10,16).

Faz I reaksiyonlarıyla ana ilaç, oksido-redüksiyon veya hidroliz ile daha polar metabolitlere dönüştürülür. Oluşan metabolitler, ana ilaca göre inaktif, daha az aktif veya çok daha aktif olabilir. Faz II reaksiyonlarına "sentetik reaksiyonlar" ya da "konjugasyon

Tablo 2.1. Karaciğerde biyotransformasyon reaksiyonlarının Faz I ve Faz II şeklinde sınıflandırılması.

Reaksiyonlar	Enzim lokalizasyonu
Faz I reaksiyonları	
Oksidasyonlar	
Hidroksilasyon	Mikrozom Dealkilasyon
Oksit oluşumu	Mikrozom Desulfurasyon
Dehalojenasyon	Mikrozom
Alkol oksidasyonu	Sitozol (mikrozom)
Aldehit oksidasyon	Sitozol
Deaminasyon	Mikrozom ve mitokondri
Redüksiyonlar	
Aldehit redüksiyonu	Sitozol
Azoredüksiyon	Mikrozom
Nitroredüksiyon	Mikrozom ve sitozol
Hidrolizler	
Deesterifikasyon	Mikrozom ve sitozol
Deamidasyon	Mikrozom ve sitozol
Faz II reaksiyonları	
Glukuronit konjugasyonu	Mikrozomlar
Asetilasyon	Sitozol ve mitokondriler
Metilasyon	Sitozol
Merkaptürik asit oluşumu	Sitozol
Sulfat konjugasyonu	Sitozol

Tablo 2.2. Karaciğerde ilaç biyotransformasyon reaksiyonlarının hepatosit içindeki yerlerine göre sınıflandırılması

I. Hepatik mikrozomal enzim sistemleri

A. Glukuronit konjugasyonları

B. Mikrozomal oksidasyonlar

1. Mikrozomal oksidasyonlar

2. Epoksidasyonlar

a. Alkil zincir hidroksilasyonları

b. Alkil halka hidroksilasyonları

3. Alkol oksidasyonları

4. O-Dealkilasyon

5. N-Hidroksilasyon

6. Nitrooksidasyon

7. N-dealkilasyon

8. Oksidatif deaminasyon

9. Sulfoksidasyon

10. S-Dealkilasyon

11. Dehalojenasyon

12. Tek bir substrat üzerinde birden fazla oksidasyon reaksiyonları

C. Mikrozomal redüksiyonlar

1. Azoredüksiyon

2. Nitroredüksiyon

II. Hepatik Non-mikrozomal konjugasyon reaksiyonları

A. Glisin ve Glutamin konjugasyonu

B. Merkapturik asit konjugasyonu

C. Sulfat konjugasyonu

D. Asetilasyonlar

reaksiyonları" da denir ve ilaç metabolitinin endojen bir maddeyle bağlanması esasına dayanır. Bağlayıcı endojen maddeler, glukuronik asid, sulfurik asid, ya da glisin gibi bir amino asid olabilir (14).

Biyotransformasyon reaksiyonlarında, mikrozomlarda olan oksidasyonlar, toksisite açısından önem taşırlar. Özellikle epoksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan metabolitlerin non-enzimatik olarak makromoleküllerle birleşmesi hepatotoksik ve karsinojenik etki nedenlerinin başında gelmektedir (10,12). Oluşan epoksit gibi metabolitlerin, DNA gibi makromoleküllerle birleşerek eklenti (adduct) oluşturdukları ve bu yapıların normal işlevlerinin yerine getirmelerini engelledikleri gösterilmiştir (17,18). Sitozoldeki non-mikrozomal enzimlerden farklı olarak, mikrozomal enzimlerin inhibe edilebilmesi, daha önemlisi de indüklenebilmesi (10) nedeniyle daha çok oksidasyon ürünleri ve epoksitler oluşturması sözkonusudur.

İleri derecede elektrofilik olan epoksit gibi mikrozomal enzim metabolitlerinin hemen bağlanarak vücuttan atılmasında Faz II reaksiyonları önemli rol oynar (10). Bunlar arasında, glutatyonun reaksiyona girdiği "Merkapturik asid konjugasyonu" (10,14) özellikle önem taşımaktadır. Dolayısıyla glutatyon düzeyi ile hepatik nekroz arasında sıkı bir ilişki olduğu görülmektedir (19).

2.3.3. Sitokrom P-450 Enzimleri

Biyotransformasyon reaksiyonlarının mikrozomlarda gerçekleşen önemli kısmında, moleküler oksijen kullanılarak substratlar doğrudan oksitlenir. Oksijenin dolaylı olarak kullanıldığı mitokondrial (solunum) oksidasyonlarından farklı olarak, bu reaksiyonlar, kullandıkları substratların çeşitli, yaygın ve non-spesifik olması, N-C ve O-C gibi çeşitli bağ kırılmalarına yol açmaları gibi nedenlerle önemli farklılıklar gösterirler. Ayrıca, burada çalışan enzimlere "Mixed-function oxidase (MFO)", "Monooksijenaz" ya da kısaca "Oksijenazlar" adı verildiği gibi (10), "Mikrozomal elektron transport zinciri" veya "P-450 Monooksijenaz sistemi" (20) verilmektedir. Yapısında hem grubu bulundurduğu öteden beri bilinen sitokrom P-450 enzimlerinin, hemoglobün gibi karbonmonoksit ile birleşerek 450 nm'de absorpsiyon vermesiyle bu enzimlerin sitokrom P-450 olarak adlandırılmıştır (10). Bu arada, oksidatif solunumu yürüten elektron transport zincirini taşıyan mitokondrilerde de sitokrom P-450 enzimlerinin bulunduğu son yıllarda bildirilmektedir (21,22).

Binlerce polar ve non-polar kimyasal maddenin oksidasyonlarını yürüten sitokrom P-450 enzim ailesi, doğada şimdiye kadar bilinen en fazla çeşitlilik gösteren ve non-spesifik biyolojik katalizörlerdir (20). Bu enzim ailesinin, insan ve memelilerin yanısıra tüm mikroorganizmalarda da bulunduğu bilinmektedir (23). Örneğin, yeni ismi "Non-spesifik monooksijenaz" olan sitokrom P-450 (EC. 1.14.14.1), insanın yanısıra maya ve karasineklerde de bulunmaktadır (24). Yapısı açıklanan sitokrom P-450 enzimlerinin,

hepatosit mikrozoamlarına gömülmüş durumda, hem sitozolden hem de mikrozoam membran ve lümeninden gelecek maddeleri biyotransformasyona uğratabilecek bir topoloji taşıdığı ve hem lümeninden hem sitozolden gelen substratlar için iki adet "Kanal sistemleri"ne sahip oldukları bildirilmiştir (20). Böylece, bu membrana bağlı "Substrat kanallarının" varlığı sayesinde gerek sitozolden gerekse membrandan gelen substratlar, bu çok düşük enerjili zinciri kullanarak katalizörün detoksifikasyon reaksiyonlarının optimum düzeyde olmasını sağlamaktadır.

2.4. Hepatotoksisite

Viral, bakteriyel ve *E. histolytica*, *Fasciola hepatica*, *Echinococcus granulosus* gibi paraziter etkenlerin yanısıra (25) karaciğer, birçok kimyasal maddenin toksik etkilerine maruz kalmaktadır. Bunlar arasında alkol gibi günlük yaşantımızda sıkça karşılaştığımız maddeler, antineoplastik kemoterapötikler (25), zift, katran ve vinil klorür gibi (31) hemen her gün karşımıza çıkan maddeler ve yakın zamanlarda büyük umutlar ve heyecanlarla adından çok sözedilen TNF (Tümör nekroz faktör) gibi sitokinler bulunmaktadır (26).

İlaç ve diğer kimyasal maddelerin karaciğer üzerindeki toksik etkileri, kolestatik sarılık, hepatolitikuler (hepatitik) reaksiyonlar ve karsinogenez şeklinde kendini ortaya koyabilir. Bu etkiler arasında kesin bir sınır yoktur. Hepatotoksik etkili bazı maddeler genellikle kolestatik tipte etki gösterirken, bazen hepatosellüler ya da mikst reaksiyonlara, kronik olarak ise karsinogen aktivitelere neden olmaktadır (10). Tedavi amacıyla çeşitli ilaçlardan hepatotoksik olanlar Tablo 2.3 de verilmiştir (27).

2.4.1. Hepatosellüler Reaksiyonlar

Hepatositlerin uğradığı harabiyetin derecesi, yağlanmadan nekroza, ve hepatositlerin yerini fibröz dokuya bırakmasına kadar değişebilir. Hepatosellüler harabiyete ilacın kendisi ya da metaboliti neden olabilir. Eğer oluşan metabolit hepatosellüler harabiyete neden oluyorsa, o zaman en çok sentrilobuler bölge (3. zon) deki hepatositler etkilenir. Bunun esas nedeni olarak periportal hücreler tarafından oksijenin fazlaca kullanılması ile oluşan hipoksi olduğu bildirilmektedir (10).

Hepatositlerde harabiyete neden olan birçok madde vardır, bunların bir kısmı ve özellikle terapötik kullanımı olanlar Tablo 2.3 de verilmiştir.

2.4.1.1. Parasetamol

Antipiretik-analjezik bir ilaç olan parasetamol, yüksek dozlarda (intihar girişimlerinde olduğu gibi) şiddetli hepatik nekroza yol açmaktadır. Salisilatların aksine, gastrik mukoza iritasyonuna yol açmazlar, ancak hepatotoksik etkisinin yanısıra, renal tubul nekrozuna da yol açmakta ve özellikle 25 g civarındaki dozu fatal olmaktadır (14). Küçük dozlarda, oluşan hidroksilamin türevi elektrofilik nitelikte reaktif metabolitler, hemen glutatyon ve

Tablo 2.3. Hepatotoksik faktörler ve sonuçları.

Akut hepatoselluler harabiyet (Doza bağımlı)	Akut hepatoselluler hatabiyet (Doza bağımlı)	İntrahepatik kolestaz (Dozdan bağımsız)
Alkol Azatioprin Klorambusil Hidrokarbonlar Demir tuzları Merkaptopurin Metotreksat Parasetamol Salisilat Tetrasiklin	Antitüberkuloz ilaçlar Halotan Metoksifluran Metildopa Monoamin Oksidaz inhibitörleri Fenilbutazon Kinidin Trisiklik antidepresanlar Amitriptilin İmipiramin İprindol Valproat	Anabolik steroidler Metiltestosteron Noretandrolon Azatioprin Merkaptopurin Östrojenler
Hepatik tümör	Kronik aktif hepatit (Dozdan bağımsız)	İntrahepatik kolestaz (Dozdan bağımsız)
Anabolik steroidler Östrojenler (Kombine oral kontraseptif)	Dandrolen Izoniazid Metildopa Nitrofuantoin Oksifenisatin	Antitiroit ilaçlar Karbimazol Metimazol Metiltiourasil Eritromisin tuzları Altın tuzları Fenotiyazinler Sulfonilureler Klorpropamid Tolbutamid
Siroz	Safra taşı yapanlar	
Alkol Metotreksat	Klofibrat Östrojenler	

konjugasyon enzimleriyle bağlanıp detoksifiye edilir. Ancak, özellikle glutatyon rezervlerinin tükendiği durumlarda, hidroksilaminler hücrel makromoleküllerle reaksiyona girerek toksik etkilere yol açarlar (10,14).

Elektrofilik hidroksilaminlerle reaksiyona giren nukleofilik sülfidril bileşikler verilerek glutatyon tükenmesi ve hücre harabiyeti önlenir. Bu tür bileşikler, daha çok sisteamin ve dimerkaprol içeren bileşiklerdir. Monooksijenazlarla parasetamolden metabolitler oluşmadan önce mikrozomal enzim indükleyici ajanlar verilirse, daha çok metabolit oluşacağından, hepatotoksisite de artacaktır (10). Parasetamol metabolitlerinin glutatyon rezervlerini tüketerek yol açtığı hepatik nekroz etkisinin N-asetilsistein verilerek (19) ya da sistatyonin verilerek (28) önlenildiği bildirilmektedir.

2.4.1.2. Karbon tetraklorür (CCl₄) ve Hepatotoksisite Mekanizması

Deneyel amaçla da kullanılan CCl₄ den oluşan ileri derecede reaktif triklorometil serbest radikalleri, membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerine saldırarak, zincirleme bir reaksiyonun başlamasına neden olur. Karaciğerin, daha önce fenobarbital gibi mikrozomal enzim indükleyici ajanlarla muamele edilmesi, CCl₄ toksisitesini artırmakta ve mikrozomal enzim inhibitörleriyle de CCl₄ toksisitesi azalmaktadır. Genellikle CCl₄ toksisitesine ilk maruz kalan hücreler, mikrozomal enzim aktivitesinin en fazla olduğu sentrilobuler bölge (3. zon) dır (10).

Genellikle, CCl₄ ün neden olduğu ilk harabiyet, endoplazmik retikuluma lokalize olmuştur. Membran yapısının bozulması, sitokrom P-450 enzimlerinin kaybı ve endoplazmik retikulum işlevlerinin yerine getirememesine neden olur. Protein sentezi hızla azalır. VLDL (Çok düşük yoğunluklu lipoprotein) gibi trigliserit sekresyonu yapan intraselluler sentezi de bozulduğundan, trigliserit birikimi ve karaciğer yağlanması görülür, ki bu da CCl₄ toksisitesinin tipik bir belirtisidir. Eğer daha yaygın bir harabiyet söz konusu ise, hepatosit su ve elektrolit dengesi önemli ölçüde bozulur, karaciğer enzimleri plazmaya geçer, mitokondrial işlevler de giderek bozularak sonuçta hepatoselüler harabiyet ve nekroz oluşur (10). İntraselluler Ca²⁺ artışının da, CCl₄ ve parasetamol gibi toksik maddelerin oluşturduğu toksisiteye katıldığı bildirilmektedir (29).

2.4.1.3. Halotan

Genel anestezi amaçla kullanılan halotanla hepatik reaksiyonların görülme insidansı 1/100.000 gibi hayli düşük bir olasılıktır. Ancak halotana bağlı hepatit gelişen hastalarda % 30 gibi hayli yüksek bir mortalite vardır. Halotana bağlı hepatik reaksiyonlarda, mitokondrilere karşı sistemik dolaşımında antikorlar bulunmuştur. Burada da, yine bir halotan metaboliti toksisiteden sorumludur. Ayrıca, halotan toksisitesi mikrozomal enzim indüksiyonuyla artmakta, aynı zamanda da kendisi de bu enzimleri indüklemektedir (10).

2.4.1.4. Hidrazinler

Hidrazin tipinde ilaçların başında antitüberküloz etkili izoniazid ve MAO (Monoaminoksidaz) inhibitörleri gelmektedir. Bunlarda da insidans düşük, ancak mortalite %20 gibi önemli düzeydedir. Hepatotoksisiteden yine reaktif metabolitler sorumludur (10).

2.4.2. Hepatokarsinojen Ajanlar

Hepatokarsinojen etkili maddelerin aynı zamanda diğer dokular için de karsinojen olduğu (30) düşünülürse, karsinojen maddeleri topluca ele almak daha pratik olacaktır.

Karsinojen kimyasal maddeler, yapı ve metabolik aktivasyonlarına göre 5 grupta incelenebilir. Bu sınıflamaya göre yapılmış karsinojen kimyasal maddeler, Tablo 2.4 de verilmiştir (31). Bu tabloda gösterilen maddelerden, 1. grupta yer alanların kendileri doğrudan aktif maddelerdir. Tablonun F ve G kısımlarındaki maddeler gibi, bu grubun birçoğu aynı zamanda antineoplastik (31) ve immunosupresif etkili maddelerdir (14).

2. grupta, substitüe olefinler görülmekte, bunların monooksijenazlarla oluşan reaktif metabolitleri karsinojen özellikler taşımaktadır. Küf mantarlarının oluşturduğu ve günlük yaşantımızda sıkça karşılaştığımız aflotoksinler, zift ve katranlar bu grupta bulunur (31).

3. grupta sentetik maddelerin yanısıra, *Gyromitra (Helvella) esculenta* türü şapkali mantar hidrazinleri, alkil hidrazinler yer alır (31,32). Nitrozaminlerin degradasyonu ile oluşan sekonder aminler de bu gruba dahildirler. Dolayısıyla bu grupta da çevremizdeki kimyasal karsinojenlerin önemli bir kısmı bulunur (31).

4. grupta, daha önce sözü edilen CCl_4 gibi halojenli bileşikler,

5. grupta ise nitroredüksiyon, aromatisasyon gibi ön reaksiyona gereksinim gösteren, pirolizidin alkaloidleri gibi doğada bulunabilen maddeler yer almaktadır (31).

2.4.3. Bitkisel Kökenli Hepatoselüler ve Hepatokarsinojen Etkili Kimyasal Bileşikler

Bitkisel kökenli hepatotoksik ve hepatokarsinojen maddeler, kaynağına göre iki ana grupta ele alınabilir.

a) Mantar kökenli bileşikler

Yukarıda adı geçen *Helvella (Gyromitra)* türünden daha çok *Amanita* ve *Aspergillus* genusları toksisiteleriyle ünlüdür. Amanitin ve falloidin, *Amanita phalloides* başta olmak üzere, *Amanita*'nın *Lipidella* subgenusuna ait şapkali mantarlarda bulunan "amatoksin" ve "fallotoksin" adındaki toksik madde grubuna dahildirler. Bu toksik maddeler, triptofan çekirdeği ve hidroksi amino asitlerden oluşan siklik polipeptit yapısındadır. Amatoksinlere alfa-, beta-, gamma-, epsilon-amanitin, amanin, amaninamid, amanullin, amanullinasid ve proamanullin dahildir. Fallotoksinlere ise falloidin, falloin, profalloin, fallisin, fallasin,

Tablo 2.4. Karsinojen etkili kimyasal maddeler.

Grup	Örnekler	
<i>1. Kimyasal olarak kendileri aktif olanlar</i>		
a) Epoksitler	Epiklorohidrin Dieldrin	Etilenoksit
b) Aziridinler	Triazikuon	Tiyotepa
c) Epitiyo türevleri	Epitiyobutironitril	
d) 2-kloroetil türevleri	Klornafazin Siklofosamid Mustard gazı	Klorambusil Melfalan
e) Klorometiltürevleri	Bis(klorometil)eter	
f) Sülfatlar,sulfonatlar	Dimetil sulfat	
g) Asid halidler	Dimetilkarbomoylklorit	
h) Aldehitler	Formaldehit	
i) N-nitrozo türevleri	Metilnitrozüre	Primer aminlerin nitrozasyon ürünleri
<i>2. Substitüe olefinler</i>		
a) Klor (Cl ₂) ile	Klordan Trikloroetilen	Poliklorlanmış bifeniller Vinil klorit
b) Oksijen (O ₂) ile	Aflatoksinler	
c) Doymamışlık	Akilonitril Dietilstilbestrol	Kloropren Stiren
d) Aromatik sistem	Benzen Zift ve katranlar	Fenobarbiton Fenitoin
<i>3. Aromatik aminler, hidrazinler, nitrozaminler.</i>		
a) Aromatik aminler	4-Aminobifenil Auromin ve türevleri Fenasetin	Amitrol Benzidin 2-Naftilamin
b) Hidrazinler	İzoniazid	
c) Nitrozaminler	Dimetilnitrozamin	
<i>4. Halojenlenmiş alifatik bileşikler</i>		
a) Olefin grubuna dehidrohalojenasyon	DDT	Hekzakloroheksan
b) C-Cl bağı kırılması	Karbontetraklorür	
<i>5. Bir ön reaksiyona gereksinim gösterenler.</i>		
a) Nitroredüksiyon	Kloramfenikol (bir aromatik amine)	
b) Fosforamid kırılması	Siklofosamid (bir reaktif mustard'a)	
c) Glikozit kırılması	Sikasin	
d) Aromatizasyon	Pirolizidin alkaloitleri	

fallasidin ve fallasasin dahildir (32). Halkasal yapının açılması ile genellikle toksik etki kaybolur. Amatoksin ve fallotoksinler, diğer birçok bileşikler gibi hepatositlerde oluşan metabolitleriyle toksisite gösterirler. Amatoksin metabolitleri hepatosit ve renal tubül hücrelerinin çekirdeklerine, fallotoksin metabolitleri ise endoplazmik retikuluma saldırarak etki etmektedirler (32). Gerçekten de renal tubul hücrelerinin, özellikle asendan Henle kulpunun çıkan kalın segmentindeki hücrelerin glutatyon tüketimine çok duyarlı olduğu bilinmektedir (33).

Sadece Amanita phalloides türünde, alfa-amanitinden başka, beta-, gamma-amanitin, falloidin, fallasin, fallasidin ve fallisasin gibi öldürücü bileşikler birarada bulunmaktadır (32).

Günlük yaşamımızda sıkça karşılaştığımız ve *Aspergillus favus*, *A. parasiticus* gibi mantarların ürettiği aflatoksinlerin tüm dünyada ne denli toksik olduğu artık bilinmektedir. 1950 li yıllarda köpeklerde "hepatitis X" olarak tanımlanan karaciğer harabiyetine aflatoksinlerin neden olduğu ve laboratuvar hayvanlarının ölümünden, birçok durumda yine bu maddelerin sorunlu oldukları bilinmektedir (34). Özellikle besinlerin uygun olmayan koşullarda saklanması, *Aspergillus*'ların rahatlıkla ve bol miktarda üremelerine yol açmaktadır. Aflatoksinler, şiddetli toksik ve karsinojen maddelerdir (35).

b) Yüksek bitkilerde bulunan hepatotoksik bileşikler.

Yukarıda adı geçen pirolizidin alkaloidleri, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunurlar. Bilindiği gibi bu alkaloidler, Graminae (10), Apocynaceae, Boraginaceae, Compositae, Leguminosae gibi birçok bitki familyasında bulunmaktadır (34).

Bu alkaloidler, akut hepatoselüler toksisiteye ve kronik olarak da karaciğer tümörlerine neden olmaktadır. Pirolizidin alkaloidlerinin bir diğer önemli özelliği, bunların N-oksitlerinin ne bazık ne de acı tat vermemelerinden dolayı memeliler tarafından rahatlıkla besinlerin içinde alınabilmeleridir. Hidrolize uğramış ürünleri non-hepatotoksiktir, fakat pirolin halkasından pirolik türevlerin oluşumu hepatotoksisite nedeni olarak düşünülmektedir. Bu alkaloidler, özellikle *Senecio* cinsinde fazlaca bulunmaktadır (34).

Evrimsel olarak yüksek bitkilerde, pirolizidin alkaloidlerine ilaveten, başka toksik ve karsinojen maddeler de bulunmaktadır. Örneğin aristolohik asid (*Aristolochia clematis*), çeşitli içeceklere konulan safrol, eterik yağlarda bulunan beta-asaron (*Acorus calamus*) ve öjanol, miristisin, apiol gibi diğer fenilpropan türevleri, sikasin (Cycadaceae) ve Japonyada çok tüketilen "ptakuilozit" (*Pteridium aquilinum*), bitkilerde bulunan karsinojen maddelerden bazılarıdır (36,37).

2.5. Hepatoprotektivite ve Hepatoprotektif Maddeler ✓

Karaciğer hastalıkları ve hepatotoksisite için radikal bir tedavi, klasik olarak önerilememektedir (38). Vitaminler, azatioprin, kortikosteroidler ve neomisin gibi antibiyotikler (bakterilerce oluşturulan toksinleri minimize etmek için), kolşisine, penisilamin ve prolin analogları (kollajen sentezi inhibisyonu için) verilmekte ise de, özellikle karaciğer yağlanması, fibroz ve sirozda spesifik bir terapinin olmadığı bilinmektedir (39). İnterferon tedavisi denenmeye (40) ve kullanılmaya başlanmış, fakat hemen interferonların istenilmeyen yan etkileri bildirilmeye başlanmıştır (41). Artık, interferon ve TNF gibi sitokinlerin çeşitli dozlerde hepatotoksik etkiler gösterebildiği anlaşılmıştır (26,42).

Bitkisel kökenli hepatoprotektif etkiye sahip maddeler uzun zamandan beri halk arasında kullanılmakta ve bu yöndeki bilimsel araştırmalar giderek artmaktadır. Örneğin,

<i>Gundelia tournefortii</i> L.	(kenger)
<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	(devedikeni)
<i>Cichorium intybus</i> L.	(acımarul)
<i>Tamarindus indica</i> L.	(demirhindi)
<i>Rosa canina</i> L.	(kuşburnu)
<i>Fumaria officinalis</i> L.	(şahtere)
<i>Lupinus albus</i> L. subsp. albus	(yahudi baklası)

gibi bitkilerin ülkemiz halk tababetinde karaciğer hastalıkları için kullanılmakta olduğu bilinmektedir (43). Gerçekten de devedikeninden elde edilen flavonoit yapısındaki silimarin (10) karaciğer harabiyetlerine karşı son derece etkili bulunmuştur (38) ve artık bazı Avrupa ülkelerinde kullanıma girmiş (44), son yıllarda ülkemiz kliniklerinde denenmeye ve kullanılmaya başlanmıştır (45,46).

Ayrıca bitkisel kökenli birçok maddenin antimitojenik olduğu (47), bunlar arasında flavonoit (48), kumarin (49) yapısında maddeler ve tannik asid gibi fenolik bileşikler olduğu bildirilmektedir (50). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* testlerde hepatoprotektif olduğu bildirilen bitkiler (ve etken maddeleri)'nden bazıları şunlardır;

<i>Allium sativum</i>	(S-allil merkaptosistein) (51)
<i>Bupleurum</i> sp.	(saikosaponinler) (52)
<i>Butea monosperma</i>	(Butrin, isobutrin) (53)
<i>Buddleja officinalis</i>	(flavonoit ve fenilpropidler) (54)
<i>Capparis spinosa</i>	(sulu ekstre) (55)
<i>Cassia tora</i>	(naftopiron glilozitler) (56,57)
<i>Crepis ruelphi</i>	(ekstre) (58)
<i>Eclipta alba</i>	(ekstre) (59,60)
<i>Eupatorium cannabinum</i>	(ekstre) (61)

<i>Glycyrrhiza glabra</i>	(glisyrizin) (62)
<i>Musa acuminata</i>	(metil kumestan, akuminatin) (63)
<i>Panax ginseng</i>	(ginsenoitler) (64)
<i>Phytolacca americana</i>	(lignanlar) (65)
<i>Rehmania glutinosa</i>	(iridoit glikozitler) (56)
<i>Sambucus formosana</i>	(amirin palmitatlar, sambuculin) (66)
<i>Schizandra chinensis</i>	(lignanlar) (67)
<i>Silybum marianum</i>	(flavonoit, flavonolignanlar) (38,68)
<i>Solanum incanum</i>	(karpesterol) (69)
<i>Wedelia calendulacea</i>	(kumestanlar) (70)

İlgi çeken bir nokta, yukarıda adı geçen bitkiler gibi hepatoprotektif etkiye sahip birçok bitkinin, hepatoprotektivitenin yanısıra, diğer birçok aktiviteye de sahip olmalarıdır. Örneğin, yukarıda hepatoprotektif etkisi olduğu bildirilen sarmısağın (*Allium sativum* L.), aynı zamanda antiviral (71), antibakteriyel (72), plazma kolesterol düzeyini düşürücü (73), platelet agregasyonunu inhibe edici (74,75), immunomodulator ve immunostimulator etkili olduğu bulunmuştur (76). Sarmısağın hepatoprotektif etkisinin, lipid peroksidasyonunu önleyerek yaptığı bildirilmektedir (77). Gerek kimyasal bileşimi gerekse farmakolojik aktivitesi hakkında yeterli bilimsel verilerin olmamasına ve sarmısağın kardiovasküler sistem üzerindeki olumlu etkiler taşıdığına bilinmesine rağmen, bu daha çok kolesterol ve plateletler üzerindeki etkisine bağlanmaktadır (78). Oysa, hepatotoksitede olduğu gibi, glutatyon rezervlerini tüketen serbest radikallerin iskemi esnasında oluştuğu, böylece bu radikallerin oluşturduğu harabiyetin de aritmilere yol açtığı ve bu serbest radikallerin oluşumunu engelleyen N-asetilsistein verilmesinin aritmileri engelleyerek normal kasılma işlevlerinin kazanılmasını sağladığı bildirilmektedir (79).

Etken maddesi bilinmeyen fakat kuşaklar boyu hepatoprotektif olarak kullanılan, ya da üzerinde çalışılan ve etken maddesinin açıklanmaya başladığı birçok bitki vardır. Örneğin sadece Hindistan'da hepatoprotektif amaçla kullanılan 33 patentli bitkisel formülasyon, 40 ayrı familya ve 100 den fazla bitki bulunmaktadır ki bunların birçoğu üzerinde farmakolojik çalışma yapılmamıştır (80). Bitki örtüsünün zengin olduğu ülkemizde hepatoprotektif etkisi olduğu bildirilen bitki türü sayısı 100'ün üzerindedir ve bunların birçoğunun kimyasal yapısı üzerinde, hemen hiç biri üzerinde de yeterli farmakolojik çalışma yapılmadığı görülmüştür.

Yukarıda verilen çeşitli bitkilerde bulunan hepatoprotektif etkili maddelerden flavonoit, lignan, flavonolignan, iridoit ve naftapiron glikozitleri, saponin, saikosaponinlerin yanısıra, Tablo 2.5'de gösterilen ve yine bitkilere ait fenoller, kumarin, uçucu yağ, terpen (mono-, seski-, di- ve triterpen olmak üzere), karotenoit, organik asit, lipid, alkaloit ve değişik bitki ekstresinin de hepatoprotektif etkili maddeler arasında yer aldığı görülmektedir (80).

Tablo 2.5. Bitkilerde bulunan bazı Hepatoprotektif maddeler ve buldukları bitkiler ve familyaları (80)

Bileşik	Bitki	Familya
Fenoller	<i>Picrorhiza kurroa</i>	Scrophulariaceae
	<i>Cichorium intybus</i>	Compositae
Kumarinler	<i>Artemisia abrotanum</i>	Compositae
	<i>Artemisia messerschmidiana</i>	Compositae
	<i>Artemisia capillaris</i>	Compositae
Uçucu yağlar	<i>Baekkea frutescens</i>	Myrtaceae
	<i>Rosa</i> sp.	Rosaceae
	<i>Anethum graveolens</i>	Umbelliferae
	<i>Salvia rhytidea</i>	Labiatae
	<i>Origanum glaucum</i>	Labiatae
	<i>Pimpinella anisum</i>	Umbelliferae
	<i>Apium graveolens</i>	Umbelliferae
	<i>Petroselinum sativum</i>	Umbelliferae
Terpenler (mono-) (seski-) (di-) (tri-)	<i>Dryobalanops aromatica</i>	Dipterocarpaceae
	<i>Atractylodes macrocephala</i>	Compositae
	<i>Lindera strychnifolia</i>	Lauraceae
	<i>Andrographis paniculata</i>	Acanthaceae
	<i>Tetrapanax papyriferum</i>	Araliaceae
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cucurbitaceae
	<i>Ecballium elaterium</i>	Cucurbitaceae
Karotenoit	<i>Gardenia florida</i>	Rubiaceae
Flavonoitler	<i>Helichrysum arenarium</i>	Compositae
	<i>Acacia catechu</i>	Leguminosae
	<i>Mentha piperita</i>	labiatae
	<i>Scutellaria baicabensis</i>	Labiatae
	<i>Canscora decussata</i>	Gentianaceae
Organik asitler ve Lipitler	<i>Cynara scolymus</i>	Leguminosae
	<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae
	<i>Bunium persicum</i>	Umbelliferae
	<i>Linum usitatissimum</i>	Linaceae
Bitki ekstraheleri	<i>Allium cepa</i>	Liliaceae
	<i>Aloe</i> spp.	Liliaceae
	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Cruciferae
	<i>Calendula officinalis</i>	Compositae
	<i>Indigofera tinctoria</i>	Leguminosae
	<i>Boerhaavia diffusa</i>	Nyctaginaceae
	<i>Nymphaea stellata</i>	Nymphaeaceae
	<i>Ganoderma lucidum</i>	Polyporaceae

2.6. *Hypericum perforatum* L.

Halk arasında Sarı kantaron, Yaraotu, Binbirdelikotu, Kanotu, Mayasılotu ve Kuzu Kıran adlarıyla bilinen *Hypericum perforatum* L. (81), Guttiferae familyasındandır. Sibiryadan Avrupa'ya, Kuzey Afrika'dan Orta Asya'ya kadar geniş bir yayılışa sahip olan bu bitki, ülkemizde de yaygın olarak bulunmaktadır. Hakkari'den Ege denizine kadar ve deniz seviyesinden 2500 metre yüksekliğe kadar bulunabilen, 10-110 cm boylarında, Nisan-Eylül aylarında çiçeklenen ve çok yıllık otsu bir bitkidir (82). Parlak sarı çiçekli ve yaprak üzerinde noktacıklar halinde yağ bezleri bulunur, bu yüzden bitkiye Binbirdelikotu adı verilmiştir. Ülkemizde, halk arasında yatıştırıcı, kabız, kurt düşürücü, antiseptik, yara iyi edici ve özellikle yanık yaraların tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (81,83). Bunların yanısıra, mide ülseri, şeker hastalığı, soğuk algınlıkları (43), mide-barsak hastalıkları, sarılık, karaciğer ve safra hastalıklarında kullanıldığı bildirilmektedir (84).

Yabancı ülke halk tababetlerinde, antik dönemlerden beri kullanılan *H. perforatum*'un, XIX. yüzyıla geldiğinde, resmi olarak eski yaygın kullanımının azaldığı görülmektedir (85,86). Uzun zaman boyunca popülaritesini koruyan yaraotu, Antik Yunan'da özellikle haricen yaraların iyileştirilmesi ve kronik romatizmaya karşı antihelmintik, diüretik ve emenagog (adet söktürücü) olarak kullanılmış (85), orta çağda büyü ve kötü ruhlarla karşı kullanılması ile de ün kazanmıştır (85-88). Ortaçağ sonlarına doğru "Kutsal Yağ/Holly Oil" adıyla her türlü yaraların iyileştirilmesinde, "yara iyileştirici su" adı ile de Matritensis Farmakope'nin 2. baskısında yara, ülser ve tümörlerin iyileştirilmesinde kullanıldığı, antiikter dekoksasyon olarak karaciğer harabiyetlerinde, evrensel antidot olarak birçok zehirlenmelerde, epilepsi ve konvülsiyonlara karşı antiepileptik ve antihisterik olarak, sindirim problemlerinde ve uyarıcı olarak, romatizma ağrıları ve nöralji olgularında İspanya'da kullanıldığı aynı kaynakta yer almaktadır (86). İngiltere'de sedatif, analjezik, antiseptik, nöralji, siyatik, menapozal nöroz ve lokal olarak da yaralarda kullanıldığı ve depresif durumlarda kontrendike olduğu bildirilmektedir (89). Öte yandan, antidepresif amaçla kullanımı olduğu ve giderek bu amaçla kullanımının yaygınlaşmakta olduğu ve MAO inhibisyonu yaptığı bildirilmektedir (90-92). Pulmoner amaçla (87,93), ekpektoran olarak ve Ruslar tarafından bronşiyal astım tedavisi için kullanıldığı bildirilmektedir (88). Haricen, sadece gut ve romatizma için değil, aynı zamanda sulu ekstresinin saç dökülmesine karşı kullanıldığı da belirtilmektedir (88). Zeytinyağındaki taze yapraklarının, yine haricen yara ve ülserasyonlarda kullanıldığı, dahilen fotosensitizasyona yol açmasına (88), karşın güneş yanıklarında ve kozmetik olarak kullanılabilirdiği bildirilmekte, ancak kozmetik preparatlarda kullanımının çok az düzeyde olduğu belirtilmektedir (94). Yapılan çalışmalarda antihelmintik (95), antitüberküler (88,95) etkileri bildirilen *H. perforatum*, Sovyetler

Birliği'nde daha çok enfeksiyonlara karşı, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise besin prezervasyonunda kullanılmaktadır (91). Koleretik etkili (95,88) ve sarılığa karşı kullanıldığı söylenen bu bitki, aynı zamanda diüretik etkiye sahiptir (87,88,90,93).

Rus, Çekoslovak, Polonya ve Romanya gibi Doğu Avrupa ülke farmakopelerinde diüretik ve astrenjan olarak yer alan *H. perforatum*'un kullanımı özellikle Avrupa'da giderek yaygınlaşmaktadır (96). Ürolojik amaçla Enuresibletten^(R), Incontinura^(R), Rhoviral^(R) adları ile, Hyperforat^(R), Psychatein^(R)-Jossa ve Neuropas^(R) adlarıyla da nörolojik amaçla satışa sunulmuş olan preparatları bulunmaktadır (44,90). Nitekim, son yapılan çalışmalar ile de antidepresif etkinliği tekrar doğrulanmıştır (97). Antidepresif etkisinin, "Hiperisin" adındaki kimyasal bileşiğin MAO inhibisyonu yapmasıyla olduğu düşünölmektedir (86,91,92).

Yukarıda sayılan kullanım alanlarından başka, haricen enflamasyon ve hemoroitlerde, Homeopatik olarak koksaljilerde (kalça ağrılarında), hidrofobi, hipersensitivite, felç, romatizma, siyatik, empotans, doğum, tetanoz, ülserasyonlar, berelenmeler, ateşli silahlarla ve çeşitli nedenlere bağlı yaralarda (88,98) da kullanıldığı bildirilmektedir.

Hypericum perforatum L. içinde bulunan kimyasal bileşiklere bakıldığında, hiperisin, psödohiperisin, flavonoidler, tanenler, sabit ve uçucu yağlar (88,99), kolin, rutin, glikozitler, pektin, beta-sitosterol, alkaloidler, çiçeklerinde karotenoitler bulunduğu görölmektedir (88). Daha çok hiperisinden ileri geldiği bildirilen fotosensitizasyon şeklinde memeli hayvanlar ve insanlar üzerindeki toksik etkili olduğu (88,90,100-102), kurutulmuş bitkinin % 80 oranında hiperisin kaybettiğinden dolayı toksik etkisinin azaldığı bilinmektedir (103). Yeni Zellanda ve Avustralya'da özellikle taze ot ile beslenen büyükbaş çiftlik hayvanlarında toksik etkiler sonucu önemli ekonomik zararların ortaya çıktığı saptanmıştır (102). Tavşanlar üzerinde yapılan toksisite deneylerinde, post-mortem karaciğer ağrılıklarının arttığı (102), öte yandan karaciğer üzerinde hiç bir toksik etkisinin görülmediği de bildirilmiştir (103).

Yaraları iyileştirici etkisiyle birçok yerde bilinen *H. perforatum*, halk tababetinde antikanser ve antitümöral etkili olarak kullanılmakta oluşu ile de dikkati çekmektedir (86,88,93,95). Ovaryum kanseri, mide kanseri lenfoit tümörler ve çeşitli karsinomlar, bu bitkiyle son derece etkili bir şekilde tedavi edildiği bildirilen kanser çeşitleri arasında bulunmaktadır (88). Ancak, merkezi ABD'de bulunan Ulusal Kanser Enstitüsü (National Cancer Institute) tarafından yapılan çalışmalarda, antikanser etkinliğin çok düşük olduğu bildirilmiştir (88).

Avrupa ölkelerindeki nörolojik ve ürolojik amaçlı kullanımı ve satışının yanısıra, İngiltere, Hindistan, Sri Lanka gibi ölkelerde antiseptik, Sovyetler Birliği'nde astım, saç dökölmesi, ve özellikle enfeksiyonlara karşı kullanılan bu bitkinin, son yıllarıda yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Oxford*, *Streptococcus sanguis*,

Streptococcus mutans, *Proteus vulgaris*, *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı son derece etkili olduğu bildirilmekte (104), bitkide bulunan "hiperforin" adındaki kimyasal bileşiğin antibiyotik etkili olduğu bildirilmektedir (91). Santral sinir sistemi üzerindeki etkisi uzun zamandan beri bilinen bitkinin, ayrıca prosiyanidin yapısındaki kimyasal bileşikleri aracılığı ile kalp ve koroner kan akımı üzerinde etkili olduklarını, ve kronotropik ve pozitif inotropik etkiye sahip oldukları bildirmektedir (105).

Etnomedikal ve etnobotanik çalışmalar dışında, *Hypericum perforatum* ile hepatoprotektif etkiye yönelik olarak gerçekleştirilmiş herhangi bir deneysel çalışma bulunmamaktadır. Ancak, *Hypericum japonicum* gibi diğer türlerle hepatoprotektif etkiyle ilişkili çeşitli farmakolojik araştırmalar yapılmış ve sözü edilen türde hepatoprotektif etki bulunmuştur (106). *H. perforatum* üzerinde en geniş kapsamlı farmakolojik çalışmalar Hindistan'da gerçekleştirilmiştir. 1968 yılından başlayan ve günümüze dek süregelen bu çalışmalarda, 1986 yılına kadar, 2538 Hindistan bitkisine ait 2642 bitkisel materyal 49 ayrı biyolojik test sistemi kullanılarak 15 farklı farmakolojik aktivite açısından araştırılmış ve bulguları yayınlanmıştır. Bu çalışmanın bir parçası olarak, *Hypericum perforatum* incelenmiş ve şu aktivitelere bakılmıştır (107):

Antibakteriyal aktive	<i>Staphyloccus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Antifungal aktivite	<i>Candida albicans</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Sporotrichum schenkii</i>
Antiprotozoal aktivite	<i>Entamoeba histolytica</i>
Antiviral aktivite	Ranikhet disease virus Vaccinia virus
Santral sinir sistemi ve Genel davranış üzerine olan etkisi	Gross etkiler Hipotermi Analjezi Supramaksimal elektroşok nöbeti testleri

Solunuma olan etkisi

Kardiyovasküler etkisi

İzole ileum üzerine etkisi

İzole sıçan uterusu
üzerine etkisi

Diüretik aktivite

Yine sözü edilen bu çalışmada, Eylül ayında toplanılan bitki örnekleri ile sadece kardiyovasküler etkinlik olduğu gözlenmiş, diğer test sistemlerinde ise herhangi bir etkinlik görülmemiştir. % 50'lik Etanol ile ekstre edilen bitki farelere i.p. olarak verilerek LD₅₀ değeri 1000 mg/kg'dan daha büyük bir değer olarak bulunmuştur (107). Bu sonuca göre pratik olarak non-letal olan *H. perforatum* ile hepatoprotektif etkiye yönelik bir test yürütülmemiştir. Öte yandan, Hindistan'da elde edilen sonuçların aksine, bir başka çalışmada da yüksek antibakteriyel aktivite görülmüştür (104). *Hypericum mysorense* gibi antifungal etkili gama-piron içeren *Hypericum* türleri ile *Hypericum perforatum*'da da bulunan β -sitosterol'ün antikanser etkili olduğu bildirilmiştir (108). Çok yeni araştırmalarda *Hypericum perforatum*'un antiviral etkinliği gözlenmiş (95,88) ve HIV virusuna karşı etkili bulunarak Faz I klinik deneme evresinde olduğu bildirilmiştir (109).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Malzeme ve Kimyasal Maddeler

3.1.1. Malzemeler

1. Rotavapor (Büchi)
2. Liyofilizatör (Leybold-Heraeus)
3. UV lambası (UVP Inc.)
4. Kronometre (Rocor)
5. Duyarlı terazi (Sartorius)
6. Enjektörler (1, 2.5, ve 5 ml'lik)
7. Çeşitli cam malzemeler
8. Polietilen kanüller (1 mm çapında)
9. Çeşitli operasyon alet ve gereçleri
10. Masa lambası
11. İnce Tabaka Kromatografisi tankı ve plakları

3.1.2. Kimyasal Maddeler

1. Alkol (Tekel)
2. Arap zıncı (Merck)
3. Uretan (Schering)
4. Sodyum klorür (Merck)
5. Etil asetat (Merck)
6. Asetik asid (Merck)
7. Formik asid (Merck)
8. Silikajel HF254 (Merck)
9. Karbon tetraklorür (Merck)
10. Hekzobarbital (Evipan^(R)) (Bayer)
11. Piridin (Merck)
12. Distile su

3.2. Deney Hayvanları

Bu çalışmada erişkin erkek albino sıçanlar (200-350 g) ve erkek Swiss albino fareler (20-45 g) kullanılmıştır. Deney hayvanları iyi ventile edilmiş odalarda, yaklaşık 21°C ve standart nem altında saklanmışlardır. Hayvanlar standart yem ile beslenmiş ve çeşme suyu içirilmiştir.

3.3. Bitkinin Toplanması ve Ekstraksiyonu

Bitki örnekleri İnegöl-Domaniç karayolu civarından Haziran 1990 tarihinde toplanmıştır.

Toplanan bitkiler gölgede kurutulduktan sonra, 50 g herba % 50 (h/h) alkol-su ekstre edilmiş, daha sonra solvent süzülerek rotavaporda alkolü uçurulmuş ve liyofilizatörde kurutulularak kuru ekstre (% 13.7 a/h) elde edilmiştir. Ekstrenin, % 2'lik Arap zımkı (AZ) içindeki çözeltisi (Hyp) sıçanlara intraduodenal olarak, farelere intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonla verilmiştir. Kontrol gruplarına ise sadece % 2'lik AZ verilmiştir.

3.4. Safra Akışı ve Karaciğer Ağırlığı

Sıçanlar (200-350 g), her biri 5 adet olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Hazırlanan % 25'lik üretan solusyonundan 6.5 ml/kg i.p. verilerek sıçanlar daha önce kullanılan yöntemeye uygun olarak anesteziye edilmiş ve abdominal insizyon ile karın açılarak safra kanalının distal kısmı izole edilerek kanül yerleştirilmiştir (110,111). Normal vücut sıcaklığının korunması amacıyla, bir ısıtma lambası operasyon boyunca hayvanın yakınında bulundurulmuştur.

Birinci gruba 500 mg/kg Hyp, 2. gruba 250 mg/kg Hyp ve 3. gruba sadece % 2'lik gum arabic intraduodenal olarak enjekte edilmiştir. Bütün gruplarda, safra hacmi birer saatlik aralar ile 4 saat boyunca toplanarak ölçülmüş, Hyp verilen gruplarda ise, ilk saatin sonunda Hyp verilmiştir.

Deney sonunda hayvanlar ötanestezi ile öldürülmüş ve karaciğerleri alınarak tartılmıştır.

3.5. İnce Tabaka Kromatografi (İTK) Analizi

Plaklar silikajel HF₂₅₄ ile 0.25 mm kalınlığında kaplanmış, hareketli faz, *Herba hyperici* için daha önce belirtilen yöntemeye uygun olarak, etil asetat:asetik asid:formik asid:su (100:11:11:27) hazırlanmıştır (112). Safra akışı için kullanılan herbir gruptan alınan safra örnekleri ve Hyp plaklara uygulanmış ve 365 nm U.V. ışığında plaklara bakılmıştır. % 10'luk piridin çözeltisi püskürtülerek hiperisine ait turuncu-kırmızı renk oluşumuna bakılmıştır. Lekelerin R_f değerleri ölçülmüş ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

3.6. Barbiturat Uyku Zamanı Deneyleri

Her biri 5 adet erkek Swiss albino farelerden (20-45 g) oluşan beş adet deney grubu oluşturulmuş ve barbiturat uyku zamanı deneyleri daha önce uygulanan yöntemeye uygun olarak yapılmıştır (111,113,114).

1. gruba 500 mg/kg Hyp i.p. uygulandıktan bir saat sonra, eşit oranda karıştırılmış sıvı parafin ve CCl₄ çözeltisinden 0.5 ml/kg dozunda oral olarak verilmiştir. İki saat sonra 75 mg/kg hegzobarbital i.p. enjeksiyonla uygulanarak uyku süreleri ölçülmüştür.

2. gruba aynı CCl₄ çözeltisinden 0.5 ml/kg oral olarak verildikten iki saat sonra 75 mg/kg hegzobarbital i.p. olarak uygulanmış ve uyuma süreleri ölçülmüştür.

3. gruba 500 mg/kg Hyp i.p. enjekte edilmiş ve 3 saat sonra 75 mg/kg hegzobarbital i.p. enjeksiyon edilerek uyku süresi ölçülmüştür.

4. gruba kuru *H. perforatum* ekstresini çözmek için kullanılan % 2'lik AZ ekstredekine karşılık gelen hacimde i.p. uygulandıktan 3 saat sonra 75 mg/kg hegzobarbital i.p. enjekte edilmiş ve uyku süresi ölçülmüştür.

5. gruba ise sadece 75 mg/kg hegzobarbital i.p. uygulanmış ve uyku süresi ölçülmüştür.

3.7. Farelerin Genel Durum ve Davranışları

Yukarıda belirtilen 3. gruptaki farelerin Hekzobarbital verilene kadar geçen süre içinde genel durum ve davranışları "Hippocratic Screening" metodu (115) ile gözlenerek, Hyp'in fareler üzerindeki bazı farmakolojik ve toksikolojik etkileri kalitatif biçimde incelenmiştir.

3.8. İstatistik Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılığı Student t-testi ve varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiş ve t ve F değerleri, ilgili tablolarda gösterilmiştir (116,117).

Verilen tüm sayısal değerler belirtilen sayıda deneğin ortalamasını temsil etmektedir. Ayrıca, beraberlerinde ortalamanın standart hatası (OSH) \pm olarak belirtilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Safra Akışı ve Karaciğer Ağırlığı

Tablo 4.1 ile Sekil 4.1 ve 4.2 de görüldüğü gibi, 500 mg/kg dozundaki Hyp, safra akış oranında belirgin bir artışa yol açmaktadır. Bu deney grubunda, safra akış oranı kontrol grubuna göre 3. saatte % 24, 4. saatte % 31 dolayında artış göstermektedir. Karaciğer ağırlıklarında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Aynı biçimde, 250 mg/kg Hyp dozunda ise herhangi bir anlamlı artış gözlenmemiştir.

4.2. İnce Tabaka Kromatografisi Bulguları

Yapılan İnce tabaka kromatografisinde, (Sekil 4.3) kontrol grubuna ait sıçanların safralarında görülmeyen, fakat sadece ekstrede ve 500 mg/kg dozunda Hyp verilen sıçanların safralarında R_f değeri 0.5 olan turuncu-kırmızı leke görülmüştür. Bu lekenin gerek R_f değeri, gerekse rengi nedeniyle Hiperisin'e uyduğu (112) gözlenmiştir. Hiperisin'e ait bu lekenin hemen üstünde görülmesi gereken psödohiperisin'in ilişkin leke (90,112) ise safra kromatogramlarında bulunamamıştır.

4.3. Barbiturat Uyku Zamanı Deneyleri

Sekil 4.4 ve Tablo 4.2'den görüldüğü gibi, sadece barbiturat verilen grup ile % 2'lik AZ verilen gruba ait uyuma süreleri, ortalama 27.8 dakika ile aynı değerdedir. CCl_4 verildikten sonra barbituratla uyutulan grupta uyuma süresinin ortalama 110 dk ile en uzun değerde olduğu gözlenmiştir. Sadece Hyp verildikten sonra barbituratla uyutulan grubun ortalama uyku süresi olarak 62.5 dakika bulunmuştur. Önce 500 mg/kg Hyp verilip daha sonra CCl_4 verildikten sonra uyutulan grupta, 3.gruba yakın bir değer olan 70 dakika elde edilmiştir.

Böylece, uyku süresi üzerinde % 2'lik AZ solusyonunun hiç bir etkisinin olmadığı, CCl_4 'ün uyku süresini 110 dakika gibi kontrol grubuna göre çok fazla uzattığı bulunmuştur. CCl_4 ile birlikte Hyp verilen ilk grupta gözlenen uyuma süresinin anlamlı bir şekilde 2. gruptan daha kısa olduğu bulunmuştur. Öte yandan, sadece Hyp verilen 3. gruba ait 62.5 dakika değeri ile, CCl_4 ile birlikte Hyp verilen ilk grubun 70 dakika değeri arasında çok az bir fark olduğu gözlenmektedir.

4.4. Diğer Bulgu ve Gözlemler

a) Safra rengi: Safra akışı deneyleri esnasında, ilk saate ait safra toplanmasının ardından, duodenuma 500 mg/kg Hyp enjeksiyonundan yaklaşık 30-40 dakika sonra karaciğerden gelen safra renginin koyulaşmaya başladığı ve deney sonuna dek bu rengin kaybolmadığı gözlenmiştir. Ancak, deney sonuna doğru safra akışında azalma görülen bazı hayvanlarda safra rengi de eski koyuluğunu kaybetmeye başlamaktadır.

b) Sedasyon: Barbiturat uyku deneyleri esnasında, hem 1.grupta hem 3. grupta i.p. olarak Hyp enjeksiyonundan sonra deney hayvanlarında belirgin bir sedasyon gözlenmiştir. Bu sedatif etkinin, önce gelişen karnını uzatarak yürüme, karın kaslarını germe gibi acı-ağrı duyusu (Writhing response) olduğunu düşündüren belirtilerin hemen ardından geliştiği anlaşılmıştır.

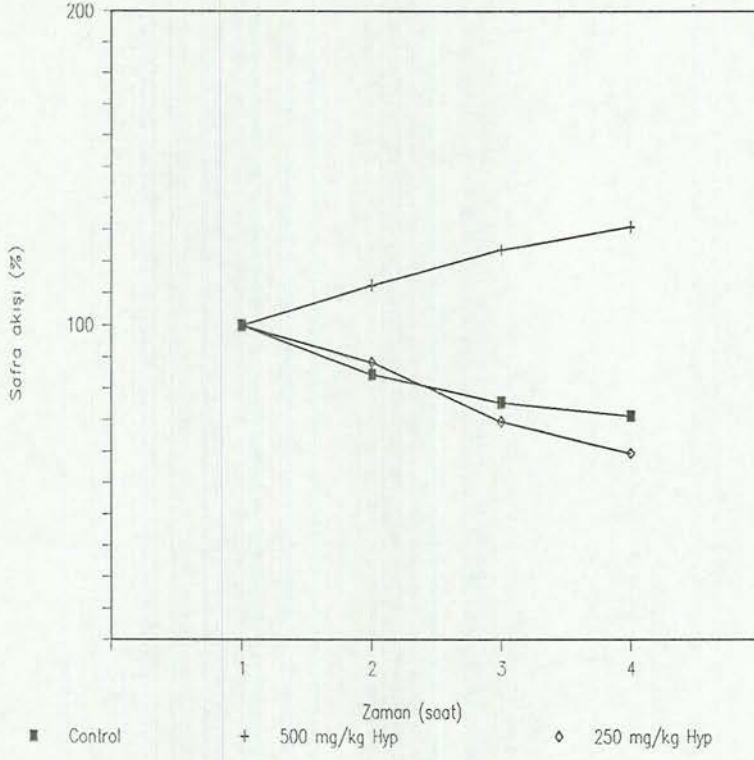
c) Anti-konvulzif etki: Barbiturat uyku deneylerinde, uyanma esnasında konvulziyonların normal olarak görülebildiği, özellikle konvulziyon ve anormal kas hareketlerinin deneyimizde kullanılan hegzobarbital ile çok belirgin olduğu bilinmektedir (10). Ekstre ile muamele edilen deney hayvanlarında ise, bu tür konvülzif hareketlerin çok azaldığı, bazı hayvanların bu belirtileri hiç göstermeden uyandıkları gözlenmiştir.

Tablo 4.1. Sıçanlarda Safra Akışı Deney Sonuçları: Bu tabloda grupların sadece ortalama ve standart hata değerleri (OSH) verilmiştir.

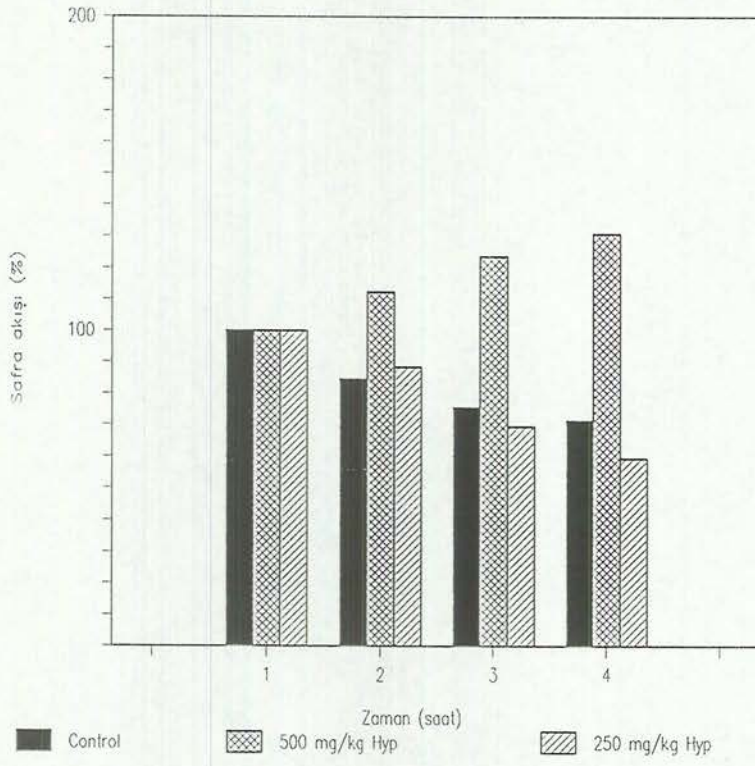
Zaman	Kontrol	250 mg/kg Hyp	500 mg/kg Hyp
1	0.59±0.07	0.36±0.05	0.46±0.03
2	0.50±0.75	0.40±0.07	0.40±0.03
3	0.44±0.62	0.44±0.08	0.32±0.04
4	0.42±0.62	0.47±0.08	0.27±0.03

Tablo 4.2. Farelerde Barbiturat Uyku Deneylerinin Sonuçları

Barb	AZ+ Barb	Hyp + Barb	CCI4 + Barb	Hyp + CCI4 + Barb
27.8±5.5 (n=5)	27.8±2.5 (n=5)	62.4±8.5 (n=5)	110.0±5.2 (n=5)	70.0±9.4 (n=5)
t=0.00; F=5.03				
t=3.04; F=0.45				
t=9.61; F=1.20				
t=3.44; F=0.36				

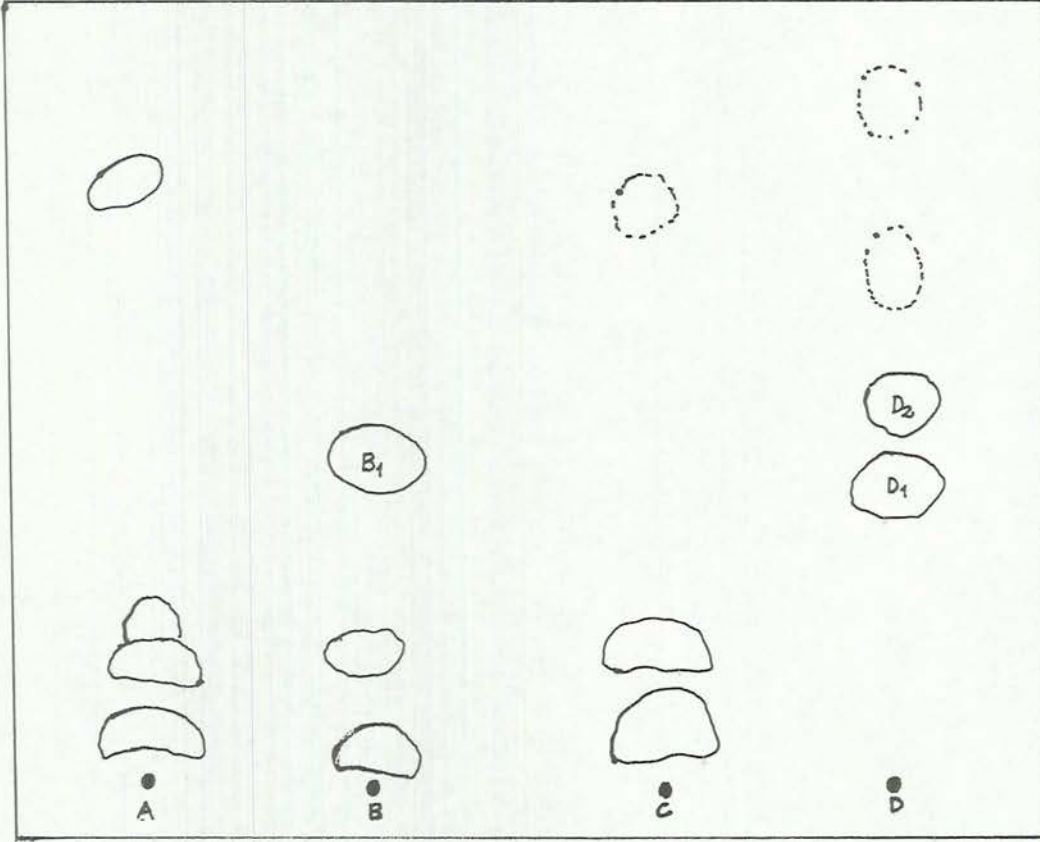


Şekil 4.1. Sıçanlarda safra akışı sonuçlarını gösteren grafik.

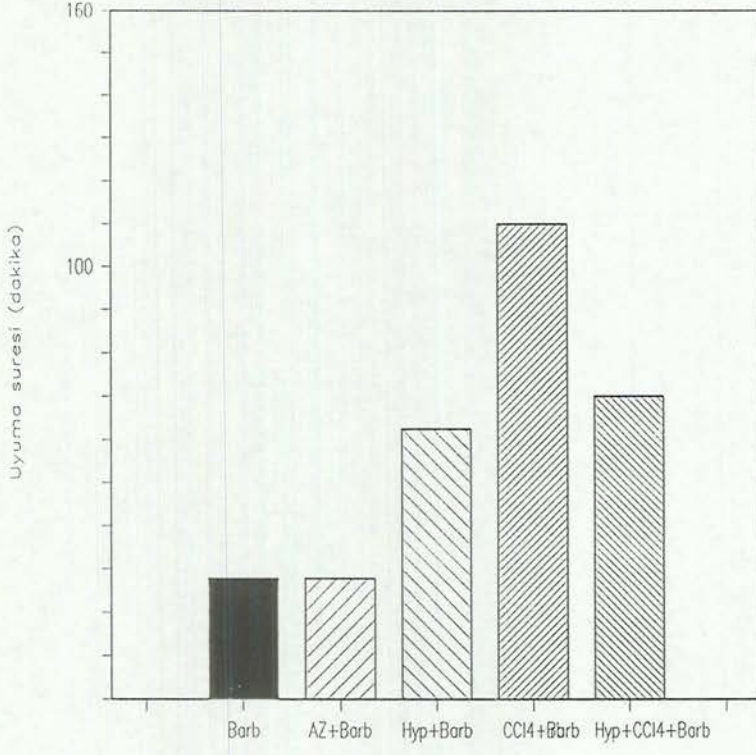


Şekil 4.2. Sıçanlarda safra akışı sonuçlarını gösteren histogram.

FRONT



Şekil 4.3. İnce tabaka kromatogramı. R_f değeri 0.5 dolaylarında olan ekstreye ait lekenin (D_1), kontrol grubu (C) ve 250 mg/kg Hyp grubu (A) sıçanların safralarında bulunmadığı, fakat sıçanların 500 mg/kg Hyp grubunda bulunduğu (B_1)görülmektedir.



Şekil 4.4. Barbiturat uyku zamanı deneylerini gösteren histogram.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Sarı Kantaron, Yaraotu, Binbirdelikotu gibi halk arasında çeşitli adları bulunan *Hypericum perforatum* L. ekstresinin (Hyp) hepatoprotektif etkisi araştırılmıştır. Önce safra akışı deneyleriyle koleretik etkisine bakılmış, daha sonra barbiturat uyku deneyleri yapılarak, hepatositler ile etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, önce klasik bir hepatotoksin olarak yaygın şekilde deneysel amaçla kullanılan CCl₄ verilerek karaciğer harabiyeti oluşturulmuş ve harabiyetin düzelmesine barbiturat uyku zamanı ile bakılmıştır. Yukardaki verilerden de görüldüğü gibi, *Hypericum perforatum* ekstresi, sadece koleretik etki göstermekle kalmamış, CCl₄ nedeniyle uzamış olan barbiturat uyku süresini de kısaltarak hepatositler üzerine etki ettiğini göstermiştir. Hepatositler üzerinde etkili olduğu, intraduodenal enjeksiyondan sonra safra renginde görülen koyu kırmızı-kahverengimsi renk değişimi ile de doğrulanmıştır. Bu renk değişiminin nedeni olarak, bitki ekstresinde bulunan kırmızı-kahverengi renkte bir bileşiğin safraya geçmesi olabileceği düşünülmüş ve bu amaçla deney hayvanlarının toplanan safraları ile ekstrenin İTK analizi yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda, safraya geçen maddenin hiperisin olduğu yargısına varılmıştır. Böylece, *H. perforatum*'un hepatositlerle doğrudan ilişkili olarak etki gösterdiği düşünülebilir çünkü herhangi bir maddenin safraya geçebilmesi için hepatosit sitoplazması içinden geçmek zorunda olduğu bilinmektedir (2,10).

Bu arada, portal dolaşım ile karaciğere gelen ekstre içindeki diğer maddelerin, safraya geçmemekle birlikte, hepatositler üzerinde etki gösterip metabolize olduktan sonra metabolitler şeklinde atılması, metabolize olmadan renal ekskresyonla elimine olması, ya da safrada renk değişimi ve İTK analizi ile kolayca anlaşılamiyacak yapı ve derişimde maddeler olma olasılığı da düşünülebilir. Nitekim, *H. perforatum* içinde de bulunan tanenlerin de (99) hepatoprotektif etkili olduğu bildirilmiştir (118). Aynı soru diğer maddeler için de şüphesiz geçerliliğini korumaktadır. Örneğin flavonoidlerin hepatoprotektivite konusunda çok etkili oldukları artık bilinmekte (10,38,45,46,68,80), yaraotunda çeşitli flavonoidler bulunduğu bilinmektedir (99). Bu açıdan bakıldığında, diğer *Hypericum* türlerinin içerdikleri kimyasal bileşiklerdeki farklılıklara bağlı olarak farklı farmakolojik etki göstermeleri beklenebilir. Örneğin, *H. calycinum* ve *H. patulum* türlerinde hiç hiperisin bulunmadığı fakat % 15'lere varan oranlarda tanenler bulduklarını bildirilmektedir (99). Bu arada *H. calycinum* türünün antineoplastik ve antifungal etkileri bildirilmiş (119), *H. japonicum*'un ise hepatoprotektif etkili olduğu gösterilmiştir (106). *H. perforatum*'un son yıllarda hepatoprotektif etkiden daha çok antiviral etkisi ortaya konulmaya başlanmış (120), bu konuda ünlü AIDS hastalığına karşı faz-I klinik deneme evresine geçilmiştir (109). Dolayısıyla, virüslerin de önemli rol oynadığı sarılık olgularına karşı yaraotunun halk arasında kullanılmasına, bilimsel bir temelin oluşmakta olduğu da anlaşılmaktadır.

Hücre membranlarına saldırarak toksik etki gösterdiği bilinen CCl_4 'ün (10,121) neden olduğu harabiyetin, ekstremiz ile anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. Hepatoprotektif olduğu bildirilen sarmısak (*A. sativum* L.) (77) ve diğer bitkilerin lipid peroksidasyonunu önliyerek etki ettikleri bildirilmektedir (122). *Hypericum* türlerinin lipid peroksidasyonunu önlediklerine ilişkin herhangi bir veri yoktur. Böyle bir mekanizma yoluyla antihepatotoksik etki olasılığı bulunmakla birlikte, Hyp enjekte edilen farelerde, hemen enjeksiyon sonrasında, kontrol grubundan farklı olarak gözlenen önce "Writhing response" ve daha sonra devam eden sedasyon ise, farklı mekanizmaların da olabileceğini düşündürmektedir.

İmmun sistem üzerine etkili olan maddelerin bitkiler aleminde bulunduğu ve bunların, sitokin salgılanmasına yol açarak immün sistemi etkiledikleri bilinmektedir (123). Sitokinlerin ise T lenfosit gelişmesi (124), B lenfosit (125), monosit (126,127), granulosit (128), LAK (129), NK (130,131), LGL (132), gibi immün sistem hücreleri üzerinde etkili olmakta ve direkt olarak immün yanıtların artmasını (6,133) sağlamaktadır. Sitokinler aynı zamanda hücre ve doku proliferasyonu (8,134,135), embriyonik gelişim (136), ve yara iyileşmesinde rol oynadıkları (137) artık bilinmektedir. Ülkemizde Yaraotu adıyla da bilinen bu bitkinin özellikle yanık yaraları gibi hızla iyileşmesi istenilen vakalarda kullanılması da (81), bitkinin bu tür sitokin salgılatıcı etkisi olmasından ileri gelebilir. Nitekim, genellikle immunomodulator madde verilen hayvanlarda gözlenen (138) ve IL-1, TNF, IL-6 gibi sitokinlerin de neden olabildiği (6,139) sedasyon durumu, Hyp verilmiş deney hayvanlarında da gözlenmiştir. Yine bu sitokinlerin, özellikle de IL-1'in endojen pirojen maddeler oldukları (140-142) düşünülürse, Hyp nin pirojenik etkinliğine de bakılmasının yerinde olacağı düşünülebilir.

Karaciğerde glutatyon miktarını azalttığı da bildirilen (143), AIDS etkeni HIV virusunun $CD4^+$ T hücrelerini inaktive ederek (144), hücrel immunitenin merkezinde yer alarak sitokin yapımında ve immün işlevlerde (6) de inaktivasyona yol açtığı bilinmektedir. Sitokinlerin antiviral etkilere yol açmalarının (145) yanısıra, NK ve LGL gibi artık üçüncü populasyon hücreleri olarak da adlandırılan (6) ve özellikle antitümoral etkili olan hücrelerin aktivitelerini arttırdığı bildirilmektedir (146). Bu açıdan bakıldığında, antihepatotoksik etkisini gözlemediğimiz ve ülkemizde yara iyileştirici (81), yabancı ülke halk tababetinde kanser de dahil olmak üzere çeşitli amaçla kullanılan (88) bu bitkinin, antiviral etkili olduğunun bildirilmesi (120) bu mekanizmanın sözkonusu olabileceğini göstermektedir.

Ayrıca, IL-1 tek başına antitümoral etkili (140,147) olmakla kalmayıp, akut faz proteinleri yapımını da artırmaktadır (13). Akut faz proteinleri arasında bradikinin gibi ağrı duyusu yaratan (10) kininlerin de bulunması, deney hayvanlarımızda görülen "Writhing Response" nedeninin bir açıklaması olabilir.

H. perforatum bitkisinin antidepresif ve "mood" değiştirici etkili (148), ve bitkide bulunan hiperisin'in MAO inhibisyonu yaptığı (92) daha önce bildirilmişse de, son yapılan bir çalışmada MAO inhibisyonu görülmediği bildirilmektedir (149). Sadece ekstre verildikten sonra barbituratla uyutulan hayvanların, kontrol grubundan anlamlı derecede fazla uyuması, bitkinin santral sinir sistemi üzerinde etkili olduğunu göstermekte, fakat MAO enzimleri üzerinde spesifik olarak etki hakkında yorum yapacak yeterlikte veriler sağlamamaktadır.

Bitki içinde bulunan prosiyanidin'lerin kalp üzerinde etkili olduğu ve hem atrial iletimde hem koroner kan akışında değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir (105). Böylece, bitkinin hepatotoksiteden başka kalp üzerinde de etkili olduğu görülmektedir.

Birçoğu endemik olmak üzere, ülkemizde yetmişe yakın türü olan *Hypericum* cinsine (82) ait *Hypericum perforatum* L. bitkisinin farmakolojik etkileri ve etken maddeleri henüz tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir. Antiviral (120), anti-AIDS (109) ve antihepatotoksik etkili olan *Hypericum* cinsinin, özellikle ülkemizdeki endemik türlerinin kimyasal bileşik ve dolayısıyla farmakolojik etki farklılıkları gösterebileceği düşünülürse, bu cinsinde daha yüksek etkilerin gözlenme olasılığı bulunduğu söylenebilir.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Paton, W.D.M.: On becoming and being a pharmacologist. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **26**:1-22, 1986.
2. Williams, P.L., Warwick, R.: Gray's anatomy, 36th Ed., Churchill-Livingstone, London, 1980.
3. Zeren, Z.: Sistematik insan anatomisi. Ekim yay. no.2, İstanbul 1972, pp.368-383.
4. Pick, P.T., Howden, R.: Anatomy, descriptive and surgical. Running press, Philadelphia, 1974, pp.933-945.
5. Snell, R.S.: Clinical anatomy. 2nd Ed., Little Brown Co., Boston, 1981, pp.196-211.
6. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D.: Immunology. 2nd Ed., Churchill-Livingstone, London, 1989.
7. Yoshioka, K.: Hepatic veins belong to the veins of the digestive tube in dogs. *Japan J. Pharmacol.*, **46**:424-427, 1988.
8. Fausto, N., Mead, J.E.: Regulation of liver growth. *Lab. Invest.*, **60**:4-13, 1989.
9. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.: Molecular biology of the cell. 2nd Ed., Garland, London, 1989.
10. Bowman, W.C., Rand, M.J.: Textbook of pharmacology. 2nd Ed., Blackwell, Oxford, 1980, ch.26.
11. Guyton, A.C.: Textbook of medical physiology. 7th Ed., WB Saunders, Philadelphia, 1986, pp.834-849.
12. Boikess, R.S., Breslauer, K., Edelson, E.: Elements of chemistry. Prentice-Hall, London, 1986.
13. Kushner, I.: The acute phase response. *Meth. Enzymol.*, **163**:373-383, 1988.
14. Goodman, L.S., Gilman, A.G., Rall, T.W., Murad, F.: Pharmacological basis of therapeutics. 7th Ed., MacMillan, New York, 1985.
15. Kayaalp, O.: Tibbi Farmakoloji. cilt 1, 2.baskı, Ankara, 1983.
16. Taylor, J.B., Rennewell, P.D.: Introductory medicinal chemistry. Ellis-Harwood, New York, 1981, pp.170-188.
17. Smart, R.C., Zannoni, V.G.: DT-Diaphorase and peroxidase influence the covalent binding of metabolites of phenol, the major metabolite of benzene. *Mol. Pharmacol.*, **26**:105, 1984.
18. Snyder, R., Jowa, L., Witz, G., Kalf, G.F., Rushmore, T.: Formation of reactive metabolites from benzene. *Arch. Toxicol.*, **60**:61-64, 1987.
19. Losa, M., Banoni, L., Longo, A.: The effects of acetylcysteine on liver glutathione depletion and hepatic necrosis induced by acetaminophen in mice. *Arch. Toxicol.*, **suppl.7**:266-267, 1984.
20. Brown, C.A., Black, S.D.: Membrane topology of mammalian cytochrome P450 from liver endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, **264**:4442-49, 1989.
21. Kalf, G.F., Rushmore, T., Snyder, R.: Benzene inhibits RNA synthesis in mitochondria from liver and bone marrow. *Chem-Biol. Interact.*, **42**:352-370, 1982.
22. Schwarz, C.S., Snyder, R., Kalf, G.F.: Inhibition of mitochondrial DNA replication in vitro by the metabolites of benzene. *Chem-Biol. Interact.*, **53**:327-350, 1985.
23. Matsuoka, T., Miyakoshi, S., Tanazawa, K., Nakahara, K., Hosobuchi, M., Sarizawa, N.: Purification and characterization of cytochrome P450 from *Streptomyces carbophilus*. *Eur. J. Biochem.*, **184**:707-713, 1989.
24. Bairoch, A.: Enzyme data bank, release 1, Univ. Geneva, Geneva (EMBL file server/BITNET), 1990.

25. Beeson, P.B., McDermott, W., Wyngaarden, J.B.: Cecil textbook of medicine. 15th Ed., WB Saunders, Philadelphia, 1979, pp.2044-50.
26. Tracey, K.J., Vlassaro, H., Cerami, A.: Cachectin/Tumor necrosis factor. *Lancet*, i:1122-25, 1989.
27. Grahame-Smith, D.G., Aronson, J.K.: Oxford textbook of pharmacology and drug therapy. Oxford Un. Press, Oxford, 1984, p.384.
28. Kitamura, Y., Kamisaki, Y., Itoh, T.: Hepatoprotective effects of cystathionine against acetaminophen-induced necrosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 250:667-671, 1989.
29. Tsokos-Kuhny, J.O.: Evidence in vivo for elevation of intracellular free calcium in the liver after diquat, acetaminophen and CCl₄. *Biochem. Pharmacol.*, 38:3061-67, 1989.
30. Parke, D.V., Ioannides, C.: Active metabolites in toxicology. *Arch. Toxicol.*, suppl.7:183-192, 1984.
31. Lutz, W.K.: Structurally characteristics of compounds that can be activated to chemically reactive metabolites. *Arch. Toxicol.*, suppl.7:194-208, 1984.
32. Bresinsky, A., Besl, H.: Giftpilze. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1985.
33. Torres, A.M., Rodriguez, J.V., Elias, M.M.: Vulnerability of the ascending limb to glutathione depletion in rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 250:247-253, 1989.
34. Peterson, J.E., Culcener, C.L.J.: Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. In: Plant and fungal toxins, Keeler, R.F., Tu, A.T. (Eds.), Marcel Decker Inc., New York, 1983, ch.19.
35. Frimmer, M.: Die leber als Klöranlage. *Biol. Unser. Zeit*, 12:168-172, 1982.
36. Wichtl, M.: Cancerogene substanzen in höheren pflanzen. *Pharmazeut. Z.*, 134(27):9-14, 1989.
37. Farnsworth, N.R., Bingel, A.S., Fong, H.H., Saleh, A.A., Christenson, G.M., Saufferer, S.M.: Oncogenic and tumor promoting spermatophytes and their active principles. *Cancer Treatm. Rep.*, 60:1171-1214, 1976.
38. Vogel, G.: Natural substances with effects on the liver. In: New natural products and plant drugs with pharmacological, biological and therapeutical activity. Wagner, H., Wolff, P. (Eds.), Springer, Berlin, 1977, pp.249-265.
39. Berkow, R.: The Merck manual of diagnosis and therapy. 15th Ed., Merck Co., Rahway, New Jersey, 1977, pp.830-891.
40. Caselmann, W.H., Eisenburg, J., Hoffschneider, P.H., Koshy, R.: b- and g-Interferon an chronic hepatitis B. *Gastroenterol.*, 26:449-455, 1989.
41. Vento, S., diPerci, G., Garofana, T., Cosco, L., Consia, E., Ferraro, T., Basetti, D.: Hazards of Interferon therapy for HBV-seronegative chronic hepatitis. *Lancet*, ii:926, 1989.
42. Mannering, G.J., Deloria, L.B.: The pharmacology and toxicology of interferons. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 26:455-515, 1986.
43. Başer, K.H.C., Honda, G., Miki, W.: Herb drugs and herbalists in Turkey. *Studia Culturae Islamicae* 27, Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, Tokyo, 1986.
44. Die Liste Pharmindex II/88. IMP Kommunikationgesellschaft mbH, Neu-Isenburg, 1988.
45. Yalçın, S., Çolakoğlu, Y., Sivas, A.: Karaciğer sirozunda silymarin (Legalon) tedavisinin protein sentezine etkisi. *Dirim*, 62(1-2):10-13, 1987.

46. Uzunyol, E., Kosuy, S., Simşek, İ., Zileli, N.: Silymarin tedavisinin karaciğer protein sentez yeteneğine etkisi. *Dirim*, **63**(5-6):131-135, 1988.
47. Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Abraham, P., Taylor, H., Hughes, T.J., Warner, J., McGivney, R.: Plant antimutagenic agents 1. General bioassays and isolation procedures. *J. Nat. Prod.*, **51**:866-873, 1988.
48. Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Abraham, P., Taylor, H., Hughes, T.J., Warner, J., McGivney, R.: Plant antimutagenic agents 2. *J. Nat. Prod.*, **51**:1084-91, 1988.
49. Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Abraham, P., Hughes, T.J., Taylor, H., McGivney, R.: Plant antimutagenic agents 3. Coumarins. *J. Nat. Prod.*, **51**:1148-52, 1988.
50. Huang, M.T., Chang, R.L., Wood, A.W., Newmark, H.L., Sayer, J.M., Yagi, H., Jerina, D.M., Conney, A.H.: Inhibition of the mutagenicity of bay-region diol-epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbon by tannic acid, hydroxylated anthraquinones and hydroxylated cinnamic acid derivatives. *Carcinogenesis*, **6**:237-243, 1985.
51. Nakagawa, S., Kasuga, S., Matuura, H.: Prevention of liver damage by aged garlic extract and its components in mice. *Phytother. Res.*, **3**:50-53, 1989.
52. Yamamoto, S., Kumagai, A.: Bupleiri radix and chronic hepatitis; experimental and clinical studies. In: Recent advances in traditional medicine in east Asia. Oda, T., Needham, J., Otsuoka, Y., Guo-Bin, L. (Eds.), Excerpta Medica, Amsterdam, 1985, pp.238-247.
53. Wagner, H., Geyer, B., Fiebig, M., Kiso, Y., Hikino, H.: Isobutrin and butrin, the antihepatotoxic principles of *Butea monosperma* flowers. *Planta Med.*, **2**:77-79, 1986.
54. Houghton, P.J., Hikino, H.: Antihepatotoxic activity of extracts and constituents of *Buddleja* species. *Planta Med.*, **55**:123-126, 1988.
55. El Tanbouly, N., Jopeux, M., Hanna, S., Fleurentin, J., El Alfy, T., Anton, R.: Antihepatotoxic effects of aqueous extracts from *Capparis spinosa*. *Planta Med.*, **suppl**:28, 1988.
56. Wong, S.M., Wagner, H., Benze, S., Antus, S.: Hepatoprotective activities of coumestans, anthraquinones, naphthopyrones, glycosides and iridoid glycosides. *Planta Med.*, **54**:566, 1988.
57. Wong, S.M., Seligmann, O., Wagner, H.: Isolation and structural elucidation of new antihepatotoxic naphtho-pyrone glycosides, naphtho- α -pyrone glycoside and anthraquinone glycosides from the seeds of *Cassia tora*. *Planta Med.*, **suppl**:45, 1988.
58. Fleurentin, J.: Repertoire des pharmacopees traditionelles du Yemen et etude pharmacologique de deux especes a prooprietes hepatorenales *Crepis ruepellii* et *Anisotes trisulcus*. *Al Biruniya*, **1**:56-61, 1985.
59. Chandra, T., Sadique, J., Somasundaram, S.: Effects of *Eclipta alba* in inflammation and liver injury. *Fitoterapia*, **58**:23-32, 1987.
60. Wagner, H., Geyer, B., Kiso, Y., Hikino, H., Rao, G.S.: Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulaceae*. *Planta Med.*, **52**:370-374, 1986.
61. Lexa, A., Fleurentin, J., Lehr, R.R., Mortier, F., Pruvost, M., Pelt, J.M.: Choleric and hepatoprotective properties of *Eupatorium cannabinum* in rat. *Planta Med.*, **55**:127-132, 1989.
62. Yamamoto, S., Mizogichi, Y., Morisawa, S.: Protection of liver cells against experimental damage by glycyrrhizin and treatment of chronic liver disease. In: Recent advances in traditional medicine in east Asia. Oda, T., Needham, J., Otsuoka, J., Guo-Bin, L. (Eds.), Excerpta Medica, Amsterdam, 1985, pp.238-247.

63. Daily, A., Seligmann, O., Nonenmacher, G., Fessler, B., Wong, S.M., Wagner, H.: New chromone, Coumarins, and Coumestan derivarives from *Musa acuminata* var. *hirsuta*. *Planta Med.*, 54:50, 1988.
64. Hikino, H., Kiso, Y., Kinouchi, J., Sanada, S., Shoji, J.: Antihepatotoxic actions of ginsenosides from *Panax ginseng* roots. *Planta Med.*, 51:62-64, 1985.
65. Woo, W.S., Kong, S.S., Seligmann, O., Chari, C.M., Wagner, H.: The structure of new lignans from the seeds of *Phytolacca americana*. *Tetrahedron Lett.*, 21:4255-4258, 1980.
66. Lin, C.N., Tome, W.P.: Antihepatotoxic principles of *Sambucus formosana*. *Planta Med.*, 54:232-234, 1988.
67. Der Marderosian, A.H.: Natural product medicine. Georg F. Stickley Co., Philadelphia, 1988, p.72.
68. Hikino, H., Kiso, Y., Wagner, H., Fiebig, M.: Antihepatotoxic principles of flavonolignans from *Silybum marianum* fruits. *Planta Med.*, 50:248-250, 1984.
69. Lin, C.N., Chung, M.I., Gan, K.H.: Novel antihepatotoxic principles of *Solanum incanum*. *Planta Med.*, 54:22, 1988.
70. Wagner, H., Geyer, B., Kiso, Y., Hikino, H., Rao, G.S.: Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulaceae*. *Planta Med.*, 52:370-374, 1986.
71. Hughes, B.G., Murray, B.K., North, J.A., Lawson, L.D.: Antiviral constituents from *Allium sativum*. *Planta Med.*, suppl:47, 1988.
72. Cavallito, C.J., Bailey, J.H.: Antibacterial principle of *Allium sativum* (I) isolation, phys. properties and antibacterial actions. *J. Am. Chem. Soc.*, 66:1950-1954, 1944.
73. Quereshi, A.A., Abuirmeileh, N., Din, Z.Z., Elson, C.E., Burger, W.C.: Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fractions of garlic. *Lipids*, 18:343-348, 1983.
74. Block, E., Ahmad, S., Jaun, M.K., Crecey, R.W., Apitz-Castro, R., Cruz, M.R.: The chemistry of alkylthiosulfate esters 8. (E-Z)-Ajoene: a potent antithrombotic agent from garlic. *J. Am. Chem. Soc.*, 106:8295-8296, 1984.
75. Ariga, T., Oshiba, S., Tamada, T.: Platelet-aggregation inhibitor in garlic. *Lancet*, i:150-151, 1981.
76. Peigen, X.: Recent developments on medicinal plants in China. In: Proc. 2nd Int. Meeting on Med. Aromat. Plants, Citta di Castello, 11-13 sept. 1981, p.179-192.
77. Horie, T., Murayama, T., Mishima, T., Itoh, F., Minamide, Y., Fuwa, T., Awazu, S.: Protection of liver microsomal membranes from lipid peroxidation by garlic extract. *Planta Med.*, 55:506-508, 1989.
78. Kleijnen, J., Knipschild, P., Ter Riet, G.: Garlic, onions and cardiovascular risk factors. A review of the evidence from human experiments with emphasis on commercially available preparations. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 28:535-544, 1989.
79. Qui, Y., Bernier, M., Hearse, D.J.: The influence of N-acetylsysteine on cardiac function and rhythm disorders during ischemia and reperfusion. *Cardioscience*, 1:65-75, 1990.
80. Handa, S.S., Sharma, A., Chakraborti, K.K.: Natural products and plants as liver protecting drugs. *Fitoterapia*, 5:307-351, 1986.
81. Baytop, T.: Türkiye'de bitkiler ile tedavi. İst. Ün. yay. no.3255, İstanbul, 1984, p.185.
82. Davis, P.H.: Flora of Turkey and east Aegean islands. v.2, Edinburgh Univ. press, Edinburgh, 1967, p.400.
83. Baytop, T.: Türkiye'nin tıbbi ve zehirli bitlileri. İst.ÜN. yay. no.1039, İstanbul, 1963.

84. Özgür, O.: Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitkileri. 1990 (yayınlanmamış çalışma).
85. Dymock, W., Warden, E.J.H., Hooper, D.: *Pharmacographia indica*, Thacker Spink & Co., Calcutta, 1890, p. 49.
86. Frances, C.: *Hypericum*, historic study of *Hypericum*. In: The history of medicinal and aromatic plants, Adly, A. (Ed.), Hamdard Foundation, Karachi, Pakistan, 1982, p.100.
87. Helton, J.A., Hylton, W.H.: *The complete guide to herbs*. Rodale press, Aylesbury, 1979, p.491.
88. Duke, J.A.: *Handbook of medicinal herbs*. CRC, Boca Raton, Florida, 1985, p.242.
89. *British herbal pharmacopoeia*. British Herbal Medicine Association, Part 1, West Yorks, 1976, p.117.
90. Wichtl, M.: *Teedrogen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1989, p.257.
91. Teucher, E.: *Pharmazeutische Biologie*. Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig, 1990, pp.250,293.
92. Suzuki, O., Katsumato, Y., Oya, M., Bladt, S., Wagner, H.: Inhibition of Monoamino oxidase by hypericin. *Planta Med.*, 50:272-274, 1984.
93. Grieve, M.: *A modern herbal*, Penguin, New York, 1982, p.708.
94. Arctandes, S.: *Perfume and flavor materials of natural origin*. Elizabeth, New Jersey, 1962, p.237.
95. Morelli, I., Bonari, E., Pagni, A.M., Tomei, P.E., Menichini, F., Amadei, L.: *Selected medicinal plants*. FAO Plant production and protection paper 53/1. Rome, 1983, p.82-86.
96. Reynolds, J.E.F. (Ed.): *Martindale the extra pharmacopoeia*, 29th Ed., Pharmaceutical press, London, 1989, p.779.
97. Okpanyi, S.N., Weischer M.L.: Tierexperimentelle untersuchungen zur psychotropen Wirksamkeit eines Hypericum-Extractes. *Arzn. Forsch. (Drug Res.)*, 37:10-13, 1987.
98. Jayasuriya, A.: *Principles of Scientific Homeopathy*. Colombo, Sri Lanka p. 202.
99. Kartnig, T., Grueber, A., Sauer, H.: Comparative phytochemical investigations of *Hypericum* species. *Planta Med.*, 55:215, 1989.
100. Johnson, A.E.: Photosensitizing toxins from plants and their biological effects. In: Plant and Fungal Toxins, Keeler, R.F., Tu, A.T. (Ed.), Marcel Dekker Inc., New York, 1983, pp.345-360.
101. Pfaender, F.: *A colour atlas of poisonous plants*. WOLFE, 1984, p.27.
102. Cooper, M.R., Johnson, A.W.: *Poisonous plants in Britain*. HMSO, London, 1984, p.132.
103. Araya, O.S., Ford, E.J.H.: An investigation of photosensitization caused by ingestion of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) by calves. *J. Comp. Pathol.*, 91:135-141, 1981.
104. Barbaferallo, C., Chisari, G.: Antimicrobial activity of three *Hypericum* species. *Fitoterapia*, 58:175-177, 1987.
105. Melzer, R., Fricke, U., Hölzl, J., Prodehl, R., Zylka, J.: Procyanidins from *Hypericum perforatum*: Effects on isolated guinea pig hearts. *Planta Med.*, 55:655-656, 1989.
106. Yang, L.L., Yen, K.Y., Kiso, Y., Hikino, H.: Antihepatotoxic actions of Formosan plant drugs. *J. Ethnopharmacol.*, 19:103-110, 1987.
107. Abraham, Z., Bhakuni, D.S., Garg, H.S., Goel, A.K., Mehrotra, B.N., Patnaik, G.K.: Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. *Ind. J. Exp. Biol.*, 24:48-68, 1986.

108. Kikuchi, T., Kadota, S., Matsuda, S., Tanaka, K., Namba, T.: Studies on the constituents of medicinal plants in Sri Lanka II. Isolation and structures of new gamma-pyrone and related compounds from *Hypericum mysorense* HEYNE. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**:557-564, 1985.
109. Wood, S., Huffman, J., Weber, N., Andersen, D., North, J., Murray, B., Sidwell, R., Hughes, B.: Antiviral activity of naturally occurring anthraquinones and anthraquinone derivatives. In: Bonn Bacons. Int. Symp. on Biol. Chem. of active subs., Jul.17-22, Bonn, 1990, FRG.
110. Klaassen, C.D.: Biliary flow after microsomal enzyme induction. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **168**:218-221, 1969.
111. Sharma, A.K., Anand, K.K., Pushpangadan, P., Chandan, B.K., Chopra, C.L., Prabhakar, Y.S., Damodaran, N.P.: Hepatoprotective effects of *Wedelia calendulaceae*. *J. Ethnopharmacol.*, **25**:93-102, 1989.
112. Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M.: Plant drug analysis. Springer, Berlin, 1984, p.110.
113. Fujimoto, J.M., Pearce, K.B., Plaa, G.L.: Barbiturate metabolism as affected by certain agents acting on the liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **129**:139-143, 1962.
114. Klaassen, C.D., Plaa, L.: Effect of Carbon tetrachloride on the metabolism, storage and excretion of sulphobromophthalein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **12**:132-139, 1968.
115. Malone, M.H.: Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity. Wagner, H., Wolff, P. (Eds.), Springer, Berlin, 1977, pp.23-53.
116. Finney, D.J.: Statistical methods in biological assay. Griffin, London, 1978.
117. Goldstein, A.: Biostatistics. An introductory text. McMillan, New York, 1964.
118. Hikino, H., Kiso, Y., Hatano, T., Yoshida, T., Okuda, T.: Antihepatotoxic actions of tannins. *J. Ethnopharmacol.*, **14**:19-29, 1985.
119. Decosterd, L.A., Evans, H.S., Chapuis, J.C., Sordat, B., Hostettmann, K.: New constituents with growth inhibitory activity against the Co-115 human colon carcinoma cell line and a new antifungal phloroglucinol derivative from *Hypericum calycinum*. *Planta Med.*, **55**:629-630, 1989.
120. Serkedjieva, J., Manolova, N., Nowosielska, I.Z., Zawilinska, B., Grzybeck, J.: Antiviral activity of the infusion (SHS-174) from flowers of *Sambucus nigra* L., aerial parts of *Hypericum perforatum* L., and roots of *Saponaria officinalis* L. against Influenza and *Herpes simplex* viruses. *Phytother. Res.*, **4**:97-101, 1990.
121. Mourelle, M., Meza, M.A.: CCl₄-induced lipoperoxidation triggers a lethal defect in the liver plasma membranes. *J. Appl. Toxicol.*, **10**:23-29, 1990.
122. Kiso, Y., Tohkin, M., Hikino, H.: Mechanism of antihepatotoxic activity of Atractylon, I. Effect on free radical generation and lipid peroxidation. *Planta Med.*, **51**:97, 1985.
123. Bomford, R.: Immunomodulators from plants and fungi. *Phytother. Res.*, **2**:159-164, 1988.
124. Trenn, G., Takayama, H., Li, J.H., Paul, W.E., Sitkowsky, M.V.: B cell stimulatory factor 1 (IL-4) enhances the development of cytotoxic T cells from Lyt-2⁺ resting murine T lymphocytes. *J. Immunol.*, **140**:1101-1106, 1988.
125. Nakagawa, T., Nakagawa, N., Ambrus, J.L., Fauci, A.S.: Differential effects of Interleukin 2 vs B cell growth factor on human B cells. *J. Immunol.*, **140**:465-470, 1988.

126. Becker, S., Warren, M.K., Haskill, S.: Colony-stimulating factor-induced monocyte survival and differentiation into macrophages in serum-free cultures. *J. Immunol.*, 139:3703-3710, 1987.
127. Haskill, S., Johnson, C., Eierman, D., Becker, S., Warren, K.: Adherence induces selectively mRNA expression of monocyte mediators and proto-oncogenes. *J. Immunol.*, 140:1690-1694, 1988.
128. Valtieri, M., Twardy, D.J., Caracciolo, D., Johnson, K., Mavilio, F., Altmann, S., Santoli, D., Rovera, G.: Cytokine dependent granulocytic differentiation. *J. Immunol.*, 138:3829-3835, 1987.
129. Kalland, T., Belfrage, H., Bhiladvala, P., Hedluna, G.: Analysis of the murine lymphokine-activated killer (LAK) cell phenomenon. *J. Immunol.*, 138:3640-3645, 1987.
130. Migliorati, G., Cannarile, L., Herberman, R.B., Bartocci, A., Stanley, E.R., Riccardi, C.: Role of IL-2 and hemopoietin-1 in the generation of mouse NK cells from bone marrow precursors. *J. Immunol.*, 138:3618-3625, 1987.
131. Kalland, T.: Physiology of Natural Killer cells. *J. Immunol.*, 139:3671-3676, 1987.
132. Vaage, J.T., Reynolds, C.W., Reynolds, D., Fossum, S., Rolstadt, B.: The proliferation and life-span of rat LGL: effects of cytokines. *Eur. J. Immunol.*, 19:1895-1903, 1989.
133. Ghiara, P., Boraschi, D., Nencioni, L., Ghezzi, P., Togliabue, A.: Enhancement of *in vivo* immune response by tumor necrosis factor. *J. Immunol.*, 139:3676-3679, 1987.
134. Barnard, J.A., Beauchamp, R.D., Coffey, R.T., Moses, H.L.: Regulation of intestinal epithelial cell growth by TGF- β . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:1578-1582, 1989.
135. Mead, J.E., Fausto, N.: TGF- β may be a physiological regulator of liver regeneration by means of an autocrine mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:1558-1562, 1989.
136. Paterno, G.D., Gillespie, L.L.: Fibroblast growth factor and transforming growth factor- β in early embryonic development. *Prog. Growth Fact. Res.*, 1:79-88, 1989.
137. Pierce, G.F., Mustoe, T.A., Lingelbach, J., Masakowski, V.R., Gramates, P., Denel, T.F.: TGF- β reverses the glucocorticoid-induced wound healing deficit in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:2229-2233, 1989.
138. Krueger, J.M.: Somnogenic activity of immune response modifiers. *Trend. Pharmacol. Sci.*, 11:122-125, 1990.
139. Dinarello, C.A., Mier, J.W.: Lymphokines. *New Engl. J. Med.*, 317:940-945, 1987.
140. Boraschi, D., Togliabue, A.: Structure-function relationship of IL-1 giving new insights for its therapeutic potential. *Biotherapy*, 1:377-389, 1989.
141. di Giovine, F.S., Duff, G.W.: Interleukin 1: the first interleukin. *Immunology* 11:13-20, 1990.
142. Dinarello, C.A.: Endogenous pyrogens. *Meth. Enzymol.*, 163:693-510, 1988.
143. Buhl, R.: Systemic glutathione deficiency in symptom free HIV-seronegative individuals. *Lancet*, ii:1003-1005, 1989.
144. Giorgi, J.V., fahey, J.L., Smith, D.C., Hurrin, L.E., Cheng, H., Mitsiyasu, R.T., Detels, R.: Early effects of HIV on CD4+ lymphocytes in vivo. *J. Immunol.*, 138:3725-3730, 1987.
145. Reis, L.F., Le, J., Hirano, T., Kishimoto, T., Vilcek, J.: Antiviral action of TNF in human fibroblasts is not mediated by B cell stimulatory factor 2/IFN- β_2 and is inhibited by specific antibodies to IFN- β . *J. Immunol.*, 140:1566-1576, 1988.

146. Seaman, W.E., Sleisenger, M., Ericksson, E., Koo, G.C.: Depletion of NK cells in mice by monoclonal antibodies to NK-1.1: Reduction in host defence against malignancy without loss of humoral immunity. *J. Immunol.*, 138:4539-4544, 1987.
147. Hashimoto, M.: Interkeukin 1: its possible roles in cancer therapy. *Biotherapy*, 1:327-339, 1989.
148. Hölzl, J., Demisch, L., Gollnick, B.: Investigations about antidepressive and mood changing effects of *Hypericum perforatum*. *Planta Med.*, 55:643, 1989.
149. Hölzl, J., Demisch, L., Stock, S.: Comparison of Hypericin and peroxide concentration of commercial and self-produced Oleum Hyperici and its effect on serotonin uptake. *Planta Med.*, 55:601-602, 1989.