

ISIRGAN OTU' NUN (*Urtica dioica* L.)
KANSERLEŞTİRİLMİŞ KARACİĞER ÜZERİNE ETKİSİNİN
IN VIVO ARAŞTIRILMASI

Hasan Emre ÖZBEK

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Temmuz-2002

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Hasan Emre ÖZBEK' in 'Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) nun Kanserleştirilmiş Karaciğer Üzerine Etkilerinin *In Vivo* Araştırılması' başlıklı Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi ..19.08.2002... tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) : Yard. Doç. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU	
Üye : Yard. Doç. Dr. Hülya ZEYTİNOĞLU	
Üye : Yard. Doç. Dr. Berrin TÜYLÜ	
Üye : Yard. Doç. Dr. A. Tansu KOPARAL	

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunu' nun
21.08.2002... tarih ve29/3..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Orhan ÖZER
Fen Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu araştırmam süresince, beni her yönden destekleyen ve yönlendiren, yardımını hiçbir zaman benden esirgemeyen, her konuda bilgisinden yararlandığım danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU' na, yardımlarını esirgemeyen ve tecrübelerinden yararlandığım, hocalarımdan bölüm ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet ÖZATA başta olmak üzere Sayın Doç. Dr. Süleyman Aydın' a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hülya ZEYTİNOĞLU' na ve çalışmalarım süresince hassasiyet ve anlayışlarıyla bana her konuda fedakarlık gösteren Sayın Yrd. Doç. Dr. A. Tansu KOPARAL ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Berrin Tüylü' ye, çalışmalarım sırasında yanımda olan ve bana yardımcı olan arkadaşım Cevat AKTAŞ' a, her konuda maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen aileme ve dostum Şevket KARADAĞ' a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer	3
2.1.1. Karaciğerin Yapısı	3
2.1.1.1. Stroma	3
2.1.1.2. Karaciğer Lobülü	3
2.1.1.3. Karaciğerde Kan Dolaşımı ve Hepatik Birimler	5
2.1.1.4. Hepatosit	7
2.1.2. Karaciğerin Fonksiyonları	9
2.1.2.1. Protein Sentezi	10
2.1.2.2. Safra Salgılanması	10
2.1.2.3. Metabolit Birikimi	11
2.1.2.4. Metabolik Fonksiyonları	11
2.1.2.5. Detoksifikasyon ve İnaktivasyon	11
2.1.2.6. Karaciğer Rejenerasyonu	11
2.2. Safra Kanalı	12
2.3. Hücre Zedelenmesi	12
2.3.1. Zedelenme ve Zedeleyici Faktörler	12
2.3.2. Hücre Zedelenmesinin Morfolojisi	13
2.3.3. Nekroz	14
2.4. Karaciğer Hastalığı	14
2.4.1. Karaciğer Yağlanması	15
2.4.2. Karaciğer Hücresi Nekrozu	15
2.4.3. Karaciğer Hastalığında Etkili Bitkiler	16
2.5. Karaciğer Kanseri	17
2.5.1. Karaciğer Kanseri Karşı Kullanılan Bitkiler	17
2.5.2. Karaciğer Kanseri	18
2.5.2.1. Benzen (Benzol C ₆ H ₆)	18
2.5.2.2. Kloroform (CHCl ₃)	20
2.6. Biyokimyasal Bilgiler	22
2.6.1. Biyokimyasal Testlerin Önemi	22
2.6.2. Alkalen Fosfat (ALP)	22
2.6.3. Transaminazlar (SGOT-SGPT)	23

2.6.4. Kanda Bilirubin	24
2.7. Isırgan Otu (<i>Urtica dioica</i> L.)	24
2.7.1. Botanik Bilgisi	24
2.7.2. İçerikleri ve Özellikleri	25
2.7.3. Folklorik Kullanım	26
2.7.4. Literatür Tarama	28
3. MATERYAL VE METOD	32
3.1. Deney Hayvanları	32
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	32
3.3. Benzen-kloroform Karışımının Hazırlanışı	33
3.4. <i>Urtica dioica</i> 'nın Toplanması ve Saklanması	33
3.5. <i>Urtica dioica</i> 'nın Sulu Ekstrelerinin Hazırlanışı	34
3.6. Araştırmanın Planı ve Deneysel Çalışma	35
3.6.1. Ağırlık Ölçümleri	36
3.6.2. Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Belirlenmesi	36
3.6.3. İstatistiksel Analizler	37
3.6.4. Histolojik Takip	37
3.6.5. Mikroskopi	38
4. BULGULAR	39
4.1. Ağırlık Değişimi Bulguları	41
4.2. Serumun Biyokimyasal Bulguları	44
4.3. Histolojik, Sitolojik ve Patolojik Bulgular	45
4.3.1. Serum Fizyolojik Uygulanan 1. Deney Grubu	45
4.3.2. Saf Zeytinyağı Uygulanan 2. Deney Grubu	47
4.3.3. Benzen-kloroform Karış. Uygul. 3. Deney Grubu (Kont.)	48
4.3.4. Meyve Ekstreli-Ballı Su Uygulanan 4. Deney Grubu	50
4.3.5. Yaprak Ekstreli-Ballı Su Uygulanan 5. Deney Grubu	51
4.3.6. Ballı Su Uygulanan 6. Deney Grubu	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	59
KAYNAKLAR DİZİNİ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
4.1. Karaciğerlerin makroskopik görünümüleri	41
4.2. Serum fizyolojik ve saf zeytinyağı uygulanan grupların karaciğerlerine ait histolojik kesitlerin görünümüleri.	55
4.3. Benzen-kloroform karışımı ve meyve ekstreli-ballı su uygulanan grupların karaciğerlerine ait histolojik kesitlerin görünümüleri.	56
4.4. Yaprak ekstreli-ballı su ve ballı su uygulanan grupların karaciğerlerine ait histolojik kesitlerin görünümüleri.	57
4.5. Benzen-kloroform karışımı uygulanan grubun farklı detaylarını gösteren histolojik kesitlerin görünümüleri.	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
3.1. Deney hayvanlarına yapılacak uygulamalarla ilgili genel plan.	35
4.1. Deney hayvanlarının karaciğerlerindeki ağırlık değişimi sonuçları.	42
4.2. Deney hayvanlarında karaciğer ağırlık değişimlerinin istatistiksel değerleri.	43
4.3. Serumun biyokimyasal analizlerinin sonuçları.	44
4.4. Serum biyokimyasal analizlerinin istatistiksel değerleri.	45

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ISIRGAN OTU' NUN (*Urtica dioica* L.) KANSERLEŞTİRİLMİŞ KARACİĞER ÜZERİNE ETKİSİNİN IN VIVO ARAŞTIRILMASI

HASAN EMRE ÖZBEK

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Melih Zeytinoğlu
2002, 79 Sayfa

Son yıllarda, ısırgan otu (*Urtica dioica* L.)'nin çok çeşitli kanser türleri üzerine etkili olduğu iddiaları ortaya atılmıştır, fakat literatürde bu iddiaları destekleyebilecek bulgulara rastlanmamıştır. Bu yaklaşımla çalışmamızda, *Urtica dioica*'nın farklı kısımlarından hazırlanmış ekstraktların ratlarda kanserleştirilmiş karaciğer üzerine etkilerini *in vivo* araştırmak amacıyla 2 aşamalı, 10 haftalık bir plan denenmiştir. Planın 1. aşaması olan kanserleştirme sürecinde benzen-kloroform karışımı (kontrol) 6 hafta süreyle 0.58 ml/kg dozunda haftada 3 kez intraperitoneal olarak uygulanmıştır. 2. aşamada, 7. haftadan başlayarak farklı gruplara meyve ekstreli-ballı su, yaprak ekstreli-ballı su, ballı su sırasıyla 1.02, 1.02, 8.5 gr/kg dozlarında 4 hafta süresince oral yoldan verilmiştir. Meyve ekstreli-ballı su uygulanan ratlarda, kontrol grubunda görülen histopatolojik bulgulara rastlanmamıştır ve ALP (alkalen fosfataz), SGPT (serum glutamipiruvat transaminaz) düzeyleri önemli bir düşüşle normal değerlere yaklaşmıştır ($P<0.001$). Yaprak ekstreli-ballı suyun etkisinin, meyve ekstreli-ballı suya göre daha düşük olduğu ve en düşük etkinin ballı su uygulanan grupta meydana geldiği belirlenmiştir.

Sonuçta, ısırgan otunun meyve kısmının kanserleştirilmiş karaciğer üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmüştür. Fakat elde edilen bulgular karaciğer dışında kalp, böbrek, iskelet kası gibi organlarda harabiyete yol açabileceğini göstermiştir. Bu bakımdan, ısırgan otunun meyve kısmındaki aktif maddelerin saflaştırılmasının ve bu aktif maddelerin karaciğerdeki mekanizmalarının aydınlatılmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler : *Urtica dioica* L., Kanserleştirilmiş Karaciğer, ısırgan Meyvesi, ısırgan Yaprığı

ABSTRACT

Master of Science Thesis

IN VIVO INVESTIGATIONS OF STINGING NETTLE (*Urtica dioica* L.) ON CANCEROUS LIVER

HASAN EMRE ÖZBEK

Anadolu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Program

Supervisor : Yrd. Doç. Dr. Melih Zeytinoğlu
2002, 79 Pages

In recent years, there has been claimed stinging nettle (*Urtica dioica* L.) to be effective on various types of cancer but no data has been supported by the nomenclature. Therefore, the study was aimed to investigate the effect of extract prepared from different parts of *Urtica dioica* L. on cancerous liver *in vivo*. For this aim, a plan was made at two steps for 10 weeks. At the first step, cancerous liver was induced by intraperitoneal administration of benzen-chloroform mixture (0.58 ml/kg) three times a week during 6 weeks. At the second step, fruit extract, leaf extract, water with honey were given to rats orally and they were given respectively at the doses of 1.02, 1.02, 8.5 gr/kg during 4 weeks. In rats treated with the fruit extract, histopathological findings were similar to normal rats and ALP, SGPT levels were significantly lowered to approximate levels of normal rats ($P<0.01$). The effect of leaf extract was found to be lower than fruit extract and the lowest effect was determined on water with honey.

As a result, it was considered that the fruit of stinging nettle to have positive effects on cancerous liver but the findings have demonstrated possible injuries on the other organs. For this reason, further studies will be focused on the isolation of active components and clarification with more details about the pathway concerning mechanisms in the liver.

Keywords : *Urtica dioica* L., Cancerous Liver, Nettle Fruit, Nettle Leaf

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanoğlu tıbbi bitkilerin bazılarını, tarihin en karanlık devirlerinden beri bilmektedir. Eski ulusların tıbbi bitkiler konusundaki bilgilerini, yaşadıkları dönemlerden kalma kitabeler ve arkeolojik materyallerden anlamaktayız. Asurlar'dan (M.Ö. 3000) kalma, kil tabakalara yazılmış, birçok hastalık ve bitki adları bulunmaktadır. Boğazköy' de (Hattuşas) çıkarılmış olan tabletlerde Hititlerin (M.Ö. 2000) de tıbbi bitkileri kullandıklarına ilişkin deliller bulunmuştur. Eski Mısırlılar, milattan 1550 yıl önce yazdıkları bir papirusta 450 kadar hastalığı, bitki ve hayvan kaynaklı ilaçları, tedavi usullerini kaydetmişlerdir (Baytop 1984 ve Ivanov ve ark. 1999).

Tıbbi bitkileri, eski Yunanlılar da ilaç olarak kullanmaktaydılar. Yunanlı Hipokrates (M.Ö. 460-377), zamanında kullanılan 236 tür tıbbi bitkiden bahsetmektedir. Yunanlı bilgin Dioskorides (ilk asır) ve meşhur hekim Galen (131-201 y.), birçok tıbbi bitki ve bitkisel kaynaklı preparat formülleriyle ilgili bilgi vermişlerdir. Bu tıbbi bitkilerden olan ısırgan otuyla (*Urtica dioica*) ilgili olarak diüretik ve ishal yapıcı olduğunu, astım, göğüs zarı iltihabı ve dalakla ilişkili hastalıklarda kullanıldığını bildirmişlerdir. Romalı doğabilimcisi Pliny the Elder (23-79) ısırgan otunun hemostatik (kanamayı durdurucu) özelliklerinden bahsetmiştir (Ivanov ve ark. 1999 ve Bwmenthal ve ark. 2000).

Günümüzde ısırgan otunun meyve (tohum yanlış adlandırma) ve yaprakları halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Halk arasında yaprakları kanser hastalığında tedavi amacıyla da kullanılmakta (Aksoy ve ark. 1988, Başer ve ark. 1986 ve Duke 1985), meyve veya yağının karaciğer aktivitesini arttırdığı söylenmektedir (Wichtl 1994 ve Bruneton 1999).

Halk ilacı olarak kullanılan birçok bitkinin, kanser oluşumuna kadar giden karaciğer rahatsızlıklarında etkili olduğu belirlenmişken (Ohminami ve ark. 1984, Kiso ve ark. 1985, Xiong ve ark. 2000, Song ve ark. 2001, Kiso ve ark. 1983 a, Budhiraja ve ark. 1986, Hikino ve ark. 1985, Kiso ve ark. 1984, Kiso ve ark. 1983 b, Xiang ve ark. 2001, Rastogi ve ark. 2000, Gallus ve ark. 2002, Weisburger 2001, Shertzer ve ark. 1999, Graham ve ark. 2000, De Lima ve ark. 2001, Dai ve

ark. 2002, Badisa ve ark. 2000 ve Buckle 1997), ısırgan otunun bu rahatsızlıklar üzerine etkisiyle ilgili bilimsel bir bulguya rastlanmamıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda yaptığımız araştırmamızda, kanserojenlere maruz bırakılmış karaciğerde kanserleştirme sürecinde meydana gelen değişimler saptanmış, *Urtica dioica*'nın yaprak ve meyve kısımlarından hazırlanan sulu ekstraktların bu değişimlere pozitif veya negatif etkilerinin olup olmadığı, karaciğer histolojisi, sitolojisi, patolojisi, ağırlık değişimleri ve enzim aktiviteleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmeye çalışılmıştır.

2. TEORİK BİLGİLER

2.1. Karaciğer

Karaciğeri, sindirilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılması için depolandığı bir organ olarak tanımlayabiliriz (Junqueira ve ark. 1992).

Karaciğer, deri hariç, vücudun en büyük organı ve bezidir, ağırlığı ise yaklaşık olarak 1400 ile 1600 gr. aralığında bulunmuştur (Junqueira ve ark. 1992, Sherlock 1975, Murathanoğlu 1996, Erbeni 1990, Tunçer ve ark. 2000 ve Banlı 1997). Karın boşluğunun sağ tarafında, diyaframın altına yerleşmiştir (Erbeni 1990 ve Junqueira ve ark. 1992). Karaciğere kanın % 70-80' i portal venden gelmekte, geri kalan az bir bölümü hepatik arterle sağlanmaktadır. İnce barsaklardan emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşmakta, sadece kompleks lipidler (şilomikronlar) lenf damarlarıyla taşınmaktadırlar. Karaciğerin dolaşım sistemindeki yeri, metabolitlerin biriktirilip taşınması ve toksik maddelerin etkisiz hale getirilmesi için çok uygundur. Toksik maddeler, etkisiz hale getirildikten sonra safrayla atılmaktadırlar (Junqueira ve ark. 1992).

2.1.1. Karaciğerin Yapısı

2.1.1.1. Stroma

Karaciğeri, diyaframa bağlı olduğu bölgesi dışında, hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) örtmektedir. Kapsülün dışında, mezotel yer almıştır. Bu mezotel örtü, patojen bakterilerin ve diğer zararlı etkenlerin karaciğere girişlerini engellemektedir. Hilumda, organa portal ven ve hepatik arter girmekte, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkmaktadırlar (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992).

2.1.1.2. Karaciğer Lobülü

Karaciğerin asıl yapısını karaciğer hücreleri ya da hepatositler oluşturmuştur. Hepatositler, yan yana gelerek bir duvarın tuğlaları gibi 1 veya 2

hücre kalınlığında bir tabaka oluşturmuşlardır. Bunlara karaciğer hücre kordonları adı verilmiştir. Bu hücre kordonlarının arasında, düzensiz olarak genişlemiş, değişik biçim ve büyüklükte olan kapilar damarlar yer almaktadır. Bunlara 'sinüzoidler' adı verilmiştir. Hücre kordonları, sinüzoidlerin açıldığı merkezi ven (*Vena sentralis*) etrafında, ışınal bir görünümde dizilmişlerdir ve karaciğerin anatomik birimleri olan, karaciğer lobülleri (hepatik lobüller) ni oluşturmuşlardır.

Klasik karaciğer lobülü piramite benzemektedir ve genellikle kesitte heksagonal şekillidirler. Karaciğerin işlevlerini üstlenmiş olan lobül, karaciğer için bir fonksiyon birimi özelliğini taşımaktadır ve 'hepaton' diye de isimlendirilmektedir.

Karaciğer lobüllerinin köşelerinde portal alanlar yer almışlardır ve bunlar portal triadlarla çevrilmişlerdir. İnsan karaciğeri her lobülde 3-6 portal triad içermektedir. Her portal alan, gevşek bağ dokusu içine gömülü hepatik arterin, portal venin, safra kanal sisteminin kollarını, lenf damarlarını ve sinir fibrillerini içeren bir yapı olarak görülmektedir (Junquiera ve ark. 1992, Murathanoğlu 1996, Erben 1990, Sağlam 1987 ve Wright 1966).

Sinüzoidler endotelyal hücre tabakasından oluşmuşlardır. Endotelyal hücreler hepatositlerden Disse aralığı (space of Disse) adı verilen subendotelyal bir boşluğa ayrılmıştır. Kan sıvısı endotelyal duvardan kolayca geçmekte ve hepatosit yüzeyi ile temas etmektedir. Böylece makromoleküllerin sinüzoidal lümenle karaciğer hücreleri arasındaki alış-verişine izin vermektedir. Bu şekilde, hepatositler makromolekülleri (örn. Lipoproteinler, albumin, fibrinojen) kana verirler ve aynı zamanda bunları yıkımını yaparlar. Dolayısıyla, bu alış-veriş fizyolojik önem taşımaktadır. Sinüzoidler mononükleer fagositleri de içerirler. 'Kupffer' hücreleri adı verilen bu hücreler, endotelyal hücrelerin lümene bakan yüzeyinde bulunmaktadırlar (Junqueira ve ark. 1992). Geniş stoplazmaları ve düzensiz yüzeyleriyle tanınırlar. Zon 1 (periportal) ve Zon 3' de (sentrolobular) çok sayıda bulunurlar (Bioulac-sage ve ark. 1988). Bu tipik makrofajlar, yaşlanmış eritrositleri sindirmekte ve immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktadırlar. Disse aralığındaki yağ depolayan (Ito) hücreler yıldıza benzer bir görünüme sahiptirler. Bu hücreler, dışarıdan verilen A vitaminini lipid

damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirmektedirler (Junqueira ve ark. 1992).

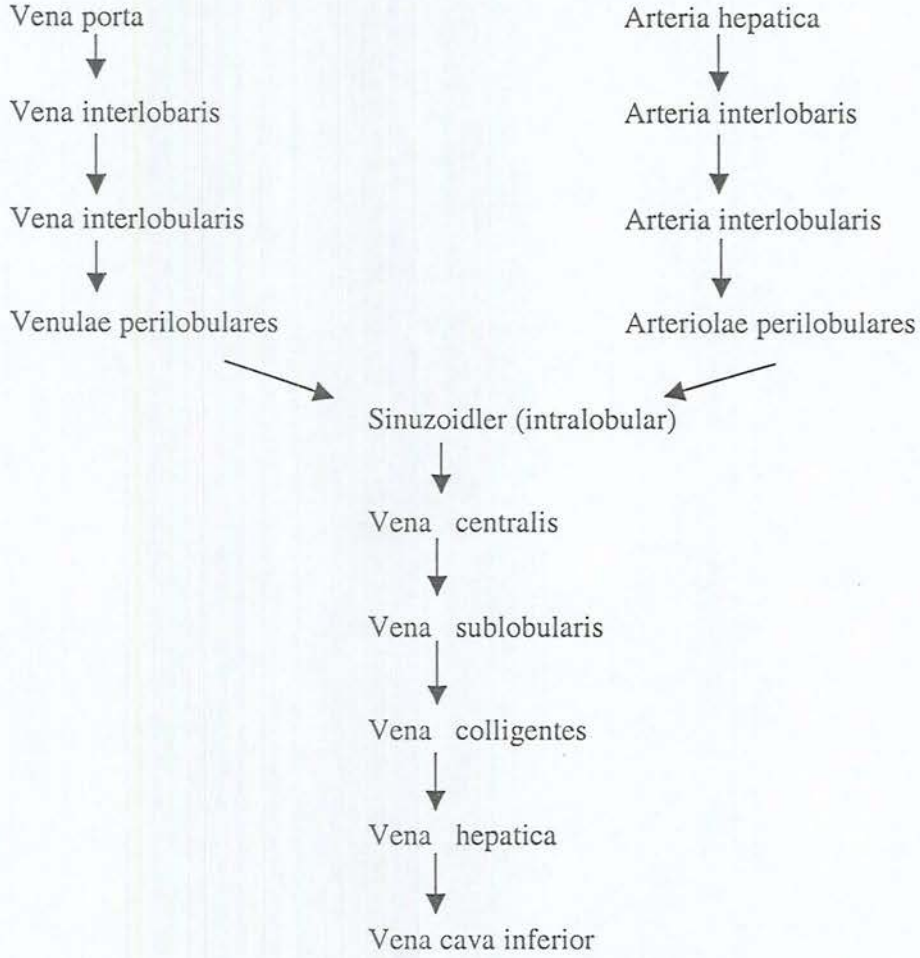
2.1.1.3. Karaciğerde Kan Dolaşımı ve Hepatik Birimler

Karaciğere kan, 2 farklı yoldan gelmektedir. Bu yollarda birtanesi, sindirim sistemi organlarından gelen oksijen fakir ama besince zengin kanı taşıyan kapı toplardamarı (portal ven) olarak bilinmektedir. Diğerine ise karaciğer atardamarı (hepatik arter) adı verilmekte ve oksijeni bol kanı taşımaktadır (Junqueira ve ark. 1992 ve Tunçer ve ark. 2000).

Portal ven sistemini incelediğimizde, portal venin (*Vena porta*) defalarca dallandığını ve portal triadlara küçük portal venüller (*Vena interlobularis*) verdiğini görmekteyiz. Bazen interlobüler dallar olarak da isimlendirilen portal venüller, dağıtıcı venler (*Venulae perilobulares*) halinde dallanmaktadırlar ve lobülün periferini dolaşarak seyretmektedirler. Dağıtıcı venlerden çıkan küçük giriş venülleri (inletler) sinüzoidlere açılmışlardır. Sinüzoidler de ışınal seyrederek lobülün merkezinde sentral veni (*Vena centralis*) oluşturmak üzere birbirlerine yaklaşmaktadırlar. Sentral ven, lobül boyunca ilerledikçe daha fazla sinüzoid almakta ve çapı artarmaktadır, lobülden çıktığında daha geniş sublobüler bir venle (*Vena sublobularis*) birleşmektedir. Sublobüler venler giderek birbirlerine yaklaşırlar ve kaynaşırlar. Hepatik venleri (*Vena hepatica*) oluştururlar. Bu venlerde *Vena cava inferior*' a açılmaktadır (Junqueira ve ark. 1992 ve Erben 1990).

Arterial sistemi incelediğimizde, hepatik arter (*Arteria hepatica*) defalarca dallanmış ve interlobüler arterleri (*Arteria interlobularis*) oluşturmuştur. Bazıları portal kanallara akarken bazıları da portal aralıktan değişen uzaklıklardaki sinüzoidlerin içerisine direkt giren arterioller (giriş arterioller; *Arteria perilobulares*) oluşturmuşlardır (Junqueira ve ark. 1992 ve Erben 1990).

Karaciğer dolaşım yolları aşağıda şema halinde verilmiştir:



Karaciğerdeki kanın, lobülün periferinden merkezine doğru aktığını görmekteyiz. Bu sayede, oksijen, metabolitler, ince barsaktan emilen diğer bütün toksik ve toksik olmayan maddeler önce lobülün periferindeki hücrelerine sonra da merkezindeki hücrelerine ulaşmaktadırlar. Bu da perilobüler hücrelerin sentrolobüler hücrelerden farklı davranmasının nedenini açıklayabilmektedir (Junquiera ve ark. 1992 ve Erbeni 1990).

Karaciğerde temelde 3 ayrı tip birim görülmektedir:

- Klasik hepatik lobül
- Portal lobül
- Hepatik asinus

Karaciğerdeki birimler incelediğinde, klasik hepatik lobülde başka portal lobül birimine rastlanmaktadır. Klasik karaciğer lobülü, poligonal olarak görülürken, portal lobül üç köşeli olarak görülmektedir. Her köşesinde bir sentral ven bulunmaktadır. Bu anlamda, birbiriyle birleşmiş 3 karaciğer lobül parçasından meydana gelmiştir.

Karaciğerin işlevsel lobüllerinden biri de karaciğer parenkimasının bir birimi olarak kabul edilen hepatik asinusdur (Rappaport). Bu birim, dağıtıcı venlerin uç dallarıyla beslenmektedir. Kesitlere bakıldığında, baklava gibi görülmektedir (Junqueira ve ark. 1992).

Hepatik asinusda, dağıtıcı venlere (*Venulae perilobularis*) olan yakınlığına göre hücreler zonlara ayrılmışlardır. En yakın karaciğer parenkim bölgesi 'Zon 1', bunu izleyen bölge 'Zon 2' ve *Vena centralis*' e komşu Acinus bölümü de 'Zon 3'ü meydana getirmektedir. Böylece, Zon1, kandan beslenme bakımından en iyi yararlanan bölgedir. Ayrıca, karaciğer dokusunun rejenerasyonu gerektiğinde, bu bölge çok çabuk yenilenmektedir. Zon 2 kana ikinci derecede cevap verir. Zon 3 deki hücreler, önceden Zon 1 ve Zon 2 deki hücreler tarafından değiştirilmiş olan portal ven kanıyla karşılaşır. Dolayısıyla Zon 3'e doğru kan daha az besleyicidir ve bozulmalara az dirençli bir bölgedir (Erbengi 1990 ve Junqueira ve ark. 1992).

Birbaşka deyişle, karaciğerdeki zonlar kandan etkilenme düzeylerine göre 3 farklı isimle adlandırılmaktadırlar:

- Periportal bölge (Zon 1)
- İnterlobüler bölge (Zon 2)
- Sentrolobüler bölge (Zon 3)

2.1.1.4. Hepatosit

Hepatositlerin 6 veya daha fazla yüzeyleri bulunmaktadır. Nukleus küre şeklindedir ve hücrenin ortasında yer almaktadır. Bir lobüldeki hücrelerin %25' i çift nükleusludur. Tek nükleuslu olanların %70'i de, tetraploid hücrelerdir. Sitoplazmanın, organel açısından çok zengin olduğu belirlenmiştir. Hematoksilin ve eosinle boyanmış kesitler incelendiğinde, çok sayıda mitokondri ve biraz düzgün yüzeyli endoplazmik retikulumun bulunması nedeniyle hepatositin

sitoplazması eozinofilik boyanmaktadır. Hepatositte, bol endoplazmik retikulum (hem granüllü hem de granülsüz) bulunmaktadır. Uzun keseler halindeki granüllü endoplazmik retikulumlar, karaciğer hücrelerinde gruplar halinde görülmektedirler. Ribozom ' granülleri sebebiyle granüllü endoplazmik retikulumun bulunduğu bölgeler ışık mikroskobunda bazofil bölgeler (bazofilik cisimler) olarak görülen bölgelerdir (Karol ve ark. 1995, Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992).

Yağlar alkolde, glikojen suda eriyen bileşikler olduklarından, bu maddelerin zorunlu olarak kullanılmasıyla hazırlanan rutin karaciğer preparatlarında, yağ ve glikojenin bulunduğu bölgeler boş olarak gözlenmekte ve stoplazma süngersi bir görünüş vermektedir (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992).

Karaciğer hücrelerinin herbirinin yüzeyi, Disse aralığı yoluyla, sinüzoidlerin duvarıyla ve diğer hepatositlerin yüzeyiyle temas etmektedir. 2 hepatositin bitişik olduğu yerde, hücrelerin arasında tubuler bir aralık bulunmakta ve safra kanalikülü (*bile canaliculus*) olarak isimlendirilmektedir. Hepatositlerde üretilen safra hepatositlerin arasındaki boşluklara boşluklara (kanalikuli) girmekte, safra kanalına boşalana kadar triad boyunca ilerlemektedir ve sonunda hepatik safra kanalına dökülmektedir (Banlı 1997 ve Junqueira ve ark. 1992).

Safra, kanın akışına zıt olarak, klasik lobülün merkezinden periferine doğru akmaktadır. Periferde safra, safra kanalcıklarına (*bile ductules*) ya da Herring kanallarına girmektedir. Herring kanallarının iç yüzlerinde, tek tabakalı kübik epitel bulunmaktadır. Kanalcıklar kısa bir yol aldıktan sonra lobülün hepatositlerini geçmekte ve portal triadlardaki safra kanallarıyla (*bile ducts*) birleşmektedirler. Kanallar giderek genişlerler ve kaynaşırlar. Böylece sağ ve sol hepatik kanalları oluşturmakta ve sonunda karaciğerden ayrılmaktadırlar (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992).

Karaciğer hücresi glükozu, glikojen halinde depo edebilmektedir ve bunu da doğrudan doğruya gerçekleştirmektedir. Glikojenin suda çözülmesine bağlı olarak canlı hücrelerle hazırlanan preparasyonlarda gözlemlenememektedir. Fakat çeşitli tespit çözeltileri uygulanmakta ve hücrede küçük granüller halinde

çöktürerek görmek mümkün olmaktadır. Bunların yanı sıra, glikojen histokimyasal olarak da iyot reaksiyonu ile meydana getirdiği kıvılcık kahverengi ile tanınmaktadır (Sencer 1983 ve Karol ve ark. 1995).

İnsan karaciğerinde yaklaşık olarak 50-100 g glikojen bulunmaktadır (Taner 1975 ve İmren 1977). Karaciğer glikojeni, besin alımına çok sıkı olarak bağlıdır. Yalnız aşırı beslenme ile karaciğerin glikojen deposunu artırmak mümkün olmamaktadır. 12 saat aç kalındığında glikojen konsantrasyonu %1'in altına düşmektedir. Bir günlük açlıktan sonra ise karaciğerde hemen hemen hiç glikojen bulunmadığı belirlenmiştir. Bu durumda glukagon ve adrenalin kan glikoz konsantrasyonunu yükseltmemekte, çünkü karaciğerde harekete geçirilebilecek glikojen bulunmamaktadır. Yeni doğmuş bebeklerin genellikle glikojen depoları bulunmaktadır. Erken ve uterus içi beslenmesi iyi olmamış yeni doğmuş bebeklerde ise çok az glikojen yedeği bulunmaktadır (İmren 1977 ve Junqueira ve ark. 1992).

Organelleri incelediğimizde, krista tipli mitokondrionlar, hepatosit metabolizması ile ilgili sayı ve iç yapı değişiklikleri göstermişlerdir. Golgi komplekslerinin sayıları birden fazla olabilmekte ve lameller, veziküllerden yapılmış yapıları ile nukleus yakınında ve çoğunlukla da safra kanaliküllerine doğru kutuplaşma halinde bulunmaktadırlar (Erbengi 1990).

2.1.2 Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğer hücresi vücudun çok yönlü bir hücresi olarak düşünülebilir. Bu bakımdan, karaciğer hücreleri hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonludurlar; bazı maddelerin sentezini yaparlar ve biriktirirler, bazılarının toksik etkilerini giderirler, bazılarını da taşırlar (Junqueira ve ark. 1992).

Bu anlamda, karaciğerin fonksiyonları aşağıdaki gibi gruplandırılabilir:

- Eksokrin fonksiyon (Safra salgılanması)
- Endokrin fonksiyon (Protein sentezi)
- Metabolit birikimi
- Metabolik fonksiyon
- Detoksifikasyon

2.1.2.1. Protein Sentezi

Karaciğer hücresi, kendisi için gerekli proteinlerin sentezine ek olarak, salgılamak için çeşitli plazma proteinlerini (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezlemektedir. Bu proteinlerin sentezi granüllü endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılmaktadır. Sentezlenen proteinler, diğer hücrelerde olduğu gibi, salgı granülleri içinde stoplazmada saklanmamakta, sürekli olarak kana verilmektedirler. Böylece endokrin bir bez olarak da fonksiyon görmektedir (Junqueira ve ark. 1992 ve Murathanoğlu 1996).

2.1.2.2. Safra Salgılanması

Karaciğerdeki esas eksokrin fonksiyon, hepatositlerde üretilen safranın, safra kanalikülleri içine salgılanmasıdır. Safra yapısında safra pigmentleri, safra tuzları, fosfolipidler, yağ asitleri, su ve elektrolitler bulunmaktadır. Bu unsurlar arasında sadece safra pigmentleri hepatositte sentezlenmemektedir (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992). Safra tuzları ince barsaklar içinde lipidlerin çözülmesine yardımcı olan miçeller şeklinde kolesterolden yapılmış moleküllerdir. Temel etkileri yüzey gerilimini azaltmaktır (Banlı 1997).

Bu bileşiklerin anormal oranlarda olması safra taşlarının (cholelithiasis) oluşumuna neden olabilmektedir. Safra taşları (gallstones) safra akımını engelleyebilir ve safra kanalikülleri çevresindeki tight junctionların parçalanmasıyla sarılığa (kandaki safra pigmentleri) neden olabilmektedir (Junqueira ve ark. 1992).

Bilirubin, yaşlanmış eritrositlerin lizisiyle ortaya çıkan hemoglobinin bir parçalanma ürünüdür. Toplam eritrosit hacminin yaklaşık 1/120'si hergün dalak tarafından ortadan kaldırılır. Karaciğer hücreleri kanda albumine bağlanarak taşınan bilirubinin hemen tamamını aldıktan sonra; suda çözünebilen ve safraya atılabilecek şekle getirmek için glukuronid molekülleri ile konjuge ederler. Bu işleme glukuronizasyon adı verilmektedir (Banlı 1997).

2.1.2.3. Metabolit Birikimi

Lipidler ve karbonhidratlar, trigliseritler ve glikojen şeklinde karaciğerde depolanmaktadır. Metabolitleri depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemli görülmüştür. Karaciğer, vitaminler (özellikle A vitamini) için de büyük bir depo görevi görmektedir (Junqueira ve ark. 1992).

2.1.2.4. Metabolik Fonksiyonları

Hepatosit, glükoz olmayan molekülleri (lipitleri, aminoasitleri ve dolaylı olarak laktik asiti) glükoza dönüştürebilir. Bu dönüşüm kompleks enzimatik bir olaydır ve glükoneojenez diye adlandırılmıştır (Ganong 1996, Junqueira ve ark. 1992 ve Sencer 1983). Glükoneojenezin gayesi dışarıdan glikoz alınmadığı zaman dokuların (özellikle merkezi sinir sisteminin) beslenmesini emniyet altına almaktır (Taner 1975, İmren 1977 ve Karol ve ark. 1995).

Normal hücresel döngüde ve ince barsaklarda proteinin bakterilerce parçalanmasıyla kan akımına karışan amonyak gibi nitrojenli ürünler ortaya çıkmaktadır. Hepatosit, amonyak ve diğer nitrojenli bileşiklerin üre nitrojenine çevrildiği yerdir (Banlı 1997).

2.1.2.5 Detoksifikasyon ve İnaktivasyon

Çeşitli ilaçlar ve maddeler oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla inaktive edilebilir. Bu olaya katılan enzimler başlıca granülsüz endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. Glukuronik asidi bilirubine bağlayıcı enzim glukuronil transferaz, steroidler, antihistaminler gibi çok sayıda bileşiklerin de konjugasyonunu sağlamaktadır (Junqueira ve ark. 1992).

2.1.2.6. Karaciğer Rejenerasyonu

Hücreleri yavaş yenilenmesine karşın, karaciğer rejenerasyon potansiyeli çok yüksek olan bir dokudur (Banlı 1997 ve Junqueira ve ark. 1992). Karaciğer dokusunun cerrahi yolla yada toksik maddelerin etkisiyle kaybı, karaciğer hücrelerinin bölünmesini başlatan ve dokunun orijinal kitlesi oluşuncaya kadar

devam eden bir mekanizmaya neden olmaktadır (Junqueira ve ark. 1992). Sıçanda karaciğerin, deneysel yolla çıkarılmış parçasının %75' ini yenilediği belirlenmiştir (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992). Karaciğerdeki yenilenme olayını kalonlar düzenlemektedirler. Kalonlar kanda bulunurlar. Her doku için, özel bir kalon çeşidi bulunmaktadır (Murathanoğlu 1996). Doku zarar gördüğünde, bu dokudaki kalonların miktarı azalmakta, bunu takiben dokudaki mitoz artmaktadır. Rejenerasyon ilerledikçe kalonların miktarı artmakta ve mitoz azalmaktadır. Bu olay kendiliğinden dengelenmektedir. Yenilenen karaciğer dokusu, genellikle kaybedilen dokuya benzemektedir. Organa gelen hasar sürekli olduğunda ve tekrarlandığında karaciğer hücre yenilenmesi ve aşırı bağ dokusu artışı aynı zamanda meydana gelmektedir. Bağ dokusundaki bu aşırı artış, karaciğerin yapısını bozmaktadır ve siroz olarak isimlendirilmektedir (Junqueira ve ark. 1992).

2.2. Safra Kanalı

Karaciğer hücreleri tarafından üretilen safra, safra kanalikülleri, safra kanalcıkları ve safra kanalları yoluyla akmaktadır. Ağ oluşturan bu yapılar giderek birleşirler ve hepatik kanalı (*ductus hepaticus*) oluştururlar. Hepatik kanal, safra kesesinden çıkan sistik kanalı (*d. cysticus*) aldıktan sonra ana safra kanalı (*d. choledochus*) olarak duodenuma ulaşmaktadır.

Hepatik, sistik ve genel safra kanalları, tek katlı prizmatik epitelle örtülmüştür. İnce olan lamina propria'nın çevresinde çok ince bir düz kas tabakası bulunmaktadır. Bu kas tabakası duodenum yakınında kalınlaşmakta ve sonunda, safra akımını düzenleyen bir sfinkteri oluşturmaktadır (Oddi sfinkteri) (Junqueira ve ark. 1992).

2.2. Hücre Zedelenmesi

2.3.1. Zedelenme ve Zedeleyici Faktörler

Normal hücre, değişen stresler ve uyaranlara karşı kendini koruyabilme yeteneğine sahiptir. Dayanıklılığın bu sınırlı değişimleri ve hücrenin çevresel

değişikliklerden en az etkilenmesi olayı, homeostasis (denge) olarak bilinmektedir. Bir hastalığın ortaya çıkışı hücrelerin hemostasisi sürdüremeyecekleri kadar olumsuz koşulların sonucudur. Hücre bu olumsuz koşullara adaptasyon göstererek sağlığını korumaktadır. Adaptasyon mekanizmaları aşıldığı zaman, hücre zedelenmesi ortaya çıkmaktadır (Banlı 1997).

Genel olarak hücrede zedelenme yapan herhangi bir olay iltihabi reaksiyon sebebi olabilir. İltihabi reaksiyonun önemli sebepleri aşağıda sıralanmıştır:

1. Kesme veya sıyrılma gibi mekanik travma
2. Asit, alkali ve fenol gibi kimyasal ajanlar
3. Ultraviyole veya X ışını
4. Aşırı sıcak veya soğuk
5. Arteriel beslenmenin azalmasına bağlı alttaki dokunun ölümü
6. Bakteri , virus , parazit , kurt ve mantar gibi canlı organizmalar
7. Yabancı proteinler ve ilaçlara karşı oluşan allerjik ve otoimmün yanıtlar
8. Vitamin ve mineral eksikliği, obezite gibi beslenme faktörleri (Patıroğlu 1994, Banlı 1997 ve Birol 1995).

2.3.2. Hücre Zedelenmesinin Morfolojisi

Hücre zedelenmesi, bir noktaya kadar reversible (geri dönüşümlü) iken stres devam ederse irreversible (geri dönüşümsüz) olur ve hücre ölür (Banlı 1997).

Hücrede geri dönüşsüzlüğü karakterize eden olaylar, membran görevlerinin ciddi bozukluğu ve mitokondri bozukluğunun oksijen verilmesine rağmen düzeltilememesidir. Membran permeabilitesinin değişmesiyle bozulan su-elektrolit dengesine bağlı olarak hücrede oluşan temel değişiklikler :

1. Bulanık şişme : Zedelenen hücreler, hücre şekli değiştiğinden büyük görünürler. Membranda aktif transport bozulmuştur; Na^+ hücre içine girmekte, K^+ dışarı çıkmaktadır. Hücre içi su miktarı artmış, hücre çapı büyümüştür, vakuoller oluşmuştur. Bu evreye hidropik veya vakuoler dejenerasyon adı verilmektedir. İleri derecede vakuollu, hidropik dejenerasyona özel olarak balonlaşma reaksiyonu denmektedir. Hipokalemi, aşırı süktroz yüklenmesi, sıvı elektrolit

dengesizliği, fizikokimyasal etmenler (kloroform, yanıklar, karbon tetraklorid) ve enfeksiyon ile bu değişiklikler başlatılabilir.

2. Glikojen infiltrasyonu : Stoplazma veya çekirdekte depolanmış hücre içi glikojeninde artışa bağlı olarak gelişmektedir.

3. Yağlı dejenerasyon : Prankimal hücre stoplazmasında anormal lipid birikimidir. Bakteriyel veya viral enfeksiyonlara, etanol, kloroform, karbon tetraklorid, fosfor, piromisin, orotik asit gibi maddelerin neden olduğu fizikokimyasal değişikliklere, anemide olduğu gibi O₂ yokluğu veya gebelikteki gibi beslenme yetersizliklerine ikincil olarak ortaya çıkmaktadır. Yağlanmış karaciğer makroskobik olarak büyük ve sarı renklidir. Normal karaciğerde hücre içinde trigliseritlere rastlanmaz. Hücrede yağ vakuolleri görölüyorsa, yağ yapımı, kullanımı veya mobilizasyonunda bir bozukluk meydana gelmiştir. Bazı hallerde karaciğerde hücre yağlanması, hücre nekrozunun bir habercisi de olabilir. Karaciğerde yağlanma şiddetliyse karaciğerde ağırlık artımı olur, hepatomegali gözlenir. Kesitlerde sarı, yağlı bir görünüm izlenir. Karaciğerde yağlanma, ışık mikroskobunda karaciğer hücresi etrafında küçük vaküoller olarak başlar. Büyüyen vaküoller çekirdeği bir kenara iter ve membranı yırtar. Birkaç hücrenin biraraya gelmesiyle yağ kistleri oluşur.

4. Hyalen Dejenerasyon : Bağ dokusunda meydana gelen fizikokimyasal bir değişme sonucu ortaya çıkmaktadır (Banlı 1997).

2.3.3. Nekroz

Hücrenin adaptasyon mekanizmalarıyla geçştiremediği öldürücü yaralanmalar, geridönüşsüz zedelenen hücrenin bütönlüğünü yitirmesiyle sonlanan morfolojik değişim olan nekrozla sonuçlanmaktadır. Nekroz, hücrelerin enzimatik sindirimi ve proteinlerin denatürasyonu ile kendini gösterir (Banlı 1997).

2.4. Karaciğer Hastalığı

Kronik karaciğer hastalığının en belirli tipi karaciğer sirozudur. Karaciğer sirozuna götüren iki önemli değişiklik karaciğer yağlanması ve karaciğer hücresi

nekrozudur. Karaciğer yağlanması, karaciğer hücrelerinde yağ damlacıkları halinde yağ infiltrasyonu görülmektedir. Bu durum genellikle oluşturuıcı faktör ortadan kalkınca geri dönmektedir. Ama çok ağır olur ve uzun sürerse karaciğer hücresi nekrozuna ve bunun ardından da bağ dokusu gelişmesine yani fibrozise yol açabilir. Bu durum karaciğer sirozuna kadar gidebilir (Sencer 1983).

2.4.1. Karaciğer Yağlanması

Karaciğer parankim hücreleri lezyonlarında, genellikle, parankim hücresi içinde lipid toplanması görülmektedir. Toplanan lipid büyük ölçüde trigliseritten ibarettir (Taner 1975). Trigliseritler, kolesterol ve fosfolipidler değişik oranlarda biraraya gelerek ve proteinlerle birleşerek 'lipoproteinleri' oluştururlar, ve kanda 'şilomikronlar' halinde taşınırlar. Karaciğerde şilomikronlardan yağasitleri serbestleştirilir ve yeniden trigliseritlere sentez edilir (Sencer 1983).

Normalde yağ parankim hücresinden sürekli bir şekilde uzaklaştırılır. Bu uzaklaştırma olayında birbirinden farklı iki mekanizma iş görmektedir:

1- Lipoliz ile trigliseridin gliserol ve serbest yağ asitlerine ayrılması ve bu sonuncunun CO₂, su ve keton cisimlerine doğru yıkılması.

2- Trigliseridin endoplazmik retikulumda pre-β-lipoproteinler içine yerleştirilerek plazmaya verilmesi.

Herhangi bir sebebe bağlı olarak bu iki mekanizmadan birisinde veya herikisinde birden meydana gelen bir bozukluk trigliseridin hücrede toplanmasına sebep olmaktadır (Taner 1975).

Karbontetraklorür (CCl₄), chloroform (CHCl₃), ethionin, orotik asid, cholin, ethylalcohol, noradrenalin deneysel olarak karaciğer yağlanmasına sebep olurlar (Cawthorne ve ark. 1971 ve Taner 1975).

2.4.2. Karaciğer Hücresi Nekrozu

Nekroz, şiddetine göre fokal ve diffüz olarak sınıflandırılır. Fokal nekroz; tek veya birkaç hepatosit grubunun kaybı ve yerini makrofaj-lenfosit gibi mononükleer hücrelerin almasıyla karakterizedir (Banlı 1997).

Diffüz nekroz; submasif ya da masif olabilir. Masif seyredende tüm hepatositler nekrozedir. Karaciğer normal büyüklüğünün yarısı kadardır, büzüşmüştür. Mikroskopik olarak nukleus kaybolmuştur. İntrastoplazmik granuller ve yağlı dejenerasyon görülmektedir (Banlı 1997).

Diffüz nekroz viral hepatitler ve bazı ilaçlara (halotan v.b.) bağlı olarak gelişebilir. Fosfor, arsenikli bileşikler, karbon tetraklorür, kloroform da etken olabilir (Banlı 1997).

2.4.3. Karaciğer Hastalığında Etkili Bitkiler

Soya fasulyesinden (*Glycine max*) elde edilen soyasaponinler, *Atractylodes japonica*’ dan elde edilen atractylon, lipid peroksidasyonunu engellemekte ve karaciğer lezyonlarını baskılamaktadır (Ohminami ve ark. 1984 ve Kiso ve ark. 1985). Çin ve Japonya’ da çay olarak içilen *Apocynum venetum* bitkisinin yapraklarından elde edilen sulu ekstrenin (Xiong ve ark. 2000) ve *Curcuma longa* bitkisinin rizom ekstraktlarının hepatoprotektif etkileri belirlenmiştir (Song ve ark. 2001 ve Kiso ve ark. 1983 a). *Withania cougularans*’ dan izole edilen yeni bir maddenin, ağırlık bazında hidrokortizondan daha aktif bir koruyucu olduğu gösterilmiştir (Budhiraja ve ark. 1986). *Glycyrrhiza glabra*’ nın antihepatotoksik etkisinde ise antioksidatif özelliğinin önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Kiso ve ark. 1984).

Eucaplytus smithii, *E. globulus*, *E. fruticetorum* bitkilerinin ratlarda karaciğer enzim aktivitelerinde doza bağımlı etkilerinin olduğu ve pentobarbitol etkilerinde belirgin bir düşüş meydana getirdiği saptanmıştır. *Chamaemelum nobile*, karaciğerde glutathione düzeyini indirgemektedir (Buckle 1997).

Ayrıca *Panax ginseng*, *Artemisia capillaris*, *Podophyllum hexandrum*, *Lonicera bournei*, *Picrorhiza kurroa* bitkilerinin de antihepatotoksik etkileri saptanmıştır (Hikino ve ark. 1985, Kiso ve ark. 1984, Kiso ve ark. 1983 b, Xiang ve ark. 2001 ve Rastogi ve ark. 2000).

2.5. Karaciğer Kanseri

Karaciğer karsinomları genellikle siroz ile meydana gelmektedir (Junqueira ve ark. 1992, Wright ve ark. 1966 ve Ashley 1990) ve iki tipi görülür:

1. Hepatosellüler karsinoma : Primer karaciğer kanserlerinin %90'ını oluşturur.

2. Kolanjiyosarkoma : Primer karaciğer karsinomalarının yaklaşık %10'unu oluşturur. Safra kanalı epitelinden yapılmışlardır. Tümör genellikle safra üretmemektedir.

Metastatik tümörleri, primer kanserlerinden daha sık görülmektedir. Abdominal organların primer kanserlerinin ikinci sıklıktaki metastazı yeri karaciğerdir. Karaciğerin büyük oluşu tipiktir ve çok sayıda nodüler tümör implantı bulunmaktadır (Banlı 1997).

2.5.1. Karaciğer Kanserlerine Karşı Kullanılan Bitkiler

Birçok besleyici bileşikler, kanserojen ajanların meydana getirdikleri negatif etkileri azaltmakta veya değiştirmektedirler. Örneğin vazgeçilmez içeceklerimizden birisi olan kahvenin karaciğer sirozuna karşı koruyucu etkileri belirlenmiştir (Gallus ve ark. 2002). Kakao ve çayın ise kanser oluşumu ve gelişiminde koruyucu etkilerinden bahsedilmektedir (Weisburger 2001). Besleyici özelliği iyi bilinen soya fasülyesi karaciğer kanseri riskini azaltmaktadır (Shertzer ve ark. 1999). Günlük hayatımızda kullanılan bu bitkilerin dışında, *Echinops grijsii* kök, *Cycas revoluta* yaprak, *Scutellaria barbata*, *Aphanamixis polystachya* sapının kabuk kısmı, *Semiaquilegia adoxoides* kökleri, *Oldenlandia diffusa* tüm bitkisi, *Hydrocotyle sibthorpioides* tüm bitkisi karaciğer kanserlerine karşı kullanılmaktadır (Graham ve ark. 2000). *Letinula edodes*' in içerdiği bileşiklerin karaciğerde antimitojenik bir etki yaptığı gösterilmiştir (De Lima ve ark. 2001). *Cymbaria mongolica*' dan elde edilen iridoidlerin insan hepatoma hücrelerinde antitümör aktivitesi gösterilmiştir (Dai ve ark. 2002). *Licania michauxii* Prance kök ekstresinin, karaciğerde meydana gelen nekrotik hücrelerin ölümüne neden olduğu belirlenmiştir (Badisa ve ark. 2000). Brokoli (*Brassica sp.*) bitkisinde

bulunan sulforafanın hepatositlere uygulanan kanserojen maddelere karşı koruma yaptığı bildirilmiştir (Barcelo ve ark. 1996).

2.5.2. Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile karakterize edilen öldürücü bir hastalıktır (Tanker 1988). Kanser vakalarının hepsi, ya da hemen hemen hepsi, hücre büyümesi ve mitozu kontrol eden genlerin mutasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Mutant genlere onkogen adı verilmektedir. Genellikle hücrede, kanser olmadan önce iki ya da çok onkogen belirir (Guyton 1986).

Daima mutasyona uğrayan hücrelerin yalnız küçük bir bölümü vücutta kansere yol açmaktadır. Mutasyona uğrayan hücrelerin çoğu normal hücrelere göre daha az yaşamakta ve bu nedenle basitçe ölmektedirler. Mutant hücrelerden yaşayabilen birkaçı da aşırı büyümeyi önleyen feedback kontrolü yok etmektedir. Ayrıca kanser potansiyeli taşıyan hücreler vücutta kanser yaratmadan, genellikle immün sistem tarafından yok edilmektedirler (Guyton 1986).

Mutasyon olasılığı, x ışınları, gama ışınları, ultraviyole ışınları gibi iyonize edici radyasyonlarla, bazı yiyecek çeşitleriyle doku haraplanması gibi fiziksel iritanlarla, kalıtsal eğilimlerle, virüslerle ve kimyasal maddelerle artabilir (Guyton 1986 ve Temizkan 1999). Bunların içerisinde kimyasal maddelerin, insan kanserlerinin oluşumunda büyük öneme sahip olduğu görülmektedir (Miller ve ark. 1981).

Kimyasalların büyük bir oranı, rodent (kemirgen) biyotahlillerinde dayanılabilen maximum dozda kanserojen olarak bulunmuştur. Toksik dozlara yakın uygulamalar hücre bölünmesini uyarmaktadır (mitojenesis). Mitojenesis, mutasyon oluşum oranını artırmaktadır ve dolayısıyla kanser oluşturmaktadır (Gold ve ark. 1993).

2.5.2.1. Benzen (Benzol C_6H_6)

Benzen ideal bir eritici (çözücü) ve ucuz olması nedeniyle sanayinin çok çeşitli kollarında kullanılan toksik ve kanserojen bir maddedir (Ünsal ve ark. 1990). Başlıca benzin, sigara dumanı, zamk, tutkal içerisinde bulunmaktadır

(Schlosser ve ark. 1993 ve Brodfuehrer ve ark. 1990). Sıvı ve katı yağların ekstraksiyonunda, metal aletlerin yağlanması ve temizlenmesinde, çeşitli kimya ve ilaç endüstrisinde, matbaacılık ve foto film işlerinde kullanılmaktadır (Güley 1976 ve Vural 1984).

Toksisite ve Metabolizma :

Endüstride iyi havalandırılmayan işyerlerinde organizmaya başlıca inhalasyon yolu ile girmektedir. Deri yolu ile absorpsiyonu sistemik zehirlenmeye sebep olacak kadar önemli bulunmamıştır. Sindirim yolu ile zehirlenmelere kazaen raslanır. Absorbe olan benzen derhal kan dolaşımına geçerek toksisitesini göstermektedir. Havada maksimum değeri 25 ppm' dir. İnsanlarda 20 000 ppm benzenin beş dakika inhalasyonu ile ölüm görülmüştür (Güley 1976 ve Vural 1984).

Absorbe olan benzen, başlıca yağlı dokularda, eritrositlerde, kalp ve iskelet kasında birirmektedir. Absorbe olan benzenin bir kısmı değişmeden akciğer ve böbreklerle atılmaktadır (Güley 1976 ve Vural 1984). Önemli bir kısmı ise karaciğerde polar fenolik bileşiklere dönüştürülmektedir. Bu bileşikler başında fenol, katekol ve hidrokinon gelmektedir (Ross 1996, Schrenk ve ark. 1990, Schlosser ve ark. 1993 ve Chaney ve ark. 1995). Benzen metabolizmasında fenol inhibisyonu, fenol metabolizmasında ise benzen inhibisyonu meydana gelmektedir (Schlosser ve ark. 1993). Fenol miktarı arttıkça karaciğer enzimleriyle konjugasyon (birleşme) kapasitesi artmaktadır (Cassidy ve ark. 1984) ve sonuçta sülfat veya glukuronit bileşikleri şeklinde atılmaktadır (Vural 1984).

Fenolik bileşiklerin potansiyel hedef hücrelerinin kemik iliğinde olduğu belirlenmiştir (Ross 1996). Benzenin hepatotoksitesinde türlere göre farklılıklara da muhtemelen kemik iliğinin duyarlılığı sebep olmaktadır (Brodfuehrer ve ark. 1990). Bazı maddeler benzenin toksik etkisini artırma bazıları da azaltma özelliği göstermektedirler. Etanolun, toksik etkiyi artırma (Nakajima ve ark. 1987) ve 3-metilkolantrenin de toksik etkiyi azaltma (Schrenk ve ark. 1990) özelliği olduğu belirlenmiştir.

Farelerle yapılan deneylerde benzen yüksek dozda uygulandığında, hem anne hem de fetusa ait hücrelerde kardeş-kromatid değişiminde belirgin bir artış meydana getirmiştir (Sharma ve ark. 1985). Buna ek olarak hem anneye ait kemikiliği hem de fetusa ait karaciğer hücrelerinde mikronükleusların artışına neden olmaktadır (Xing ve ark. 1992).

2.5.2.2. Kloroform (CHCl₃)

Kloroform başlıca, MSS (merkezi sinir sistemi) depresyonu ile birlikte sarhoşluk, anestezi ve narkotik etkiye neden olmaktadır (Vural 1984). Ancak bu gün kloroform anestezide çok ender kullanılmaktadır (Wright ve ark. 1966). Daha çok endüstriyel amaçla üretilmektedir (Vural 1984).

Toksisite ve Metabolizma :

İnhalasyonla akciğerlerden , gastrointestinal yoldan ve bir dereceye kadar da deri yolu ile absorbe olabilir. Oral yolla fatal doz insanda 15 ml olarak belirlenmiştir. İnsanlar için özellikle endüstri ve kimya laboratuvarlarında inhalasyon yolu ile toksisitesi (Vural 1984) ve tekrarlı maruz kalma sonucu siroz yapıcı etkisi rapor edilmiştir (Wright ve ark. 1966). 8 000 ppm kloroforma üç saat maruz kalan fareler, 12 500 ppm' e iki saat maruz kalan tavşanlar solunum durması sonucu ölmektedirler. Daha düşük konsantrasyonda ise (örneğin 200 ppm kloroforma dört saat maruz kalan fareler) hepatotoksik etki, karaciğer yağlanması ve nekrozu şeklinde ortaya çıkmaktadır (Vural 1984 ve Cawthorne ve ark. 1971).

Uzun süreli maruz kalma sonucu, kloroform, yağlı dokularda ve karaciğerde toplanmaktadır. Kloroformun karaciğerde uçucu olmayan iki metaboliti saptanmıştır. Kloroformun böbrek ve karaciğer üzerindeki toksik etkisi alkollü içkilerle artmaktadır (Vural 1984).

Kloroform ile görülen anestezi etki, eter anestezisine benzemekte ancak ilaveten kardiyak depresyonu, beynin vazomotor merkezinde daha fazla depresyon, uzun süreli anestezide ise karaciğer nekrozu ve böbrekte tubuler dejenerasyon da ilave olunmaktadır (Vural 1984).

Kloroform kısmen organizmada metilen klorür ve CO₂' e dönüşür. Büyük bir kısmı ise değişmeden akciğerlerden atılır. Alınan kloroform miktarının % 4-5'

inin akciğerlerden CO₂ şeklinde %2' sinin ise diğer kloroform metabolitleri halinde idrarla atıldığı gözlenmiştir (Vural 1984).

Karbon tetraklorüre benzer şekilde, kloroformun karaciğer mikrozomal enzim aktivitesini %40 kadar inhibe ettiği gösterilmiştir. Fenobarbital ile ön uygulama yapılmış deney hayvanlarında kloroformun hepatotoksik etkisinin arttığı da gözlenmiştir. CCl₄ ve CHCl₃ arasındaki strüktür benzerliğinin metabolizma ve toksisiteleri için de geçerli olması görüşü deneylerle desteklenmektedir (Vural 1984). Yapılan hayvan çalışmalarında, yüksek dozda kloroformun kanserojen olduğu gösterilmiştir (Craun 1985). Kanserojen özelliğinde ise başlatıcı etkisinden daha fazla arttırıcı veya hızlandırıcı etkisi ön plana çıkmaktadır (Deml ve ark. 1985).

Farelerle yapılan deneylerde, kloroformun uygulama tarzıyla ilgili ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Ethylnitrosourea ile karaciğer tümörü oluşumunun, içme suyuna katılan belirli dozda kloroform ile engellendiği gözlenmiştir (Pereira ve ark. 1985). Kloroform mısıryağı içerisinde gavajla verildiğinde karaciğer tümörü oluşmakta fakat su içerisinde verildiğinde oluşmamaktadır (Golden ve ark. 1997). Kloroformun mısıryağı içerisinde gavajla verilme sürecinde içme suyuna katılan kloroform, gavajla verilen kloroformun hepatotoksitesini ve hepatokarsinojenik aktivitesini azaltmaktadır (Pereira ve ark. 1997 ve Jorgenson ve ark. 1985).

Wistar ratlarda, içme suyuna katılan kloroformun dişilerde hepatik neoplastik nodullerin ve her iki cinsten ise hepatik adenofibrozis oluşumunda belirgin bir artışa neden olduğu belirlenmiştir (Tumasonis ve ark. 1985 ve Golden ve ark. 1997). Kloroformun inhalasyonunun ise karaciğerde yağlı dejenerasyona ve sentral lobulus nekrozuna neden olduğu gösterilmiştir (Beer ve ark. 1984). Hipoksik gaz karışımlarının (benzen, alkol v.b.) inhalasyonu, kloroformun karaciğer üzerindeki toksik etkisini artırmaktadır (Hutchens ve ark. 1985).

Wilkins ve Comstock (1981), kloroform karışmış içme suyunu içen erkeklerde böbrek ve bayanlarda karaciğer kanseri oranının, kloroform karışmamış içme suyunu içenlere oranla 2 kat daha fazla arttığını belirlemişlerdir (Craun 1985).

İnsan ve hayvan çalışmalarının dışında kloroformun, *Saccharomyces cerevisiae* mayasında mutajenik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Brennan ve ark. 1998).

2.6. Biyokimyasal Bilgiler

2.6.1. Biyokimyasal Testlerin Önemi

Karaciğer hastalığı olan kişilerde hastalığın ağırlığını anlayabilmek ve tedaviyi sinamak için biyokimyasal metodlara ihtiyaç duyulmaktadır. Karaciğerin pek çok fonksiyonu biyokimyasal metodlarla anlaşılabilir. Karaciğerin bütün fonksiyonlarını tek bir test ile anlamak mümkün olmadığından birden fazla test kullanılmaktadır. Örneğin sarılık tanısında kullanılan en faydalı testler serum alkale fosfataz seviyesi, serum proteinleri ve serum transaminaz değerleridir (Sherlock 1975).

Karaciğer hücresi hasarının ağırlığını anlamak için seri halde serum total bilirubini, albumin ve transaminaz tayinleri yapılmalıdır (Sherlock 1975).

Primer veya sekonder kanser gibi karaciğer infiltrasyonu vakaları, sarılık olmaksızın serum alkale fosfataz değerlerinde bir yükselme ile tanınmaktadır (Sherlock 1975).

2.6.2. Alkale Fosfataz (ALP)

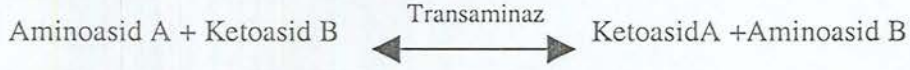
Alkali pH da fosfat esterlerinin hidrolizini katalize etmektedir. Safradaki alkale fosfataz karaciğer hücrelerinde yapılmaktadır. Metastatik kanserde, safra yolu tıkanmalarında ve daha az bir oranda karaciğer hücrelerinin hasarında karaciğerden daha fazla ALP sentezlenir ve serumda oranı yükselmektedir (Özata ve ark. 2000, Akkuş 1997 ve Sherlock 1975).

Primer ve sekonder karaciğer tümörlerinde, *sarılık olmasa dahi bazen serum alkale fosfataz seviyelerinde yükselme* gözlenir. Karaciğer lezyonlarında da yükselme görülebilir (Sherlock 1975).

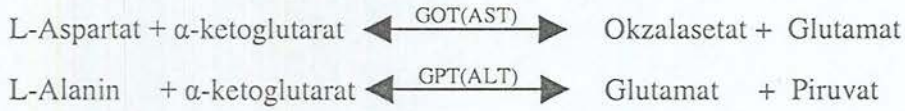
2.6.3. Transaminazlar (SGOT-SGPT)

Transaminasyon Mekanizması :

Transaminazlar, ketoasitlerle aminoasitlerin birbirlerine dönüşümünü katalizleyen enzimlerdir (Akkuş 1997). Aminoasidin amino grubunu (NH₂), ketoaside taşırlar (Taner 1975 ve Özata ve ark. 2000).



Transaminazlar içerisinde 'glutamin-oksalasetat transaminaz (GOT)' ile 'glutamin-piruvat transaminaz (GPT)' isimli enzimler çok büyük değer taşımaktadırlar. Bunlar karaciğer ve kalp hastalıklarının teşhis ve takibinde büyük ölçüde yardımcı olmaktadır (Taner 1975). Heriki enzimin katalize ettikleri reaksiyonlar aşağıda verilmiştir :



GOT ve GPT nin Hücre İçindeki Yeri ve Klinik Önemi :

GOT hücrede hem mitokondri hem de stoplazmada bulunmaktadır. GPT ise sadece stoplazmada bulunmaktadır. Hücrenin ağır hasara uğradığı durumlarda yani nekroz hallerinde kanda GOT aktivitesi açık bir şekilde artmaktadır (Taner 1975).

GOT, kalp, karaciğer, iskelet kası, böbrekte bulunmaktadır. GPT, her ne kadar GOT ile karşılaştırıldığında karaciğerde mutlak miktarı daha azsa da kalp ve iskelet kası ile karşılaştırıldığında karaciğerde daha yüksek oranda bulunduğu görülmüştür. Bu nedenle GPT, karaciğer hastalığının *daha spesifik göstergesidir* (Sherlock 1975 ve Özata ve ark. 2000).

Karaciğer hastalıklarında lezyon hücre nekrozuna kadar gitmeyen seroz bir iltihap (akut hepatit) şeklinde ise hücre permeabilitesi artışıyla stoplazmadaki GPT kana geçmektedir. Mitokondriler sağlam kaldığından mitokondrilerde bulunan GOT kana geçememektedir. GOT aktivitesi, GPT'ye yakın veya daha yüksek ise ağır nekrotizan hepatite işaret etmektedir. Dolayısıyla mitokondriler de hasara uğramışlardır (Taner 1975 ve Akkuş 1997).

Karaciğerle ilişkili olarak transaminazlar, akut ve kronik hepatitler, aktif hepatik nekrotizanlı siroz, karaciğer metastatik karsinomları, zehirlenmeler, karaciğer yağlanması ve safra yolu tıkanmalarında artmaktadır (Akkuş 1997).

2.6.4. Kanda Bilirubin

Bilirubin, eritrositlerin parçalanması sonucu açığa çıkan hemoglobinin 'HEM' kısmından teşekkül etmektedir. Hem, bir demir atomu ihtiva etmektedir. Hem' den bir karbon -CO şeklinde ayrılmakta ve Fe vücudaki demir depolarına geri dönmektedir. Oluşan biliverdin indirgenerek turuncu renkli bilirubine dönüşmektedir. Oluşan bilirubin, kanda albumin ve 1 globulin ile taşınır. Buna indirekt bilirubin denilmektedir (Akkuş 1997). İndirekt bilirubin suda erimemekte ve idrarla atılamamaktadır (Banlı 1997). İndirekt bilirubin karaciğerde glukuronil transferaz enzimi aracılığıyla glukuronik asitle birleştirilmektedir. Buna direkt bilirubin adı verilmiştir (Akkuş 1997). Direkt bilirubin suda eriyebildiği için safrayla ve aşırı miktarda oluşacak olursa idrarla atılabilmektedir (Banlı 1997).

Kanda bilirubinin artması 'hiperbilirubinemi' adını alır. Hiperbilirubinemide deri ve müküs zarları sarıya boyanmaktadır (sarılık) (Akkuş 1997).

Kan bilirubin seviyesindeki değişiklikler şu şekilde de sınıflandırılabilir:

1) Prehepatik: İndirekt bilirubinin arttığı durumlardır.

2) Hepatik: Hepatosellüler sarılıklar. Karaciğer dokusundaki harabiyetten kaynaklanmaktadır (Akkuş 1997).

2.7. Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.)

2.7.1. Botanik Bilgisi

Fam : Urticaceae

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen, süt taşımayan, monoik veya dioik otsu bitkiler, nadiren çalı, tırmanıcılar veya küçük ağaçlardır. Yapraklar basit, alternan veya dekusat dizilişli. Çiçekler genellikle yeşil, küçük kümeler halinde toplanmış, çiçek durumu temel olarak simoz veya tek bir çiçeğe

indirgenmiş. Periant 4 parçalı. Erkek çiçeklerde 4 stamen. Dişi çiçeklerde ovaryum üst veya alt durumlu, bir karpelli. Meyve kuru aken. -42 cins ve 600 e yakın tür. Memleketimizde 2 cinsi ve 9 türü vardır ve sıklıkla nitrofilirdirler.

Urtica dioica (büyük ısırganotu, ısırgan, geznik, dızlağan): Geniş yayımlı, karışık kök sistemine sahip, kümeler halinde bulunan, yakıcı tüyler taşıyan, 30 –150 cm. uzunluğunda, çok yıllık otsu, dioik bir bitkidir. Yapraklar dekusat dizilişli, ovat şekilde ve kenarları dişlidir. Yaprakları koyu yeşil renklidir. Erkek ve dişi çiçek durumu birbirine benzer şekilde, 8 cm. ye kadar, çok dallı. Dişi çiçekler göze çarpan pembemsi fırçalı stigmali. Sap kısmı dik, kare, yeşilden mor veya kahverengiye kadar değişen, tüylü. Ormanlar, gölgelik derin vadiler, kayalar, dere kenarları, harabelikler ve duvar diplerinde, nemli yerlerde sık rastlanır. (500-2700 m.) Bitki siyatik ve romatizma ağrılarına karşı kullanılmıştır. Yaprakları, böbrek fonksiyonlarını artırıcı bitkisel karışımların içeriğine girmektedir. Bitkinin genç yapraklı sürgünleri sebze olarak yenilmektedir (Baytop 1996, Davis 1982, British h. m. a. 1996, Ivanov ve ark. 1999, Öztürk ve ark. 1991 ve Özyurt 1992).

Urtica urens (küçük ısırganotu): Tek yıllık, monoik ve otsu bir bitkidir ve yaprakları açık yeşil renklidir. Çiçekleri, ürtiker (kurdeşen), yanıklar ve gut hastalığında kullanılır (Baytop 1996 ve Kayne 1997).

2.7.2. İçerikleri ve Özellikleri

Ticari olarak ısırgan meyvesi (ısırgan tohumu yanlış adlandırma) hemen hemen her zaman ısırgan yapraklarının çok sayıda ufak kısımları ile karışık oluşur. Olgunlaştığı zaman meyveler noktalı ve sıkıştırılmış yuvarlak (ovoid) şekillidir; 1-1.5 mm uzunluğunda ve 0.7 –1 mm genişliğindedir. Birleşik salkım benzeri bir çiçek durumu vardır ve kum renginde, sarıdan kahverengiye kadar değişen renklerde olabilir. Olgun meyve, protein, müsilaj ve katılaşmış yağ içerir. Organik çözücüyle ekstraksiyonla veya soğuk basınçla elde edilen yağda karotenoidler ve klorofil ürünleri nedeniyle sarımsı yeşil renktedir. Analizlerde ise yüksek linoleik asit (total yağ asitlerinin %83'üne kadar) ve % 0,1-0,2 arası tokoferoller belirlenmiştir (Wichtl 1994).

Kesilmiş şifalı bitkide yaprak parçaları kuruyarak büzülmüş ve top şeklinde buruşmuştur. Üst yüzey yeşilimsi siyah ve alt yüzey soluk yeşildir. Geniş, dik batıcı tüyler ve çok sayıda küçük sert kıllar vardır. Yaprak kısmının ucu kabaca serrat, yaprak ise akuminat ve ovattır (Wichtl 1994 ve Baytop 1984). Yaprakda flavonoidler, aminler, mineraller, karboksilik asitler (batıcı tüylerde) bulunmaktadır (Boon ve ark. 1999, Newall ve ark. 1996, Lutomski ve ark. 1983 ve Akbay 1996).

Isırgan, α -tokoferol ve vitamin C nin en iyi doğal kaynaklarından biridir ve ortalamanın üzerinde bir protein içeriğine sahiptir. Isırgan azot verimi artmış toprağa çok hızlı tepki verir ve kümes hayvanı gübresince zengin toprakta büyüyen birkaç bitkiden birtanesidir (Hughes ve ark. 1980 ve Schoen 1998).

2.7.3. Folklorik Kullanımı

Bryant, Yenilebilir Bitkilerin Tarihi (1783) adlı eserinde ısırganın şimdiki genel kullanımına işaret etmiştir. Normal halk tabakasından insanların baharda ısırgan otunun yapraklarını ve yeni filizlerini topladıklarını ve salata için haşladıklarını anlatmıştır (Hughes ve ark. 1980).

Yeşil bahar sebzesi olarak genellikle püre şeklinde kullanılır fakat oldukça topraklı tadı bazıları tarafından sevilmemektedir. İskoçya' da ısırgan otu, pırasa veya soğan, brokoli veya lahana, ve pirinç ile kaynatılır, tereyağı ve etsuyu ile servisi yapılmaktadır. Bazıları tarafından ısırgan birası ve çayı yapılmaktadır. Kurutulmuş ısırganlarla çiftlik ve kümes hayvanları beslenebilir fakat çok az hayvan canlı bitkiyi yiyebilmektedir. İsveçliler ve Ruslar, ısırgan otunu saman ürünü olarak yetiştirirler. Isırgan, papatya, kekiğin alkollü ekstraktları, saç ve kafaderisi preparasyonlarında kullanılmıştır. Ruslar ısırganı pasta ve şekerlemelerde yeşil renk verici olarak kullanıyorlar. Isırgan otu, ekonomik bir klorofil kaynağı olarak hizmet vermektedir (Duke 1985). Isırgan lifi, savaş zamanlarında veya diğer liflerin bulunmadığı dönemlerde tekstil ve kağıt yapımında kullanılabilir (Duke 1985 ve Lininger 1999). Rum askerleri kuzeye çok uzağa gittiklerinde, vucutlarını sıcak tutmak için kendilerini ısırgan otuyla kamçılarlardı (Duke 1985).

Isırgan otu, kanser yapıcı ülserler, iltihaplı veya ödemli tümörler, ve özellikle, akciğer, meme, kulak, yüz, ayak, eklem, ağız, burundeliği, dalak, mide, rahim v.b. kanserler için halk ilacı olarak aktarılmıştır. Rusya’ da yaprakların alkollü ekstresi kronik hepatit, kolonjit, kolesistit ve davranışa bağlı kabızlık için kullanılır. Ruslar aynı zamanda bu şifalı bitkiyi bronşiyal astım için öneriyorlar. Kökleri ve tohumları solucan ilacı olarak önerilir. Klinik deneyler bize, şifalı bitkinin faydasının hemostatik olarak onaylandığını söylüyor (Duke 1985, Schoen 1998 ve Ivanov ve ark. 1999). Aynı zamanda anemi, astım, bronşit, ishal, döküntü, dizanteri, gastrit, baş ağrısı, nefrit, romatizma, tüberküloz tedavisinde ve saç toniği olarak kullanılır. Cezayirli ısırgan ve yasemini belsoğukluğu için toz haline getirirler. Kökleri diüretiktir. Bitkinin dekoksasyonu, antihelmantik, antiseptik, lokal büzücü, diüretik, adet kolaylaştırıcı, deri kızartıcı ve damar büzücüdür (Duke 1985, Lininger 1999, Schoen 1998 ve Schulz 1998). ayrıca hipotensif, sedatif, akne tedavisinde (Miller 1998) ve yaprakları şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır (Aslan 2000). Demir eksikliği anemisi, gut hastalığı (akut ağrılı eklemler), ateşin ilk evreleri, sıtma ve rahim iltihaplanmasında kullanılır. Böbrekleri uyarıcı ve kanı detoksifiye edicidir (Bartram 1995). Hamile kadınlarda doğum gecikmesinde suyu içilir ve doğum ağrısı esnasında ağızda çiğnenir ve hamilelik boyunca Fe ve Ca deposu olarak çayı içilir (Bwmenthal 2000 ve Bartram 1995). Birinci derece yanıklar, mide kanaması, tansiyon, göğüs büyütme, istakoz veya diğer kabuklu alerjisi, çilek alerjisi, saç kırılması ve böbrek taşı dökmek için kullanılır. Ayrıca hodgins sendromunun kaşıntısını giderir (Bartram 1995).

Tohumları ezilir, deri hastalıklarında ve romatizmada dışardan pansuman yapılır (Wichtl 1994). Ayrıca tohumların cinsel gücü arttırıcı bir özelliğinin bulunduğu belirtilmiştir (Baytop 1984).

İlk olarak veterinerlik ilaçlarında, ısırgan tohumu tavuk yumurta kalitesini artırmak için besinlere karıştırılmıştır. Yaşlı atlara ısırgan tohumları verilmesinin, kıllarını parlaklaştırdığı farzedilir (Wichtl 1994).

2.7.4. Literatür Tarama

Isırgan otu rizomlarından küçük moleküler ağırlığa sahip *Urtica Dioica* Aglutinin (UDA) adı verilen bir lektin saflaştırılmıştır. İki karbonhidrat bağlama bölgesine sahip (Shibuya ve ark. 1986) olan bu lektin, bağışıklık hücrelerini arttırmaktadır. UDA' nın, hem timositler hem de dalak T lenfositleri için spesifik bir T-hücre mitojeni olduğu belirlenmiştir. UDA, T-hücre reseptörlerinde zincirin 4 boyutlu yapısıyla etkileşime girmektedir ve T-hücrelerinin tümüne bağlanmaktadır. Fakat sadece T-hücrelerinin bir altpopulasyonunu aktive etmektedir (Le Moal ve ark. 1988, Galelli ve ark. 1993, Le Moal ve ark. 1992 ve Musette ve ark. 1996). Ayrıca UDA, virüs-hücre birleşmesini engelleyerek bir antiviral etki de meydana getirmektedir (Balzarini ve ark. 1992).

10 yerli bitki, albino ratlarda döllenmeyi engelleyici etkisi için incelenmiş ve *Urtica dioica*' nın etkisiz olduğu bulunmuştur. *Urtica dioica*' nın kökü hariç tüm bitkisi % 90 etanolle ekstre edilmiş ve 250 mg/kg dozunda 1-7 günlük bir periyotta uygulanmış ve %33,33 aktivite görülmüştür (Sharma ve ark. 1983). Isırganın gebe olan ve olmayan farelerde utero aktivitesi ve 250 mg/kg oral dozda antifertilite aktivitesi kaydedilmiştir (Newall ve ark. 1996).

Isırgan otunun taze yapraklarından hazırlanmış bir yaprak proteini konsantresi, genç sıçanlarda normal büyümeyi sağlayamamıştır. Metiyonin ilavesiyle, kazeindekinden daha fazla oranda bir protein etkisi meydana getirmiştir. % 66 besleyici protein içeren ısırgan yaprağı tamöğünü, genç guinea-domuzları, fare ve sıçanlarda normal büyümeyi sağlamıştır. Bu çalışmayla ısırganın iyi bir protein kaynağı olduğu doğrulanmıştır (Hughes ve ark. 1980).

Isırgan otu kanser için kaynatılarak içilmektedir. Doktorlar tarafından 20 gün ömür biçilen bir hasta, ısırgan yaprağı kullanarak 4 ay yaşamıştır. Isırgan yaprağı ömrü uzatmıştır (Başer ve ark. 1986). Ayrıca ısırgan otunun bitkisel tümörlerin gelişimini engellediği gözlenmiştir (Hamat 1999). Beslenme alışkanlıklarındaki değişimlerin, bireylerin kanserden korunmasındaki faktörlerinin incelendiği bir çalışmada ise *Urtica* türlerinin ve kuşburnunun antimitojenik etkilerinin tarhanadan belirgin bir düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (Karakaya ve ark. 1999). Bir diğer araştırmada, Kars – Ağrı – Van –

Şanlıurfa, Diyarbakır ve Adıyaman il merkezleri ile bazı ilçe ve köylerinde çeşitli hastalık ve semptomlarda kullanılan geleneksel yöntemlerin saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmada ısırgan otunun yaprak kısmının kanserde kullanıldığı ve bileşiminde organik asitler (formik asit), histamin , asetil kolin bulunduğu belirlenmiştir (Aksoy 1988 ve Kenner ve ark. 2001). Daha sonraki yıllarda yapılan detaylı çalışmalarda ise bileşiminde histaminin haricinde lökotrienlerin varlığı ortaya çıkmış ve allerjik reaksiyonlarda herikisinin de etkili olduğu gösterilmiştir (Czarnetzki ve ark. 1990 ve Lininger 1999).

Urtica dioica yaprak ekstresinin, romatizma hastalıklarının tedavisinde pozitif olduğu belirlenmiştir. Lipopolisakkarit ile uyarılmış insan tam kanında, tümör nekroz faktör- α ve interlökin 1 maksimum konsantrasyona ulaşmaktadır. Lipopolisakkarit ile birlikte verilen ısırgan yaprak ekstresi bu konsantrasyonu belirgin bir şekilde indirmiştir (Obertreis ve ark. 1996 ve Mills ve ark. 2000).

Isırgan otu kökleriyle yapılan çok sayıda deneysel çalışmalarda, prostat hastalıklarının tedavisiyle ilgili olumlu sonuçlar elde edilmiştir. İyi huylu prostat hiperplazisinin tedavisindeki sonuçlar, ısırgan köklerinde steroid yapıdaki bazı hidrofobik bileşenlerin, prostatın Na^+, K^+ -ATPaz membran aktivitesini inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Bu inhibisyon prostat-hücre metabolizmasını ve gelişimini baskılamıştır (Hirano ve ark. 1994). Bu çalışmalardan birinde, ısırgan kök ekstresinin prostata ait aromatazi inhibe ettiğini göstermiştir. Bu ekstre, sex hormonu bağlama globulini (SHBG) ile etkileşime girmekte ve iltihabi etkileri engellemektedir. Carrageenan ile oluşturulmuş rat pençe ödeminde (paw edema) ısırgan otunun sulu ekstresi iltihabı düşük oranda engellemiştir (Schulz 1998 ve Boon 1999). İyi huylu prostat hiperplazi (BPH)' li hastalarda ısırgan kök ekstresinin pozitif etkileri, UDA ile SHBG' nin rekabetine bağlanmıştır. Böyle bir etki ise 1-10 mg/ml düzeyinde bir ekstre konsantrasyonu gerektirmektedir (Schulz 1998). Benzer bir çalışmada ise *Urtica dioica*' nın sulu ekstresi, alkollü ekstresi, UDA ve stigmasta-4-en-3-one denenmiştir. Sadece sulu ekstre, SHBG' nin kendi reseptörüne bağlanmasını engellemiştir. Bu etki ise 0.6-10 mg/ml düzeyinde bir konsantrasyonda meydana gelmektedir (Hryb ve ark. 1995). Bir diğer çalışmada, farenin prostat bezinin ventraline urogenital sinus direkt implante edilerek bir

BPH modeli oluşturulmuştur. Bu modelde 5 değişik ısırgan kök ekstresi hazırlanmıştır. % 20' lik metanol ekstresi, büyümeyi % 51,4 oranında engellemiştir (Lichius ve ark. 1997). Vontobel ve arkadaşları (1985), SHBG' nin indirgenmesini istatistiki olarak belirlediler ve placebo (hastaya ilaç diye verilen tesirsiz madde) ile karşılaştırdıkları idrar çıkışında belirgin bir artışı buldular. Dathe ve Schmid (1987) ise, 4-6 haftalık dönemde 79 hastaya Vontobel ve arkadaşlarının çalışmasındaki dozda aynı preparasyonları kullandılar. İdrar akışı 2 ml/s (% 14) ile belirgin olarak arttığını buldular (Schulz 1998).

In vitro çalışmalar, ısırgan yapraklarının diüretik, hipotensif, hiperglisemik, merkezi sinir sistemi depresant, analjezik etkilerini göstermiştir (Boon 1999 ve Newall ve ark. 1996). *In vivo* çalışmalarda da, ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Ratlarda ve farelerde, ısırganın, ilaçların meydana getirdiği sarsıntıyı ve vücut ısını düşürdüğü gösterilmiştir. Isırganın farelerde kan basıncına herhangi bir etkisinin olmadığı, kedilerde ise belirgin hipotensif etkisinin olduğu rapor edilmiştir. Hiperglisemik tavşanlarda kan şekeri konsantrasyonunu düşürdüğü belirlenmiştir (Newall ve ark. 1996). Isırgan otunun pikrik asitle saflaştırılmış ekstresinin, tavşanlarda kan şeketine etkili olduğu fakat kan şekerini düşürmediği bildirilmiştir (Atal 1982). Hipoglisemik aktivite için dokuz Avrupa bitkisi incelenmiştir. Seçim kriteri geleneksel kullanıma ve literatür kaynaklarına dayanmaktadır. Bitkilerin total ekstreleri, kurutulmuş materyalin su ile kaynatılması ile hazırlanmıştır. *Urtica dioica*' nın dekoksasyonu tüm deney boyunca hiperglisemik etki göstermiştir (Neefh ve ark. 1995). Bazı çalışmalar, ısırganın galaktogenik etkilerinin olduğunu belirtmektedir (Wichtl 1994). Ayrıca güçlü lipaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Ceritoğlu 1995). Wistar ratlarla yapılan bir çalışmada, ısırganın sulu ekstresinin akut hipotensif etkiye sahip olduğu ve kardiyovasküler sisteme direkt etki ettiği gösterilmiştir (Tahri ve ark. 2000). Isırganın insanlardaki hemostatik etkisi onaylanmıştır (Newall ve ark. 1996 ve Mills 2000). Kara bitkilerinde heparin tarzında etkili antikoagülan maddeler araştırılmış ve örnek olarak alınan *Urtica dioica* yapraklarından bir sulu ekstre hazırlanmıştır. Yapılan analitik ve biyolojik deneylerle antikoagülan etkiye sahip bir maddenin bulunduğu saptanmıştır (Akcasu ve ark. 1982). Bunların

dışında diüretik ve natriüretik etkiler böbrek fonksiyonlarındaki bir etkiye bağlanmıştır. Isırganın sulu ekstresi yüksek dozda toksik etki meydana getirmektedir (Tahri ve ark. 2000). Bir genotoksisite çalışmasında ise, *Drosophila melanogaster*' in kanadında somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile *Urtica dioica*' nın zayıf bir genotoksik aktiviteye sahip olduğu ispatlanmıştır (Graf ve ark. 1994).

Urtica dioica' nın kimyasal kompozisyonunu belirlemek amacıyla bazı çalışmalar yapılmıştır. Strack ve ark., *Urtica dioica*' da sadece kafeik malik asit olduğunu belirtmiştir fakat klorojenik asit içeren 2 kafeik asit esteri daha olduğu belirlenmiştir (Budzianowski 1991). *Urtica dioica*' nın dişi ve erkek çiçeklerinden sitosterol, sitosterolglükozit, sopoletin' in haricinde 7 flavonol glükozit izole edilmiştir (Chaurasia ve ark. 1987).

UDA, bir tür buğday biti olan *Callosobruchus maculatus*' a karşı insektisit aktivite göstermektedir (Huesing ve ark. 1991).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Yaptığımız tüm deneylerimizde 120-220 gr. ağırlıklarında sağlıklı albino sıçanlar (*Rattus norvegicus var. albinos*) kullanılmıştır. Bu sıçan türünün çeşitli koşullara verdiği cevaplar insaninkine son derece benzemektedir (Şahintürk 1999). Cinsiyet olarak da, kloroformun kanserojen etkisinin, dişilerde erkeklere oranla daha pozitif olması nedeniyle dişi sıçanlar tercih edilmiştir (Pereira ve ark. 1997, Tumasonis ve ark. 1985 ve Craun 1985). Deney hayvanları iyi yalıtılmış, havadar ve temiz odalarda tutulmuş, düzenli olarak beslenmiştir. İçme suyu olarak çeşme suyu ve yem olarak da standart pellet yem verilmiştir.

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Alet ve Cihazlar	Marka, Model ve Tip
Işık Mikroskobu	OLYMPUS BX 50F Olympus Optical Co. Ltd. 3C09758 JAPAN
Stereo Mikroskop	WILD M3Z Type-S HEERBRUGG SWITZERLAND
Mikrotom	MICROM GmbH d- 6909 Walldorf HM 310 4841
Buz Makinesi	SCOTSMAN Automatic Ice Machines AF 10 ASE 0600
Buzdolabı	ARISTON Tropical
Buzdolabı	ARISTON No Frost
Isı Ayarlı Karıştırıcı	IKAMAG RCT 79219 Janke & Kunkel GmbH & Co K6, IKA Cabortechneik STAUFEN GERMANY
Hassas Terazı	SCALTEC SPO 51 Scaltec Instruments HELIGENSTADT GERMANY
Etüv	İNKÜBATÖR EN 500 Nüve Sanayi Malzemeleri ve Ticaret A.Ş.

Su Banyosu	SCHUTZART DIN 40050-IP WB 10 Memmert GmbH + Co. KG D-91126 Schwabach FRG GERMANY
Tahlil Cihazı	HITACHI 911 Automatic Analyzer BOEHRINGER MANNHEIM
Erlenler	BOMEX Borosilicate Glass 3.3
Mikrosantrifüj	UNIEQUIP D-82152 Microcentrifuge by MES, ANKARA
Enjektörler	TUBERKÜLİN
Şekerocağı, pipetler ve diğerleri.	

3.3. Benzen-kloroform Karışımının Hazırlanışı

Benzen-kloroform karışımı 5:1 oranında hazırlanmıştır. 100 ml saf zeytinyağı içerisine 10 ml benzen ve 2 ml kloroform eklenmiştir. Elektrikli karıştırıcı kullanılarak benzen ve kloroformun zeytinyağı içerisinde tamamen karışması sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan karışım koyu renkli cam şişelere konulmuş, lastik kapaklar kapatıldıktan sonra kenarları parafilm ile kapatılmış ve kullanıma kadar serin bir ortamda saklanmıştır. Benzen-kloroform karışımı için kullanılan doz (total doz 0.58 ml/kg vücut ağırlığı), ön çalışmalarla ve literatüre bağlı olarak, letal doz sınırları içerisinde belirlenmiştir (Jorgenson ve ark. 1985, Deml ve ark. 1985, Constan ve ark. 1995 ve Carcinogenicity internet).

3.4. *Urtica dioica*'nın Toplanması ve Saklanması

Deneylerimizde *Urtica dioica*'nın yaprak ve meyve olmak üzere iki kısmından faydalanılmıştır. *Urtica dioica* yaprakları, Kütahya İli Ahırbaşı Mezarlığı mevkiinden toplanmış ve meyveler ise il merkezindeki aktarlardan alınmıştır.

Urtica dioica, eldivenlerle bitkilere zarar vermiyecek şekilde kökünden çıkarmak suretiyle toplanmıştır. Toplanan bitkiler ışık almayan kuru bir ortamda 1 ay süreyle bekletilmiş ve kurutulmuş bitkilerin yaprakları gövdesinden

ayırılmıştır. *Urtica dioica*'nın yaprakları ve meyveleri ayrı ayrı elektrikli öğütücüde toz haline gelinceye kadar öğütülmüş ve fırça yardımıyla toplanarak alüminyum folyaya sarılı cam kavanozlarda saklanmıştır.

3.5. *Urtica dioica*'nın Sulu Ekstrelerinin Hazırlanışı

Urtica dioica'nın yaprak ve meyvelerinin sulu ekstreleri aynı metodla infüzyon şeklinde hazırlanmıştır. Bu metod için toz halindeki örnekten 6 gr. tartılmış ve 1 lt. kaynar su içerisine dökülmüştür. Hafif ateş üzerinde 1,5 dk. karıştırılarak tutulmuş ve sık tülbentten süzölmüştür. Tadlandırıcı olarak ekstreye 50 gr. bal ilave edilerek iyice karışması sağlanmıştır. Ekstreler her defasında taze olarak hazırlanmış ve bekletilmeden deney hayvanlarına verilmiştir (Packer 1999, Baytop 1984 ve Mills 2000).

3.6. Araştırmanın Planı ve Deneysel Çalışma

Çizelge 3.1. Deneysel çalışmanın genel planını gösteren tablo

1.	GRUP	SIÇAN	UYGULANAN MADDE	UYGUL.	SÜRE
A	NO:	ADEDİ		MIKTAR	
Ş	1	1	Serum fizyolojik (% 0,9 NaCl)	0,58 ml/kg.	6 hafta
A	2	1	Saf zeytinyağı	0,58 ml/kg.	6 hafta
M	3a	2	Benzen-kloroform (5:1) karışımı (Zeytinyağı içerisinde top. % 12)	0,58 ml/kg.	6 hafta
A	3b	11	Benzen-kloroform (5:1) karışımı (Zeytinyağı içerisinde top. % 12)	0,58 ml/kg.	6 hafta
2.	4	5	Meyve ekstreli ballı su (Bal 8,5 gr/kg)	1,02 gr/kg.	4 hafta
A	5	5	Yaprak ekstreli ballı su (Bal 8,5 gr/kg)	1,02 gr/kg.	4 hafta
Ş	6	1	Ballı su	8,5 gr/kg.	4 hafta
A					
M					
A					

Çalışmamızda iki aşamalı bir plan uygulanmıştır. Bu iki aşama birbirini takip eder niteliktedir. 1. aşama benzen-kloroform karışımı uygulama aşaması, 2. aşama ise meyve ekstreli ballı su ve yaprak ekstreli ballı su uygulama aşaması olarak belirlenmiştir.

1. aşamada üç grup oluşturulmuştur. 1. gruba bir adet albino sıçan ayrılmıştır ve 6 hafta süre ile serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) enjeksiyonu yapılmıştır. 2. gruba bir adet albino sıçan ayrılmış ve bu gruba da 6 hafta süre ile saf zeytinyağı enjeksiyonu yapılmıştır. 3a grubuna iki adet albino sıçan ayrılmış ve 6 hafta süre ile benzen-kloroform karışımı enjeksiyonu yapılmıştır. 3b grubuna ise onbir adet albino sıçan ayrılmış ve 6 hafta süre ile benzen-kloroform karışımı enjekte edilmiştir. Enjeksiyon işlemleri haftada 3 kez aynı saatlerde olmak üzere intraperitoneal (Xing ve ark. 1992 ve Sharma ve ark. 1985) olarak uygulanmıştır.

1. aşamanın sonunda 1, 2, 3a grubu albino sıçanlar için ağırlık ölçümü ve diseksiyon işlemlerine geçilmiştir. 3b grubu olarak ayırdığımız albino sıçanlara 6. haftanın sonunda benzen-kloroform karışımı enjeksiyonu kesilmiş ve 2. aşamaya

geçilmiştir. 2. aşamada kalan onbir adet albino sıçan 3 ayrı gruba ayrılmıştır. 4. gruba 4 hafta süre ile meyve ekstreli ballı su, 5. gruba ise 4 hafta süre ile yaprak ekstreli ballı su ve 6. gruba 4 hafta süre ile ballı su verilmiştir. Ballı su, meyve ve yaprak ekstraları haftada üç kez olmak üzere aynı saatlerde taze olarak verilmiştir. 2. aşamanın sonunda ağırlık ölçümü ve diseksiyon işlemlerine geçilmiştir.

Deney hayvanlarına dietileter anestezisi yapılmıştır. Baygın haldeki deney hayvanları disekte edilerek göğüs kafesleri açılmış ve 5 ml' lik enjektörlerle intrakardiyak olarak kanları alınmış, steril efendorf tüplerine aktarılmıştır.

Karaciğerler çıkarılarak hassas terazide tartılmış ve ölçümler kaydedilmiştir. Petri kaplarına aktarılan karaciğerler fazla kanın giderilmesi için distile su ile yıkanmıştır. Stereo mikroskopta genel görünüş fotoğrafları çekilmiştir.

3.6.1. Ağırlık Ölçümleri

Diseksiyon işlemlerine geçilmeden önce vücut ağırlıkları hassas terazide ölçülmüştür ve kaydedilmiştir. Daha sonra disekte edilen deney hayvanlarının karaciğer ağırlıkları hassas terazide ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Karaciğer ağırlıklarının vücut ağırlıklarına göre yüzde oranları hesaplanmış ve tablo haline getirilmiştir.

3.6.2. Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Belirlenmesi

Deney hayvanlarından alınan kanların pıhtı oluşturmaları için 1 saat süre ile oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kanların hemoliz olmaması için tam olarak pıhtılaşması gerekmektedir. Daha sonra kanlar pıhtı zedelenmeden 1 ml.' lik ince uçlu enjektörlerle çekilmiş ve efendorflara aktarılmıştır. Kanlar 3000 devirde 10 dk. santrifüj edilmiş ve serumları alınmıştır. Serumlar etiketlenerek -18 C' de derin dondurucuda tahlil edilene kadar saklanmıştır.

Serumların glutamin-oksalasetat transaminaz (SGOT), serum glutamin-piruvat transaminaz (SGPT), alkalen fosfataz (ALP) aktiviteleri ve total bilirubin, direkt bilirubin düzeyleri 911 Automatic Analyzer (HITACHI Boehringer Mannheim) ile ölçülmüştür.

3.6.3. İstatistiksel Analizler

Deneyler süresince elde edilen değerlerin istatistiksel analizlerinde, ANOVA' nın tek yönlü varyans analizi ve Dunnett' in testi kullanılmıştır. Değerler, $P<0.05$, $P<0.01$ ve $P<0.001$ düzeylerinde önemli olarak kabul edilmiştir.

3.6.4. Histolojik Takip

Deney hayvanlarından disekte edilen karaciğerler, küp şeklinde küçük parçalara ayrılmış ve gazlı bez ile sarılarak %10' luk nötral formalin içerisine atılmıştır. Nötral formalin içerisinde 24 saat süreyle bekletilerek iyice fikse olması sağlanmıştır.

Nötral formalin, % 40' lık formaldehitten 100 cm³., distile sudan 900 cm³., sodyum dihidrojen fosfat monohidrattan 4 gr., disodyum hidrojen fosfat anhidrattan ise 6,5 gr. miktarlarında ölçülerek hazırlanmıştır (Bancroft ve ark. 1990 ve Grimstone ve ark. 1972).

Nötral formalinden çıkarılan dokular fiksatiften kurtulması için 3 saat akarsu altında yıkanmıştır. Daha sonra dokuların suyunu gidermek amacıyla artan alkol serilerine aktarılmıştır. (%70 - %80 - %90 - %96 - %100) Yarımşar saat alkol serilerinde tutulan dokular saydamlaştırma için ksilol serilerine aktarılmıştır. Ksilol I' de 15 dk. tutulmuş ve Ksilol II' de çalkalandıktan sonra sertleştirme işlemi için etüvde 65 C' de sırasıyla Parafin I, Parafin II ve Parafin III serilerinde 15, 60, 60 dk. bekletildikten sonra demir kalıplar kullanılarak parafin bloklar haline getirilmiş ve buzdolabında kesit alınana kadar saklanmıştır.

Kesit alma işleminde ise mikrotomda 5' luk kesitler alınmıştır. Alınan kesitler, açılmaları için 48-50 C' de su banyosuna aktarılmıştır. Açılan kesitler serum albumin eriyiği sürülmüş olan lamlara alınmış ve etüvde 80 C' de dokuların etrafındaki parafinlerin giderilmesi için 1 saat bekletilmiştir. Serum albumin eriyiği hazırlanırken 50 cc. yumurta akı, 50 cc. gliserin, ve thymol kristali kullanılmıştır.

Boyama işlemi için bir dizi ksilol ve alkol serileri kullanılmıştır. Kesitler yıkama ksilölü I, II, III de sırasıyla 3, 2, 1 dk., yıkama alkolü (%96' lık) I, II, III de sırasıyla 2, 1.5, 1 dk. tutulmuş ve 3 dk. akarsuda bekletilmiştir. Boya olarak

hematoksilen-eosin kullanılmıştır. Bunun için hematoksilende 2 dk. tutulup akarsuda 2 dk. yıkanmış ve eosinde 2 dk. tutulup yine akarsuda 2 dk. yıkanmıştır. Yıkamadan sonra kesitler alkol I, II, III de sırasıyla 2, 1.5, 1 dk tutulmuş ve alkolden çıkarılıp 1 dk. kurumaya bırakılmıştır. Son olarak da ksilol I, II, III serilerinde 2, 2, 4 dk. bekletilmiştir. Lamlara entellan damlatılarak lamelle kapatılmış, etiketlenmiş ve mikroskopik inceleme için kurumaya bırakılmıştır.

3.6.5. Mikroskopi

Histolojik takibi yapılan ve preparat haline getirilen karaciğer dokusu örnekleri Olympus BX-50F araştırma mikroskobu ile histolojik, patolojik ve sitolojik olarak incelenmiş ve preparatlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilerek fotoğrafları çekilmiştir.

4. BULGULAR

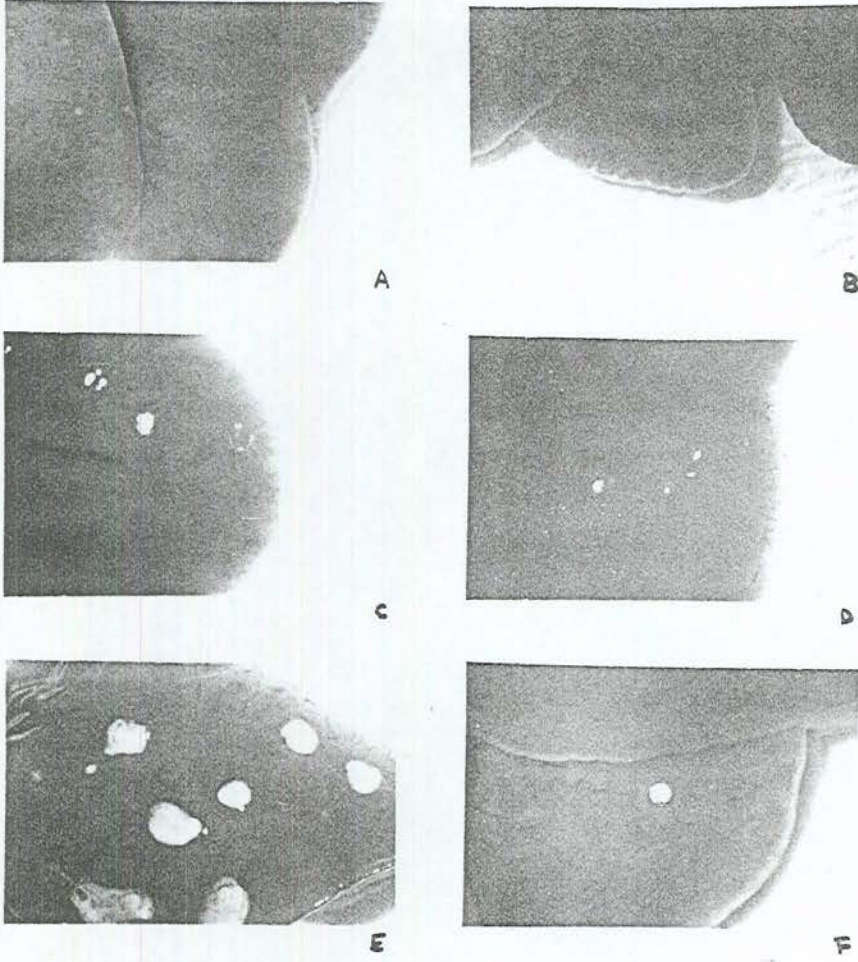
Deney hayvanları enjeksiyon işlemleri öncesi ve sonrasında gözlem altında tutulmuş ve uygulanan maddelere verdikleri tepkiler kaydedilmiştir. Bu bağlamda ister serum fizyolojik olsun ister benzen-kloroform karışımı olsun enjeksiyon işlemi deney hayvanlarında hafif stres tepkilerine yol açmaktadır. Serum fizyolojik ve zeytinyağı uygulanan deney hayvanlarında tepkiler enjeksiyon süresince aynı şekilde devam ederken benzen-kloroform karışımı uyguladığımız deney hayvanlarında 2-3. haftalardan itibaren enjeksiyon bitimine kadar artan şekilde bir saldırganlık gözlenmiş, hapşırmaya benzer bir ses çıkardıkları saptanmıştır. Ayrıca enjeksiyonun son iki haftasında 3a ve 3b grubundan birer deney hayvanında başlangıçta sol göz çevresinde kanlanma ve şişme görülmüş daha sonra da göz renginin kaybolduğu gözlenmiştir. Enjeksiyonun hemen sonrasında önce toplanma ve daha sonra gerinme hareketleri gözlenmiştir. Meyve ekstreli ballı su verilen sıçanlarda bu etkileşimlerin azaldığı gözlemlenmiştir.

1. aşamada deney hayvanlarından serum fizyolojik ve zeytinyağı uyguladığımız gruplarda ölüm meydana gelmemiştir fakat benzen-kloroform karışımı uyguladığımız gruplardan 3. grupta 4 deney hayvanı ölmüştür. 2. aşamada ise 5. grupta 1 deney hayvanı ölmüştür. Ölen deney hayvanlarının ölüm saati belirlenemediğinden deneyden çıkarılmışlardır.

Disekte edildikten sonra deney hayvanlarının iç organları makroskopik olarak incelenmiştir. Bu incelemelerimize göre 1. aşamada serum fizyolojik uygulanan 1. grupta iç organlarda ve özellikle karaciğerde bir anormalliğe rastlanmamıştır (Şekil 1-A). 2. grupta iç organlarda hafif yağlanma, karaciğerde uç bölgelerde kılcal damarlarda zenginleşmeye rastlanmıştır (Şekil 1-C). 3. grupta akciğerlerde genel bir kılcal damarlarda zenginleşme ve renginde pembeden beyaza dönüş, böbreklerde yağlanma ve yer yer beyaz kabartılar, bağırsaklarda kistler gözlenmiştir. Karaciğerde ise, kılcal damarlarda aşırı zenginleşme ve çok sayıda, farklı şekil ve büyüklükte beyaz renkli anormal kabartılara rastlanmıştır (Şekil 1-E).

2. aşamada 4. grup deney hayvanlarını, benzen-kloroform karışımı uygulanan deney hayvanlarıyla karşılaştırdığımızda böbreklerdeki beyaz lekelerin

kaybolduğu, bağırsaklarda ise sarımsı lekelerin oluştđu gözlemlenmiştir. Deney hayvanı disekte edildiğinde ilk anda karaciğerin üzerinde küçük şeffaf damlacıkların olduğu ve çok parlak koyu olan kahverenginin açık ve mat bir kahverengiye dönüştüğu gözlemlenmiştir. Ovaryumların çok büyüdüğu gözlemlenmiştir. Karaciğerde kılcal damarlarda zenginleşme ve beyaz kabartılar kaybolmuştur. Karaciğerin görünümünün 1. grupta benzer olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 1-B). 5. grup deney hayvanlarında akciğerlerin normalden büyük olduğu ve üzerinde beyaz lekelerin oluştđu ve diğeri iç organların normale döndüğu gözlemlenmiştir. Karaciğerin oldukça büyük olduğu, üzerinde küçük şeffaf damlacıkların olduğu, kılcal damarlarda zenginleşmenin azaldığı, benzen ve kloroform karışımı uygulananlarla karşılaştırdığımızda beyaz anormal kabartıların küçüldüğu ve sayılarının azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 1-D) 6. grupta karaciğerde büyük, dairesel ve tek bir beyaz anormal kabartı gözlemlenmiştir. Ayrıca kılcal damarlarda zenginleşme ve karaciğer yüzeyinde hafif gözenekleşme dikkat çekmektedir (Şekil 1-F).



Şekil 4.1. Karaciğerlerin makroskopik görüntüleri : A. Serum fizyolojik uygulanan 1. grup (x 6,5). B. Meyve ekstreli-ballı su uygulanan 4. grup (x 6,5). C. Saf zeytinyağı uygulanan 2. grup (x 6,5). D. Yaprak ekstreli-ballı su uygulanan 5. grup (x 6,5). E. Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grup (x 10). F. Ballı su uygulanan 6. grup (x 10).

4.1. Ağırlık Değişimi Bulguları

Çizelge 4.1. Deney hayvanlarının karaciğerlerindeki ağırlık değişimi sonuçları

1.	GRUP	SIÇAN	UYGUL. MADDE	VÜCUT	K. CİĞER	%
	NO:	NO:		AĞIR.	AĞIRLIĞI	ORANI
A	1	1	Serum fizyolojik	162.00 gr	6.47 gr	3.99
Ş	2	1	Saf zeytinyağı	171.00 gr	9.00 gr	5.26
A	3	1	Benzen-kloroform karış. (Zeytinyağında %12)	146.00 gr	8.93 gr	6.11
M	3	2	Benzen-kloroform karış. (Zeytinyağında %12)	159.00 gr	10.00 gr	6.28
A	4	1	Meyve ekstreli ballı su	176.65 gr	7.53 gr	4.26
	4	2	Meyve ekstreli ballı su	125.09 gr	5.71 gr	4.56
A	4	3	Meyve ekstreli ballı su	194.50 gr	9.67 gr	4.97
Ş	5	1	Yaprak ekstreli ballı su	158.00 gr	9.80 gr	6.20
A	5	2	Yaprak ekstreli ballı su	162.00 gr	11.28 gr	6.96
M	5	2	Yaprak ekstreli ballı su	162.00 gr	11.28 gr	6.96
A	6	1	Ballı su	217.55 gr	7.53 gr	3.46

Yukarıdaki tabloda görüldüğü gibi 1. aşamada saf zeytinyağı uyguladığımız deney hayvanlarındaki karaciğer ağırlığı (vücut ağırlığına oranı) serum fizyolojik uyguladığımız deney hayvanlarına oranla % 31.82 artarken, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız deney hayvanlarında bu artış sırasıyla % 53.13 ve % 57.39 oranlarında meydana gelmiştir. Meyve ekstreli ballı su uyguladığımız 1., 2. ve 3. deney hayvanlarında benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 1. ve 2. deney hayvanlarına oranla sırasıyla % 30.27 ve 32.16, % 25.36 ve 27.38, % 18.65 ve 20.85 düşüş meydana gelmiştir. Yaprak ekstreli ballı su uyguladığımız 1. ve 2. deney hayvanlarında benzen-kloroform uyguladığımız 1. ve 2. deney hayvanlarına oranla sırasıyla % 1.47 artış ve 1.27 düşüş, % 13.91 ve 10.82 artış saptanmıştır. 2. aşamada ballı su uyguladığımız deney hayvanlarında benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 1. ve 2. deney hayvanlarına oranla sırasıyla % 43.37 ve % 44.90 düşüş belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Deney hayvanlarında karaciğer ağırlık değişimlerinin istatistiksel analizleri

Group	N	UYGULANAN MADDE	K. CİĞER AĞIRLIKLARI (gr./100gr.)
3	2	Benzen-kloroform karış.	6.1950 ± 0.1202
4	3	Meyve ekstreli ballı su	4.5967 ± 0.3564
5	2	Yaprak ekstreli ballı su	6.5800 ± 0.5374

2. aşamada karaciğer ağırlık değişimi, 4. grupta kontrol grubuna (3. grup) göre % 25.79 düşüş göstermiştir. 5. grupta, 3. gruba göre % 6.21 artış göstermiştir. Değerlerde istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).

4.2. Serumun Biyokimyasal Bulguları

Çizelge 4.3. Serumun biyokimyasal analizlerinin sonuçları

1.	GRUP	SIÇAN	ALP (U/L)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	T-BIL (mg /dl)	D-BIL (mg /dl)
A	1	1	494	77	57	0,2	<0,01
Ş	2	1	1068	239	82	0,1	<0,01
A	3	1	1317	131	48	0,1	<0,01
M	3	2	1379	172	122	0,1	<0,01
A	4	1	962	160	57	0,1	<0,01
	4	2	1244	239	71	0,1	<0,01
A	4	3	883	93	58	0,1	<0,01
Ş	5	1	979	98	50	0,0	<0,01
A	5	2	939	233	101	0,1	<0,01
M	6	1	977	96	72	0,1	<0,01
A							

1. aşamada ALP değeri, 2. grupta 1. gruba göre % 116.19, 3. grupta 1. gruba göre % 172.87 artış göstermiştir. SGOT değeri, 2. grupta 1. gruba göre % 210,38 artış, 3. grupta % 96.75 artış göstermiştir. SGPT değeri, 2. grupta 1. gruba göre % 43.85, 3. grupta 1. gruba göre % 114.03 artış göstermiştir. T- BIL değeri, 2. ve 3. grupta 1. gruba göre % 50 düşüş göstermiştir. D-BIL değerlerinde farklılık bulunmamıştır.

2. aşamada ALP, SGOT, SGPT değerleri, 6. grupta kontrol grubuna (3. grup) göre sırasıyla % 26.90 düşüş, % 24.67 artış, % 40.98 düşüş göstermiştir. 2. aşamada T-BIL ve D-BIL açısından farklılık görülmemiştir.

Çizelge 4.4. Serum biyokimyasal analizlerinin istatistiksel değerleri

Group	N	ALP (U/L)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)
3	2	1348.00 ± 43.80	151.50 ± 28.99	85.00 ± 52.33
4	3	1029.00 ± 1898***	164.00 ± 73.08***	62.00 ± 07.81***
5	2	959.00 ± 28.30***	165.50 ± 95.46***	75.50 ± 36.06**

*** P<0.001, kontrol grubuna göre. ** P<0.01 ve *P<0.05 kontrol grubuna göre.

2. aşamada ALP değeri, 4. grupta kontrol grubuna (3. grup) göre % 23.66, 5. grupta kontrol grubuna göre % 28.85 düşüş göstermiştir. ALP değerindeki düşüş, 4. ve 5. grupta P<0.001 düzeyinde önemli bulunmuştur.

SGOT değeri, 4. grupta kontrol grubuna göre % 8.25, 5. grupta ise kontrol grubuna göre % 9.24 artış göstermiştir. SGOT değerindeki artış, 4. ve 5. grupta P<0.001 düzeyinde önemli bulunmuştur.

SGPT değeri, 4. grupta kontrol grubuna göre % 27.05, 6. grupta kontrol grubuna göre % 11.17 düşüş göstermiştir. SGPT değerindeki düşüş, 4. grupta P<0.001 ve 5. grupta P<0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

4.3. Histolojik, Sitolojik ve Patolojik Bulgular

4.3.1. Serum Fizyolojik Uygulanan 1. Deney Grubu

Deney hayvanlarından alınan karaciğerlerin ışık mikroskopunda incelenmesi sonucunda, portal alanda temel olarak üç yapı gözlemlenmiştir. Bunlar portal ven, safra kanalı ve hepatik arter olarak gözlemlenmiştir. Portal ven, safra kanalı ve hepatik arterin dairesel bir görünümde olduğu belirlenmiştir. Portal alanda bu üçlü yapıda portal ven merkezde ve geniş bir lümenle sahip olarak görülmektedir. Safra kanalı ve hepatik arterin bu dairesel görünümünün yanısıra lümen genişliklerinin portal vene oranla çok daha az oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.2-A).

Portal alanda yaptığımız incelemeler sonucunda, dairesel yapıyı oluşturan çeper endotelinin kesintisiz olduğu belirlenmiştir. Ayrıca portal venin çeper endotelinin sınırlarının belirgin ve düzgün görünümü dikkat çekmektedir. Portal venin çeperini oluşturan endotel hücrelerinin oval ve koyu bazofilik boyanmış çekirdekleri izlenmiştir. Çekirdeklerin oval görünümü ve stoplazmanın ise ince uzun bir yapısı dikkat çekmektedir. Safra kanalını oluşturan epitel hücrelerinin belirgin küresel çekirdekleri olduğu görülmüştür (Şekil 4.2-A).

Portal alanın çevresindeki yapıları incelediğimizde, karaciğer lobüllerini oluşturan karaciğer hücre kordonlarının sentral ven çevresinden radyal dağılımının portal alana kadar aynı şekilde devam ettiği belirlenmiştir. Karaciğer hücre kordonları arasında farklı şekillere sahip birçok sinüzoid görülmektedir. Sinüzoidlerin lümenleri karaciğer hücre kordonlarını oluşturan hepatositlerin birbirleriyle birleştiği yerlerde sınırlanmıştır (Şekil 4.2-A).

Araştırmamız sonucu, periportal alanda hepatositlerin çoğunlukla tek çekirdekli oldukları belirlenmiştir. Bazı hepatositlerin iki çekirdekli oldukları gözlemlenmiştir. Ayrıca hepatositlerin genelde bazofilik boyandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2-A).

Deneysel çalışmamızın sonucunda, periportal alanın ayrıntılı görünümünde hepatositlerin belirginliği dikkat çekmektedir. Hepatositlerin hücre sınırları net olarak seçilmektedir. Stoplazma dolgun ve çok küçük granüler yapısı izlenmiştir. Sinüzoidler hepatositlerin arasında belirgin boşluklar olarak görülmektedir. Sinüzoidlerin çeperleri kesintisiz olarak görülmektedir. Sinüzoidlerin bazılarının lümenlerinde farklı şekillere sahip küpfer hücreleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.2-C).

Hepatositlerin detaylı olarak incelenmeleri sonucunda, çekirdeklerin büyük ve belirgin oldukları görülmüştür. Çekirdeklerin sınırlarının netliği ve dairesel şekilleri dikkat çekmektedir. Hepatositlerde çekirdeklerin konumları da dikkat çekmektedir. Çekirdekler hepatositlerin ortasında bulunmaktadır. Önl plana çıkan diğer bir nokta da çekirdeklerin koyu bazofilik boyanmalarıdır. Özellikle çekirdeklerin içerisinde kromatinlerin yoğunlaştığı bölgeler net olarak seçilmektedir. Kromatin yoğunlukları genellikle çekirdeklerin kenarlarında

toplanmıştır. Çekirdek içerisinde bazı bölgelerde boşluklar da göze çarpmaktadır. Ayrıca küpfer hücrelerinin detaylı incelenmeleri sonucunda, koyu bazofilik boyandıkları belirlenmiştir (Şekil 4.2-C).

4.3.2. Saf Zeytinyağı Uygulanan 2. Deney Grubu

Çalışmamızda saf zeytinyağı uyguladığımız 2. deney grubunda 1. deney grubuna göre portal venin dairesel şeklinin oval bir şekle dönüştüğü gözlemlenmiştir. Portal venin lümeninde eritrosit yığınları göze çarpmaktadır. Yapılan incelemeler sonucunda, 2. deney grubunda portal venin çeper endotelinin, 1. deney grubuna göre kalınlaştığı belirlenmiştir. Safra kanalını oluşturan epitel hücrelerinin küresel çekirdeklerinin 1. deney grubuna göre daha çok sayıda olduğu ve safra kanalının lümeninin de 1. deney grubuna göre daha geniş olduğu görülmektedir (Şekil 4.2-B).

Periportal alanda yaptığımız incelemeler sonucunda, 2. deney grubunda karaciğer hücre kordonlarının radyal dağılımının, 1. deney grubuna göre bozulduğu gözlemlenmiştir. Sinüzoidlerin sınırları net olarak seçilememektedir. Ayrıca yaygın sinüzoidal kanlanma (hiperemi; konjesyon) dikkat çekmektedir (Şekil 4.2-B).

Çalışmamız sonucunda, 2. deney grubunda hepatositlerin, 1. deney grubuna göre genelde daha soluk boyandığı belirlenmiştir. Periportal alandaki hepatositlerde genel olarak buzlu cam görüntüsü izlenmektedir (Şekil 4.2-B).

Araştırmalarımız sonucunda, 2. deney grubunda periportal alanı detaylı olarak incelediğimizde, 1. deney grubuna göre hepatositlerin belirginliğinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. Saf zeytinyağı uyguladığımız 2. deney grubunda hepatositlerin hücre sınırları seçilememektedir. 2. deney grubunda hepatositlerin stoplazmaları, 1. deney grubuna göre daha belirgin ve sık bir granüler yapı göstermektedir. Stoplazmadaki buzlu cam görüntüsü bazı bölgelerde daha fazla göze çarpmaktadır. Sinüzoidlerin çeperlerinde yer yer kesintilere rastlanmaktadır. Ayrıca sinüzoidlerin lümeninde bol miktarda eritrosit göze çarpmaktadır (Şekil 4.2-D).

Saf zeytinyağı uyguladığımız 2. deney grubunda hepatositlerin detaylı olarak incelendiğimizde, çekirdeklerin 1. deney grubuna göre biraz daha küçük ve daha az belirgin oldukları saptanmıştır. Aynı zamanda bazı hepatositlerde çekirdeklerin hücrenin ortasında değil de kenarlarında bulunduğu görülmüştür. 2. deney grubunda hepatositlerin çekirdeklerinin, 1. deney grubuna göre daha koyu bazofilik boyandığı belirlenmiştir fakat kromatin yoğunlukları net olarak seçilememektedir. Ayrıca çekirdek içerisinde çok az boşluk görülmektedir (Şekil 4.2-D).

4.3.3. Benzen-kloroform Karışımı Uygulanan 3. Deney Grubu (Kontrol)

Araştırmamız sonucunda, benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. deney grubunda portal alanın genel görünümünün, 1. deney grubuna göre ağırlıklı olarak belirgin bir farklılık gösterdiği saptanmıştır. İncelemeler sonucunda, 1. deney grubunda net olarak görülen portal venin, 3. deney grubunda yapısının bozulduğu belirlenmiştir. Portal venin çeper endoteli görülmezken sadece eritrosit toplulukları göze çarpmaktadır (Şekil 4.3-A).

Çalışmamızda yaptığımız incelemeler sonucunda, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda, 1. deney grubunda görmediğimiz çok geniş bir alana yayılmış olan fibroz doku göze çarpmaktadır. Geniş fibroz dokunun çeşitli bölgelerinde safra kanallarının sayısında belirgin bir artış (prolifere safra kanalları) gözlenmiştir. Bu fibroz dokunun, portal alandan başlayarak periferde yer yer hepatosit gruplarını da içine alacak ve safra kanallarını birbirinden çok uzak noktalara itecek şekilde geniş bir alana yayıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.3-A).

Yaptığımız incelemeler sonucunda, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda safra kanallarının, 1. deney grubundaki dairesel görünümünü kaybettiği belirlenmiştir. İncelemelerimizde safra kanallarının genel şekillerinin ovalden ince-uzun şekillere kadar değişen görünümleri dikkat çekmektedir. 3. deney grubunda safra kanallarının 1. deney grubuna göre belirgin bir şekilde kalınlaştığı görülmektedir. Ayrıca safra kanallarının genel yapılarının bozulduğu, safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin sayısının arttığı ve bazı

bölgelerde küresel çekirdek yığınlarının olduğu göze çarpmaktadır. Bunların yanısıra, safra kanallarının çevrelerinde mononükleer lenfositer hücrelerin (mononükleer hücre infiltrasyonu) yoğunlaştığı görülmektedir (Şekil 4.3-A).

Geniş fibroz dokuyu incelediğimizde, ince uzun çekirdekli bağ dokusu hücreleri, eritrositler, mononükleer iltihabi hücreler, farklı çekirdek kırıntıları gözlemlenmiştir. Fibroz doku içerisinde kalmış olan hepatositlerin genel görünümünü kaybettikleri ve dağınık oldukları görülmektedir (Şekil 4.3-A).

Araştırmamız sonucunda, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda geniş fibroz dokunun periferinde rejenere hücreler dikkat çekmektedir. Ayrıca fibroz doku periferinde hepatosit yığınlarında belirgin bir artış görülmektedir (Şekil 4.3-A).

Portal alanlarda yaptığımız incelemeler sonucunda, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda portal triat (genellikle zedelenmiştir) kenarlarında, 1. deney grubunda bulunmayan çok sayıda fokal nekroz bölgeleri saptanmıştır (Şekil 4.3-C).

Araştırmamız sonucunda, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda, periportal alanda bu bölgeler sınırları belirgin, yuvarlak, soluk boyanmış olan yama şeklinde nekroz bölgeleri olarak gözlemlenmiştir (granüloma). Bu bölgede çekirdek kalıntıları, mononükleer lenfositer hücreler ve eosinofilik nekroz görülmektedir (Şekil 4.5-A). Çalışmamız sonucu, periportal alanda düzensiz hyalin görünümünde lezyonların bulunduğu belirlenmiştir. Lezyonun sınırlarının belirgin olduğu görülmektedir. Lezyonun sınırlarının genelde mononükleer lenfositer hücrelerle belirlendiği gözlemlenmiştir. Lezyonun periferindeki hepatositlerin koyu bazofilik boyandığı, lezyon bölgesinin ise soluk eosinofilik boyandığı belirlenmiştir (Şekil 4.5-B). İncelemelerimiz, lezyonun tamamen nekroze olduğunu göstermektedir. Lezyon bölgesinde mononükleer lenfositer hücreler, az sayıda çekirdek kalıntıları ve birkaç tane eritrosit bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5-C).

Lezyon bölgesinde yaptığımız detaylı incelemeler sonucunda, düzensiz hyalin görünümüne nekroz sonrası stoplazmik artıkların aşırı birikimi ve anormal dağılımının neden olduğu görülmüştür. Stoplazmik vakuoller ve granüller de bu

görünümüne eşlik etmektedir. Ayrıca farklı şekillere sahip çekirdek yığınları saptanmıştır. Çekirdekler koyu bazofilik boyanmışken düzensiz stoplazmik artıklar soluk eosinofilik boyanmıştır (Şekil 4.5-D).

Periportal alanda detaylı incelemeler sonucunda, hepatositlerde yaygın hidropik (vakuoler) dejenerasyon saptanmıştır. Araştırmamızda, çok sayıda ve farklı büyüklüklerde vakuoller bulunmuştur. Bazı hepatositlerde, vakuoller stoplazmanın büyük bir kısmını kaplamaktadır. Sinüzodlerde kanlanma göze çarpmaktadır. Sinüzoidlerin sınırları belirsizleşmiştir ve lümenleri daralmıştır (Şekil 4.3-E).

Benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda hücrelerin sınırları, 1. deney grubuna göre kaybolmuştur. 3. deney grubunda stoplazmadaki ince granüler yapı, 1. deney grubuna göre çok daha belirginleşmiştir. 3. deney grubunda hepatositler, 1. deney grubuna göre daha koyu boyanmıştır. 3. deney grubunda çekirdekler, 1. deney grubuna göre biraz daha küçülmüştür. Çekirdeklerin konumları değişkendir. 1. deney grubunda net olarak seçilen kromatin yoğunlukları 3. deney grubunda seçilememektedir. Bunun yanı sıra, çekirdek içerisinde boşluklar ortadan kalkmıştır (Şekil 4.3-E).

4.3.4. Meyve Ekstreli-Ballı Su Uygulanan 4. Deney Grubu

Araştırmalarımız sonucunda, meyve ekstreli ballı su uyguladığımız 4. deney grubunda portal alanda, kontrol (3. deney grubu) grubuna göre belirgin bir değişim görülmüştür. Kontrol grubunda kaybolmuş olan portal venin, 4. deney grubunda yerini aldığını görmekteyiz. Portal ven, safra kanalları ve hepatik arter dalları normal histolojik yapıda (1. deney grubu) görülmektedir. Portal ven, safra kanalı ve hepatik arterin lümeninin geniş ve çeper endotelinin kalın olduğu göze çarpmaktadır. Periportal alanda geniş fibroz dokunun kaybolması ve yerini hepatositlerin almasına bağlı olarak bazı bölgeler düzensiz bir görünüm sergilemektedirler. Safra kanallarının sayısında belirgin bir azalma göze çarpmaktadır. 4. deney grubunda rejenere hücreler görülmezken, hepatosit yığınlarının da normale döndüğü belirlenmiştir. İncelemelerimiz sonucunda, portal alanda ve periferinde mononükleer lenfositler hücrelere rastlanmamıştır. 4.

deney grubunda hepatositlerin, kontrol grubuna göre genelde daha koyu bazofilik boyandıkları gözlemlenmiştir (Şekil 4.3-B).

Portal alanda yaptığımız incelemeler sonucu, 4. deney grubunda safra kanallarının, kontrol grubuna göre belirgin olarak incelendiği dikkat çekmektedir. Ayrıca safra kanallarının genel yapısını kazandığı, safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin sayısının azaldığı ve küresel çekirdek yığınlarının kaybolduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca 4. deney grubunda safra kanallarını çevresinde görülen mononükleer lenfositler hücre yoğunlukları da ortadan kalkmıştır. Ayrıca hepatik arterler de normal histolojik yapıda görülmektedir (Şekil 4.3-D).

Periportal alanda yaptığımız incelemeler sonucunda, meyve ekstreli ballı su uyguladığımız 4. deney grubunda, kontrol grubunda gözlemlediğimiz yama şeklindeki fokal nekroz bölgeleri ortadan kalkmıştır. Araştırmamız sonucu, meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda, kontrol grubunda görülen düzensiz hyalin görünümündeki lezyonların da bulunmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.3-B, 4.3-D).

Çalışmamızda portal alan çevresindeki detaylı incelemeler, meyve ekstreli ballı su uyguladığımız 4. deney grubunda hepatositlerde, kontrol grubunda görülen hidropik dejenerasyonun ortadan kalktığını göstermektedir. 4. deney grubunda sinüzoidlerde kanlanma, kontrol grubuna göre biraz daha artmıştır. Araştırmamızda 4. deney grubunda sinüzoidlerin, kontrol grubuna göre daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3-F).

Hepatositler üzerinde yaptığımız detaylı incelemeler sonucunda, meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda hücre sınırları, kontrol grubuyla benzer görülmüştür. Granüler yapısı, kontrol grubuna göre belirginliği azalmıştır. Hepatositlerin çekirdekleri, kontrol grubuna göre daha belirginleşmiştir. 4. deney grubunda kromatin yoğunlukları, kontrol grubuna göre daha net seçilmektedir. Çekirdeklerin bazılarında boşluklar görülmektedir (Şekil 4.3-F).

4.3.5. Yaprak Ekstreli-Ballı Su Uygulanan 5. Deney Grubu

Deneyisel çalışmamızın sonucunda, yaprak ekstreli-ballı su uygulanan 5. deney grubunda portal alanlarda, kontrol grubuna göre farklılıklar saptanmıştır. 5. deney grubunda, kontrol grubunda görülmeyen portal ven çeper endoteli

görülmektedir. 5. deney grubunda, kontrol grubuna göre daha yoğun mononükleer lenfositler hücre toplulukları gözlemlenmiştir. Bu mononükleer hücreler portal venin periferinde nekroze olmuş çok sayıda hepatositlerle beraber görülmektedir (Şekil 4.4-A).

Portal alanda yaptığımız incelemeler sonucunda, 5. deney grubunda, portal venin çeper endotelinin oldukça kalın olduğu gözlemlenmiştir. Portal venin çeper endoteli kesintisiz değildir. Endotel çekirdekleri hücre dışında ve tek yönde uzanmaktadır. 5. deney grubunda safra kanallarının sayısı, kontrol grubuna göre belirgin bir azalma göstermiştir. Safra kanalları normal histolojik yapıda görülmektedir. Hepatik arter dalları net olmamakla birlikte seçilebilmektedir. Yaprak ekstreli ballı su uygulanan 5. deney grubunda fibroz doku, kontrol grubuna göre daralmıştır. Fibroz dokunun daraldığı bölgelerde hepatositlerdeki düzensizlik dikkat çekmektedir. Portal alan periferinde nekroze ve rejenere hücreler göze çarpmaktadır. 5. deney grubunda hepatositler, kontrol grubuna göre genelde soluk boyanmıştır. Bazı bölgelerde buzlu cam görüntüsüne rastlanmaktadır (Şekil 4.4-C).

Portal alanın çevresinde yaptığımız incelemeler sonucunda, 5. deney grubunda, kontrol grubunda görülen yama şeklindeki ve düzensiz hyalin görünümündeki lezyonlara rastlanmamıştır (Şekil 4.4-C).

Araştırmamızda yaptığımız detaylı incelemeler sonucunda, yaprak ekstreli-ballı su uygulanan 5. deney grubunda hepatositlerdeki hidropik dejenerasyonun, kontrol grubuna göre daha az olduğu belirlenmiştir. Vakuoller, küçük ve az sayıda gözlemlenmiştir. 5. deney grubunda sinüzoidlerde kanlanma, kontrol grubuna göre belirgin bir düzeyde artmıştır. 5. deney grubunda sinüzoidlerin lümenleri, kontrol grubuna göre daha geniş olarak görülmektedir. Sinüzoid sınırları daha belirgin olmakla birlikte çeperlerinin kesintisiz olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4-E).

Hepatositler üzerinde yaptığımız detaylı incelemeler sonucunda, yaprak ekstreli-ballı su uygulanan 5. deney grubunda hücresel yapının, kontrol grubuna göre biraz daha bozuk olduğu görülmektedir. Hepatositlerde yer yer hücre çeperlerinin parçalandığı ve stoplazmik yapıların sinüzoid lümenleri içerisine

dağıldığı gözlemlenmiştir. Stoplazmanın ince granüler yapısı, bazı bölgelerde belirginleşirken bazı bölgelerde net olarak seçilememektedir. Boyanma açısından da stoplazma da bölgesel farklılıklar göze çarpmaktadır. Bazı bölgeler koyu, bazı bölgeler de soluk bazofilik boyanmışlardır (Şekil 4.4-E).

Detaylı incelemeler sonucunda, 5. deney grubunda hepatositlerin çekirdeklerinin, kontrol grubuna göre daha koyu boyandığı belirlenmiştir. Çekirdek sınırları da belirginleşmiştir. İncelemelerimiz sonucu, 5. deney grubunda çekirdeklerin, kontrol grubuna göre çok farklı büyüklüklerde olduğu saptanmıştır. Kromatin yoğunlukları, kontrol grubuna göre daha net olarak görülmektedir. Çekirdeklerde boşluklar bulunmaktadır (Şekil 4.4-E).

4.3.6. Ballı Su Uygulanan 6. Deney Grubu

Araştırmamız sonucunda, ballı su uygulanan 6. deney grubunda, kontrol grubunda bulamadığımız portal veni gözlemlemekteyiz. Portal venin çeper endoteli, kesintili ve düzensiz olarak göze çarpmaktadır. Geniş bir lümenine sahip olduğu belirlenmiştir ve bazı bölgelerde hepatositler parçalanmış ve lümen içerisine sızmışlardır. Portal venin periferinde mononükleer lenfositler hücrelerin toplandığı belirlenmiştir. Bu mononükleer hücreler özellikle safra kanalları ve hepatic arterlerin bulunduğu bölgelerde yoğunlaşmıştır. Ayrıca portal alanın periferinde nekroze hücreler gözlemlenmiştir (Şekil 4.4-B).

Çalışmamızın sonucunda, ballı su uyguladığımız 6. deney grubunda, kontrol grubuna göre safra kanalları sayısında belirgin bir azalma dikkat çekmektedir. İncelemelerimiz sonucunda, 6. deney grubunda, bazı safra kanallarının yapısının kontrol grubuna benzer olduğu belirlenmiştir. Hepatic arter dalları ise seçilememektedir. Bunların yanısıra fibroz dokuda, kontrol grubuna göre gerilemiş fakat normale dönmemiştir. Portal alanın çevresindeki hepatositler, kontrol grubuna göre genelde daha soluk boyanmışlardır ve yer yer buzlu cam görüntüsünde karaciğer parankim hücreleri bulunmaktadır (Şekil 4.4-D).

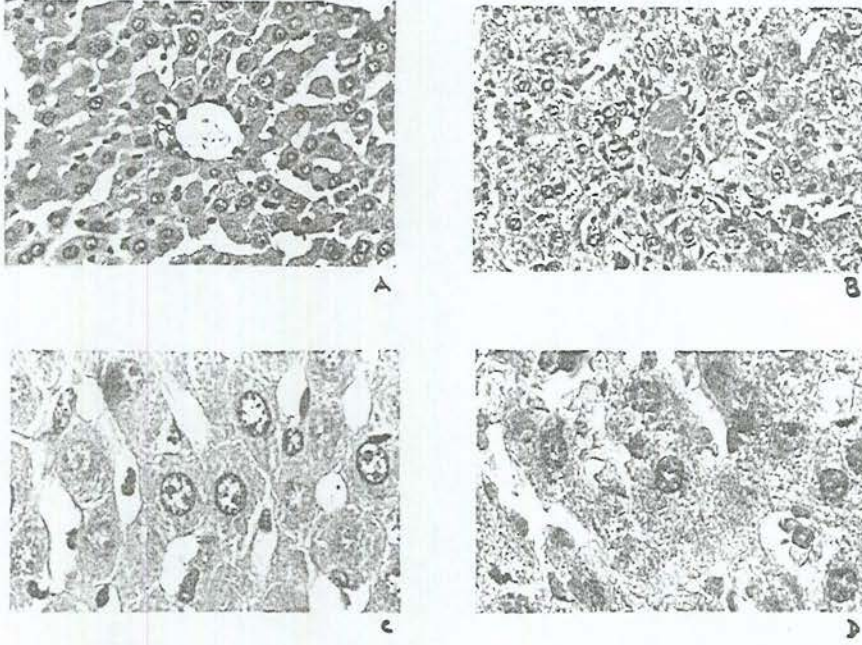
Portal alan periferinde yaptığımız incelemerde, ballı su uygulanan 6. deney grubunda, kontrol grubunda saptadığımız lezyonlara rastlanmamıştır (Şekil 4.4-B).

Yaptığımız detaylı incelemelere göre, 6. deney grubunda sinüzoidler, kontrol grubuna göre daha belirsizdir ve sinüzoidlerde kanlanma, kontrol grubuna benzer olarak görülmektedir (Şekil 4.4-F).

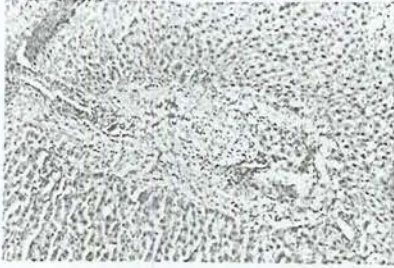
Hepatositler üzerinde yaptığımız detaylı incelemeler sonucunda, ballı su uygulanan 6. deney grubunda hücresel yapının, kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde bozulduğu saptanmıştır. Hepatositlerin çoğunluğunda hücre çeperlerinin, kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde parçalandığı tespit edilmiştir. Hepatositlerin çoğunluğunda stoplazmik içerikler sinüzoidler içerisine dağılmıştır. Stoplazmanın granüler görünümü, kontrol grubuna göre daha fazla belirginleşmiştir. 6. deney grubunda stoplazmik içerikler, kontrol grubuna göre daha soluk boyanmıştır (Şekil 4.4-F).

Detaylı incelemelerimiz sonucunda, ballı su uyguladığımız 6. deney grubunda, kontrol grubuna göre çok daha yaygın bir vakuolizasyon saptanmıştır. Vakuoller, hücre stoplazmasının tamamına dağılmıştır. Ayrıca bu vakuoller çok farklı büyüklükler göstermektedirler (Şekil 4.4-F).

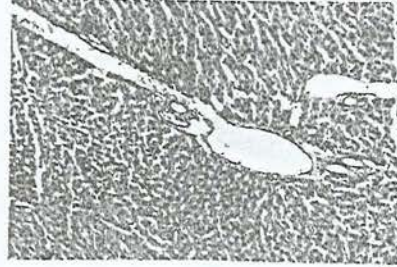
Hepatositleri detaylı olarak incelediğimizde, ballı su uygulanan 6. deney grubunda çekirdeklerin, kontrol grubuna göre daha büyük oldukları ve daha koyu bazofilik boyandıkları belirlenmiştir. Hepatositlerin çekirdeklerinde, kromatin yoğunlukları, kontrol grubuna göre net olarak seçilmektedir. Ayrıca hepatosit çekirdeklerinde çok açık bazofilik boyanmış bölgeler görülmektedir (Şekil 4.4-F).



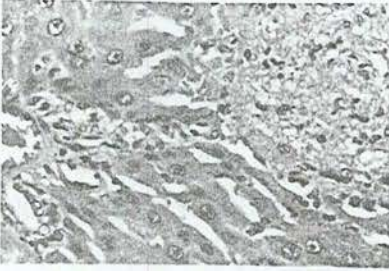
Şekil 4.2. Karaciğere ait kesitlerin histolojik görünimleri (Hematoksilen & eosin). A. Serum fizyolojik uygulanan 1. deney grubu (x 40). B. Saf zeytinyağı uygulanan 2. deney grubu (x 40). C. Serum fizyolojik uygulanan 1. grup detaylı (x100). D. Saf zeytinyağı uygulanan 2. grup detaylı (x100).



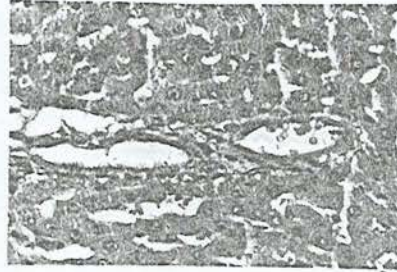
A



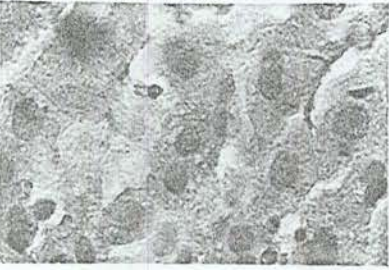
B



C



D



E

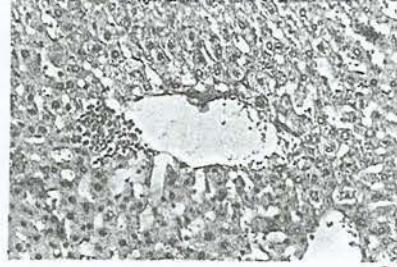


F

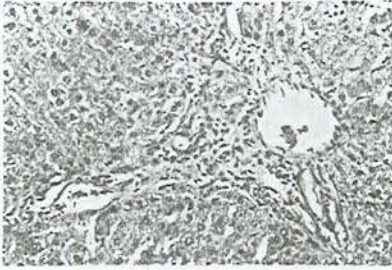
Şekil 4.3. Karaciğere ait kesitlerin histolojik görünümleri (Hematoksilen & eosin). A. Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grup (x10). B. Meyve ekstreli-ballı su uygulanan 4. grup (x10). C. Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grup (x40). D. Meyve ekstreli-ballı su uygulanan 4. grup (x 40). E. Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grup detaylı (x 100). F. Meyve ekstreli-ballı su uygulanan 4. grup (x100).



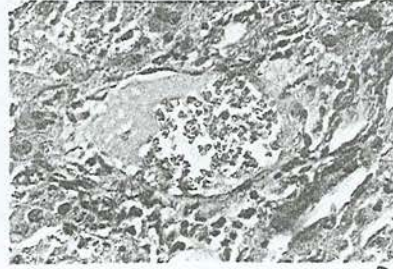
A



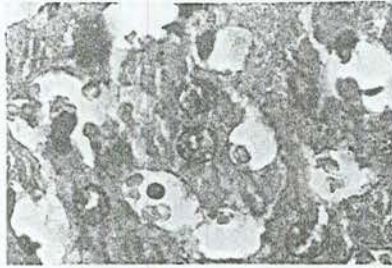
B



C



D

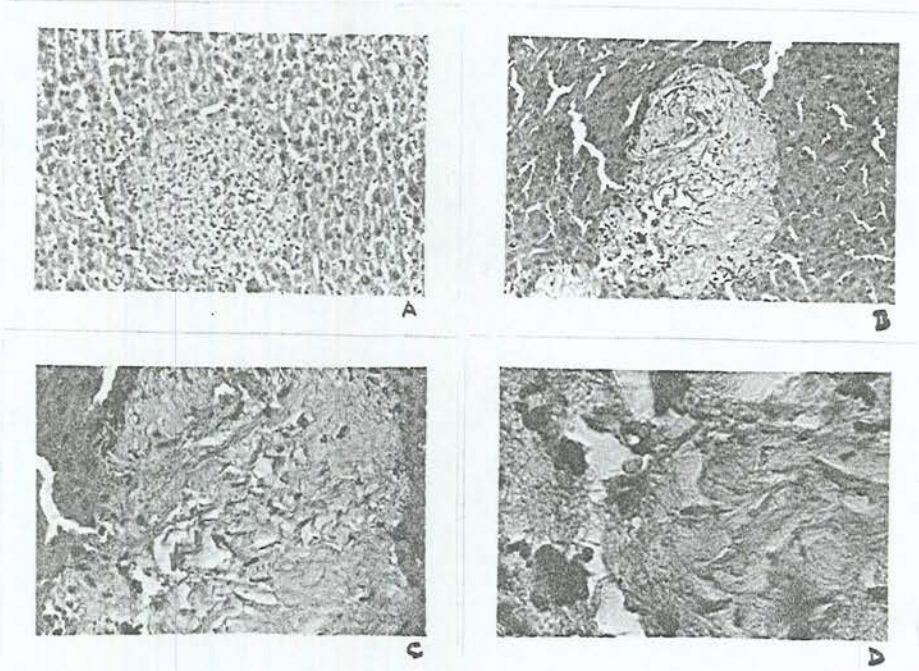


E



F

Şekil 4.4. Karaciğere ait kesitlerin histolojik görünüşleri (Hematoksilen & eosin).
A. Yaprak ekstrelili-balılı su uygulanan 5. grup (x 20). B. Balılı su uygulanan 6. grup (x20). C. Yaprak ekstrelili-balılı su uygulanan 5. grup (x 20). D. Balılı su uygulanan 6. grup (x 40). E. Yaprak ekstrelili-balılı su uygulanan 5. grup detaylı (x 100). F. Balılı su uygulanan 6. grup detaylı (x 100).



Şekil 4.5. Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grubun karaciğerlerine ait kesitlerinde görülen lezyonlar (Hematoxilen & eosin). A. Yama şeklinde sınırları belirgin iltihabi nekroze bölge; granuloma (x20). B. Düzensiz hyalin görünümünde sınırları belirgin iltihabi nekroze bölge; granuloma (x20). C. Düzensiz hyalin görünümü (x40). D. Düzensiz hyalin görünümü detaylı (x100).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Deneyisel çalışmamızın kapsamında, halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan *Urtica dioica* (ısırgan otu)'nın farklı kısımlarından hazırlanan ekstrelerin, kanserleştirilme sürecindeki bir aşamasında olan karaciğer üzerine etkileri incelenmiş, bulgular literatür verileriyle karşılaştırılmaya çalışılmıştır.

Deney hayvanları üzerinde yaptığımız gözlemler, serum fizyolojik ve zeytinyağının, uygulandıkları deney hayvanlarının davranışları üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığını göstermektedir. Bulgular kısmında belirttiğimiz, benzen-kloroform karışımı uygulanan deney hayvanlarının vücutlarında ve davranışlarında meydana gelen anormalliklerin, benzen-kloroformun toksik etkilerinin ve kloroformun MSS üzerindeki etkilerinin sonuçları olduğunu ortaya koymaktadır (Güley ve ark. 1976 ve Vural 1984). Meyve ekstreli ballı su uygulanan grupta bu anormallikler gerilemiştir. Bu bulgumuz, ısırganın, ilaçların meydana getirdiği sarsıntıyı ve vücut ısısını düşürücü etkisiyle ilgili görülmüştür (Boon 1999 ve Newall 1996).

Gözlemlerimiz sonucunda, benzen-kloroform karışımını intraperitoneal olarak uyguladığımız 3. deney grubuna ait deney hayvanlarından alınan karaciğerlerin üzerlerinde kılcal damarlarda zenginleşme ve farklı şekillere sahip çok sayıda beyaz renkli anormal kabartılar görülmüştür. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, intraperitoneal olarak kekik yağı uygulanmış ve karaciğerlerin üzerinde benzer oluşumlara rastlanmıştır (Çalışkan 2000).

Histopatolojik ve biyokimyasal analiz bulgularına göre, benzen-kloroform karışımı uyguladığımız 3. deney grubunda karaciğer dokusunda belirgin bir zedelenme olduğu saptanmıştır. Bu zedelenmeyle birlikte meydana gelen iltihabi oluşumlar da dikkat çekmektedir. Bilimsel çalışmalar, iltihabi reaksiyonlarda benzer şekilde apselerin oluşabileceğini göstermektedir (Sherlock 1975). Sonuçta bu bulgular bize, karaciğer dokusu üzerinde gözlemlediğimiz beyaz renkli anormal kabartıların, zedelenme sonucu ortaya çıkan değişimlerin bir sonucu olduğunu düşündürmektedir.

Ağırlık değişimi bulgularını incelediğimizde, zeytinyağı ve benzen-kloroform uygulanan deney gruplarında, karaciğer ağırlıklarında artış olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1.1). Benzen-kloroform karışımı uygulanan deney grubunda, zeytinyağı uygulanan deney grubundan daha fazla artış olduğu belirlenmiştir. Benzen-kloroform karışımı uygulanan deney grubundaki fazla artışın nedeni, DNA hasarına, protein sentezindeki artışa bağlı olarak enzim aktivitelerindeki değişimlerle açıklanabilir. Bizim çalışmamızla paralel olarak, kloroformla benzer özelliklere sahip bir kanserojen olan karbon tetra klorürün karaciğer ağırlığında artışa sebep olduğunu gösterilmiştir (Packer 1999).

Meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda, kontrol grubuna göre düşüş ve yaprak ekstreli ballı su uygulanan 5. deney grubunda da artış görülmüştür fakat bu değişimler istatistiksel olarak önemli olarak kabul edilmemiştir ($P>0.05$).

1. aşamada serumun biyokimyasal analizlerini incelediğimizde, zeytinyağı uygulanan 2. deney grubunda ve benzen-kloroform karışımı uygulanan deney gruplarında ALP değerlerinde artışlar belirlenmiştir. Benzen-kloroform karışımı uygulanan gruptaki artışın yüksek bulunması, safra kanallarındaki tıkanmalara bağlı olarak ortaya çıkabilirdi fakat serum bilirubin değerlerinde yükselme görülmediğinden safra yollarında tıkanma olduğunu kabul edememekteyiz (Özata ve ark. 2000, Akkuş 1997 ve Sherlock 1975).

Serum alkalin fosfataz değerlerinin, normalin üç katından fazla olması eğer bir kemik hastalığı yoksa safra tıkanıklığını düşündürmektedir fakat tıkanıklığın olmadığı sirozlarda da yüksek değerler görülmektedir (Sherlock 1975). Kansere oluşumunda ise ALP değerinin, kontrole göre daha yüksek olduğu fakat bu artışın önemsiz olduğu bildirilmiştir (Güler ve ark. 1989). Bulguları bu açıdan değerlendirdiğimizde, benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. deney grubunda ALP değeri, serum fizyolojik uygulanan 1. grubun ALP değerinin üç katına yaklaşmıştır. Serum bilirubin değerleri de yükselmediğinden safra tıkanıklığını meydana gelmemiştir. Sonuçta ALP değerleri bakımından kemik hastalığı ya da karaciğerde siroza doğru bir gidişi düşündürmüştür. Histopatolojik incelemelerimiz sonucunda, 3. deney grubunda portal alanlardan başlayarak geniş

alanlara yayılan fibroz doku bulguları da siroza doğru bir gidiş olduğu görüşümüzü desteklemektedir (Şekil 4.3-B).

SGOT değerlerindeki değişimleri incelediğimizde, zeytinyağı ve benzen-kloroform karışımı uygulanan gruplarda, serum fizyolojik uygulanan gruba göre artışların olduğu belirlenmiştir. Zeytinyağı uygulanan grupta daha fazla artış görülmektedir ve bu da hepatositlerde daha ağır bir hasarın olduğunu göstermelidir (Taner 1975), fakat histopatholojik bulgular bu sonucu desteklememektedir. Benzen-kloroform uygulanan grupta ise çok sayıda nekroz bölgeleri tespit edilmiştir (Resim 4.3-C, 4.5-A, 4.5-B). Bu bakımdan 3. deney grubunda ağır hasardan sözedilebilir. Ayrıca çalışmamızda uygulandığı gibi kloroformun sıvı yağlar içerisinde verilemesinin, hepatokanserojen aktiviteyi artıracağı bildirilmiştir (Pereira ve ark. 1985, Jorgenson ve ark. 1985 ve Deml ve ark. 1985).

SGPT değerlerindeki değişimleri incelediğimizde, 3. deney grubunda SGPT değerindeki artış bize, karaciğerde ciddi bir lezyon oluşumunu, iltihabi bir rahatsızlığın varlığını düşündürmektedir. Histopatolojik incelemelerde belirlediğimiz ve bulgular kısmında bahsettiğimiz lezyonlar da bu görüşümüzü doğrulamaktadır (Şekil 4.5-A, 4.5-B). Bu veriler, kloroform inhalasyonunda karaciğer fonksiyonlarındaki değişimlerle benzerlik göstermektedir (Hutchens 1985). Çalışmamıza paralel olarak, sıçanlara 1000 gr/kg. dozda aflatoksinin intraperitoneal olarak verilmesi SGOT ve SGPT değerlerinde artışa neden olmuştur (Güneş ve ark. 1991). Kloroforma çok yakın özellikleri olan karbon tetra klorürün, akciğer dokusunda benzer etkiler meydana getirdiği belirlenmiştir (Koptagel 1988).

SGOT değeri, SGPT' ye yakın veya daha yüksek ise ağır nekrotizan hepatite işaret etmektedir, dolayısıyla mitokondriler de hasara uğramıştır (Taner 1975 ve Akkuş 1997). Bu bakımdan, benzen-kloroform uygulanan 3. deney grubunda, SGOT değeri, SGPT değerinin iki katına yaklaşmıştır ve ağır nekrotizan hepatit olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bulgular kısmında da belirttiğimiz gibi, 3. deney grubunda görülen mononükleer hücre infiltrasyonu bulgusu da bu düşüncemizi doğrular niteliktedir.

2. aşamada serumun biyokimyasal analizlerini incelediğimizde, ALP, SGOT ve SGPT değerlerinde belirgin farklılıkların meydana geldiği saptanmıştır. Bu aşamada, meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda ALP değeri, kontrol grubuna göre önemli ($P<0.001$) bir düşüş göstermiştir (Çizelge 4.2.2). SGOT değeri, kontrol grubuna göre önemli ($P<0.001$) bir artış göstermiştir (Çizelge 4.2.2). SGPT değeri ise, kontrol grubuna göre önemli ($P<0.001$) bir düşüş göstermiştir (Çizelge 4.2.2). Bu durumda ALP ve SGPT değerlerindeki düşüş, kanserleştirme sürecinde meydana gelmiş olan ağır hasarlı ve iltihabi rahatsızlığın belirgin bir düzeyde gerilediğini düşündürmektedir. Bu düşüncemize ters gelen bulgu ise SGOT değerindeki artış olmuştur. SGOT değerindeki artış bize, karaciğer dışında diğer organlarda meydana gelebilecek hasarları hatırlatmıştır. Çünkü GOT karaciğer dışında, kalp, böbrek ve iskelet kasında da bulunduğundan (Sherlock 1975 ve Özata ve ark. 2000), bu organlarda meydana gelebilecek hasarlarda serumda seviyesi artmaktadır. Bu anlamda karaciğer rahatsızlıklarında daha spesifik bir gösterge olan (Sherlock 1975 ve Özata ve ark. 2000) ve özellikle ratlarda çok spesifik olan SGPT değerinin (Sharp ve ark. 1998), kontrol grubuna göre belirgin düşüşü (Çizelge 4.2.2), normal değere yaklaşması hastalığın gerilediğini göstermektedir (Çizelge 4.2.1). *Arnebia densiflora* kök ekstresinin hepatotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ekstrenin ratlara 5 mg/kg dozunda uygulandığında SGOT değerinin arttırdığı bildirilmiştir (Aktan 1994). *Artemisia iwayomogi* sulu ekstresinin, karaciğer fibrozu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada ise 2 gr/kg dozunda ALP, SGPT değerlerindeki değişimler çalışmamızla uyum göstermiştir (Park ve ark. 2000).

Serum bulgularını histopatolojik bulgularla karşılaştırdığımızda, meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. grupta, kontrol grubunda gördüğümüz nekrozların, mononükleer hücre topluluklarının, geniş fibroz dokuların ve lezyonların ortadan kalması, rahatsızlığın belirgin bir düzeyde gerilediği görüşümüzü desteklemektedir (Şekil 4.3-B).

Histolojik ve sitolojik incelemelerimiz sonucunda, zeytinyağı uygulanan 2. grupta görülen portal ven hiperemisi, çeper endotelinin kalınlaşması, sinüzoidlerde hiperemi ve şekil bozuklukları bulguları, kan akışındaki bir

bozukluğu düşündürmektedir. Zeytinyağı'nın intraperitoneal enjeksiyonuyla kan damarları içerisinde yoğunlaşması, peritona yakın organlarda birisi olan karaciğerde, kan akımında azalmaya, kan basıncında düşmeye ve sonuçta karaciğer hücrelerinin fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir (Şekil 4.2-B). SGOT ve SGPT değerlerindeki yükselmeler de bu görüşümüzü desteklemektedir (Çizelge 4.2.1).

Bulgular kısmında sözettiğimiz, benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. grupta hepatik venlerde meydana gelen bozulmaları benzenin sıvı ve katı yağları çözücü özelliğine bağlı olarak açıklayabiliriz. Bu anlamda, benzenle direkt etkileşim içerisinde olan endotel hücrelerinin çeperlerinin parçalanmasını düşündürmüştür. Ayrıca benzen, alkol ve benzeri gazların kloroformun toksik etkisini artırdığı da bildirilmiştir (Hutchens 1985).

Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. deney grubunda, geniş fibroz dokunun görülmesi portal alan ve periferindeki hücrelerde meydana gelen ağır hasarı göstermektedir. Karaciğerin kaybettiği dokusunu yenilemek için rejenerasyonu artırması gerekmektedir. Sıçanda karaciğerin, deneysel yolla çıkarılmış parçasının %75' ini yenilediği belirlenmiştir (Murathanoğlu 1996 ve Junqueira ve ark. 1992). Sonuçta, bağ dokusunun bu amaçla hasarlı bölgeyi kapladığını düşünmek doğru olacaktır. Fibroz doku çevresinde hepatosit yığınlarının oluşumu da mitotik aktivitenin yüksek olmasıyla açıklanabilir. Fibroz doku etrafındaki çok sayıda rejenere hücrelerin, nekroze hücrelerin, mononükleer lenfositler hücrelerin görülmesi, sinüzoidlerde kanlanmanın, hepatositlerde yaygın hidropik dejenerasyonun ve karaciğer parankiminde çeşitli lezyonların görülmesi, serumun biyokimyasal analiz sonuçları ile uyum göstermektedir. İçme suyuna katılan kloroformun sıçanlara verildiği bir çalışmada, bizim çalışmamızla uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (Tumasonis ve ark. 1985). Bizim çalışmamızda histopatolojik değişimler portal alanlarda görülürken, kloroform inhalasyonunda sentrilobular alanlarda görülmektedir (Hutchens 1985).

Benzen-kloroform karışımı uygulanan 3. deney grubunda safra kanallarının artışı, bu bölgede meydana gelen harabiyet sonucu bozulan safra kanallarını görevini üstlenebilecek yeni dalların oluşturulmasıyla meydana

gelebilir. Portal bölgede fibrozun görüldüğü rahatsızlıklarda proliferatif safra kanalları bulgusu bildirilmiştir (Sherlock 1975).

Portal alan kenarında görülen nekroz bölgeleri ve çeşitli lezyonların oluşumu, karaciğer lobülüne gelen kanın ilk olarak lobülün periferindeki hücrelerle karşılaşması ve hepatotoksik etkinin bu hücrelerde daha fazla görülmesiyle açıklanabilir (Şekil 4.3-C).

Hepatositlerde görülen yaygın hidropik dejenerasyonda, benzen-kloroform karışımının hücre membran aktivitesini değiştirerek vakuol oluşumuna yol açtığını göstermektedir (Banlı 1997). Sinuzoidlerin sınırlarındaki belirsizleşme ve lümende daralma benzenin yağ çözücü özelliğine bağlı olarak çeperlerin bozulması ve buna bağlı şekil bozukluklarından kaynaklandığını düşündürmektedir. Ayrıca bu etkinin çok düşük bir oranda çekirdek zarı geçirgenliğinde de etkili olabileceği, bunun yanı sıra hücre içerisinde protein sentezi ve buna bağlı enzim aktivitelerindeki değişimlerin çekirdek boyutunda bir küçülme meydana getirebileceği düşünülebilir. Granüler yapının belirginleşmesinde ise, glikojen depolanmasında bir artışa bağlı olarak yada benzen-kloroform karışımının meydana getirdiği bir fonksiyon bozukluğu sonucunda glükoneojenezin devreye girdiği (Taner 1975, İmren 1977 ve Karol ve ark. 1995) sonucuna ulaşabiliriz. Bu bakımdan glükoz olmayan moleküllerin dönüştürülerek granüler yapıyı artırdığını düşünebiliriz (Şekil 4.3-E). Çalışmamızla uyumlu olarak kloroformun, belirli dozlarda karaciğerde glikojen depolama kapasitesini artırabileceği bildirilmiştir (Deml 1985).

Yapılan histolojik çalışmalar sonucu meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda karaciğer dokusuna ait fotoğraflar, normal histolojik yapıda olduğu kabul edilen diğer fotoğraflarla benzerlik göstermiştir (Wheather ve ark. 1985, Tekelioğlu 1994 ve Erben 1994).

Meyve ekstreli ballı su uygulanan 4. deney grubunda geniş fibroz doku kaybolmuş, portal alan normal görünümüne dönmüştür. Portal ven, safra kanalı ve hepatik arter görülmektedir. Fibroz dokunun çekildiği bölgede hepatositler daha sıkı kordonlar oluşturmuşlardır, dar ve birbirleriyle bağlantılı sinüzoid toplulukları oluşmuştur. Portal alan periferindeki lezyonların görülmemesi de rejenerasyonla

bu bölgelerin yenilendiği düşündürmektedir. Bu bakımdan, portal alanda hasarlı bölgenin düzeltilildiğini, mononükleer hücrelerin kaybolması ile de iltihabi rahatsızlığın giderildiğini düşünmek doğru olacaktır (Şekil 4.3-B, 4.3-D). Serumun biyokimyasal analiz değerleri de görüşümüzü desteklemektedir (Çizelge 4.2.2).

4. deney grubunda, hepatositlerde hidropik dejenerasyonun kaybolması, Na^+ , K^+ -ATPaz membran aktivitesini artırarak, kontrol grubunda bozulmuş olan aktif transportu normale çevirdiğini düşünmek doğru olacaktır. Buna göre ısırgan, prostat hücrelerindeki etkisine (Hirano ve ark. 1994) ters yönde etki yapmıştır denilebilir. Aynı zamanda bu değişim sinüzodlerdeki şekil düzelmesi ve belirginleşmeyi de açıklamaktadır.

Yapmış olduğumuz incelemeler, 4. deney grubunda hepatositlerdeki granüler yapının belirginliğinin azalması, ısırgan otunun hiperglisemik etkisinden kaynaklandığını düşündürmektedir (Neefti ve ark. 1995). Bu sayede, granüler yapıyı oluşturan depo halindeki glikojen glükoza çevrilerek kana veriminde ve hepatositlerde granüller azalmaktadır. Çekirdeklerdeki büyüme ve belirginleşme ise karaciğer hücre fonksiyonlarındaki normale dönüş sonucu protein sentezi ve enzim aktivitesindeki artışla birlikte çekirdeğin normal görünümüne dönmesi şeklinde açıklanabilir.

Bulgular kısmında ayrıntılı olarak belirttiğimiz gibi, yaprak ekstreli ballı su uygulanan 5. grupta portal triatın görülmesi, fibroz dokunun daralması, lezyonların kaybolması bulguları rahatsızlığın gerilediğini düşündürmektedir. Bu gerileme meyve ekstreli ballı su uygulanan gruptaki kadar olmamıştır. Hidropik dejenerasyon devam ederken sinüzoidal kanlanmada artma görülmüştür. Serum biyokimyasal analizinde, ALP ve SGPT değerlerindeki düşüşün önemli ama özellikle SGPT' nin $P<0.01$ düzeyinde önemli olması da hastalığın seyrinde 4. deney grubuna göre daha az bir düzelme olduğunu aklımıza getirmektedir.

5. deney grubunda histopatolojik olarak belirlediğimiz portal alandaki yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu ve SGPT değerindeki düşüşün az olması iltihabi durumun ortadan kalkmadığını gösterebilir. Mononükleer lenfositler hücrelerdeki bu artış, ısırgan otunda bulunan lenfosit mitojeni olan maddelerle

ilgili olan çalışmalarla uyum göstermiştir (Shibuya ve ark. 1986, Le Moal ve ark. 1988, Galelli ve ark. 1993 ve Le Moal ve ark. 1992).

Ballı su uygulanan 6. deney grubunda, histolojik bulgular kısmında ayrıntılı olarak anlattığımız fibrozda gerileme, iltihabi hücrelerin varlığı gibi bulgular bir çok yönüyle yaprak ekstreli ballı su uygulanan 5. grupla benzer özellikler gösterdiğini düşündürmektedir. Fakat yaygın hidropik dejenerasyon, hcrele çeperlerinde parçalanma, hücre içeriklerinin lmenlere dağılması ve benzeri sitolojik bulgular gerilemenin 5. grupla aynı düzeyde olmadığı görüşünü ortaya koymaktadır. Serum biyokimyasal analiz değerleri de benzer değişimler göstermişlerdir.

DeneySEL alışmamızda elde ettiğimiz bütün bu verilere dayanarak, karaciğerde kanserleştirme srencinde ortaya çıkmış olan ağır hasarlı iltihabi rahatsızlıkların gerilemesi açısından en olumlu etkinin meyve ekstreli balı su uygulanan 4. deney grubunda görüldüğü sonucuna ulaşabiliriz. Daha düşük düzeylerde olumlu etkiler ise yaprak ekstreli ballı su ve sadece ballı su uygulanan gruplarda grlmştir.

Bu araştırma kapsamında, ısırgan otu meyve ekstresinin karaciğer rahatsızlıklarında olumlu etkileri görülürken, kalp, böbrek ve iskelet kası gibi hayati organlarda çeşitli rahatsızlıklara neden olabileceği görüşünü savunuyoruz. Sıçanlarda yapılan bilimsel çalışmalar da ısırgan otunun toksik etkileri, özellikle kalp ve böbrek fonksiyonlarına etkileriyle ilgili çalışmalar tezimizi doğrulamaktadır (Tahri ve ark. 2000 ve Koch 2001).

Bilimsel çalışmalarda ısırgan otunun besleyici özelliklerinden de bahsedilmektedir (Hughes ve ark. 1980 ve Rosnitschek-schimmel 1985) ve bu tip besinlerin içerisinde bir çok antikanserojen madde bulunduğu bildirilmiştir (Ames 1983). ısırgan otunun içerisinde hangi antikanserojen maddelerin bulunduğu ve kanserlere karşı nasıl bir koruma yapabileceği merak konusudur.

Sonuç olarak ısırgan otunun meyve kısmında, karaciğer rahatsızlıklarında hücre metabolizmasında olumlu etkileri olabilecek bazı maddelerin olabileceği düşünülmektedir. Bu bakımdan, ısırgan meyvesindeki aktif maddelerin

saflaştırılmasına yön verilmesi ve moleküler yapılarının da aydınlatılması gerektiği düşüncesini savunuyoruz.

Araştırmamızdan çıkardığımız genel sonuca göre, ısırgan otunun bilinçsizce tüketimin insan sağlığına olumsuz etkilerinin olabileceğini düşünüyoruz dolayısıyla halkımızın bu konuda bilinçlendirilmesini öneriyoruz. Ayrıca ısırgan otu üzerinde yapılan bilimsel çalışmaların yetersiz düzeyde görüyoruz ve ısırgan otu ile yapılacak bilimsel çalışmalara hız verilmesinin ciddi katkılar sağlayacağını umuyoruz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

AKBAY, P., *Urtica dioica* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara (1996)

AKCASU, A., KAVALALI, G. ve EYÜBOĞLU, H., *Urtica dioica* L. Bitkisinin Antikoagülan Etkisi, IV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı (1982)

AKKUŞ, İ., *Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı*, Öz Eğitim Yayınları: 28, İstanbul (1997)

AKSOY, C., YÜCECAN, S., ÇİFTÇİ, N., TAYFUR, M., AKGÜN, B. ve TAŞCI, N., *Kanser Hastalığında Tedavi Amacıyla Kullanılan Yöresel Bitkiler*, Beslenme ve Diyet Dergisi, 17, 111-120 (1988)

AKTAN, Y., *Arnebia densiflora* (Normd.) Ledeb. Kök Ekstresinin Antiinflatuvar, Analjezik, Yara İyileştirici ve Karaciğer Üzerine Etkileri, Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir (1994)

AMES, B. N., *Dietary Carcinogens and Anticarcinogens*, Science, 221, 1256-1264 (1983)

ASHLEY, D. J. B., *Evans' Histological Appearances of Tumours*, Fourth Edition, Churchill Livingstone, Edinburg, London, Melbourne, New York, 681 (1990)

ASLAN, M., *Şeker Hastalığına Karşı Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar*, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara (2000)

ATAL, C. K. ve KAPUR, B. M., *Cultivation and Utilization of Medicinal Plants*, Regional Research Laboratory, Jammu-Tawi (India) (1982)

BADISA, R. B., CHAUDHURI, S. K., PILARINOU, E., RUTKOSKI, N. J., HARE, J. ve LEVENSON, C. W., *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and colon carcinoma cell lines, Cancer Letters, 149, 61-68 (2000)

BALZARINI, J., NEYTS, J., SCHOLS, D., HOSOYA, M., VAN DAMME, E., PEUMANS, W. ve DE CLERCQ, E., *The mannose-specific plant lectins from Cymbidium hybrid and Epipactis helleborine and the (N-acetylglucosamine)_n-specific plant lectin from Urtica dioica are potent and*

selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro, Antiviral Research, 18, 191-207 (1992)

BANCROFT, J. D. ve STEVENS, A., *Theory and Practice of Histological Techniques*, 3rd Edition, Churchill Livingstone, London, 33 (1990)

BANLI, O., *Patoloji Ders Notları*, Metay-Medikal Yayıncılık, Ankara (1997)

BARCELO, S., GARDINER, J. M., GESCHER, A. ve CHIPMAN, J. K., *CYP2E1-mediated mechanism of anti-genotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane*, Carcinogenesis, 17(2), 277-282 (1996)

BARTRAM, T., *Encyclopedia of Herbal Medicine*, First Edition, Grace Publishers Mulberry Court, Stour Road, Christchurch Dorset BH23 1 PS, 309, 310 (1995)

BAŞER, K. H. C., HONDA, G. ve MIKI, W., *Herb Drugs and Herbalists in Turkey*, Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Afrika, Tokyo, 48, 69, 94 (1986)

BAYTOP, A., *Farmasötik Botanik Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Bölümü, İstanbul, 222 (1996)

BAYTOP, T., *Türkiye' de Bitkilerle Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, İstanbul (1984)

BEER, J., HEER, G. ve SCHULP, P., *'Chloroform-Sniffing': eine neue Variante im Spektrum der Polytoxikomanie*, Schweiz. med. Wschr., 114, 1538-1539 (1984)

BIOULAC-SAGE, P. ve BALABAUD, C., *Sinusoids in human liver: health and disease*, Kupffer Cell Foundation, Bordeaux Cedex, France, 92 (1988)

BİROL, E., *Anatomi Atlası*, Birol Basın Yayın Dağıtım ve Ticaret A.Ş., İstanbul, 32 (1995)

BRENNAN, R. J. ve SCHIESTL, R. H., *Chloroform and carbon tetrachloride induce intrachromosomal recombination and oxidative free radicals in Saccharomyces cerevisiae*, Mutation Research, 397, 271-278 (1998)

BRUNETON, J., *Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants*, 2nd Edition, 756-758 (1999)

BOON, H. ve SMITH, M., *The Botanical Pharmacy*, The Pharmacology of 47 Common Herbs, The Institute of Naturopathic Education and Research (1999)

BRITISH HERBAL MEDICINE ASSOCIATION, *British Herbal Pharmacopoeia*, 4th Edition, 143-145 (1996)

BRODFUEHRER, J. I., CHAPMAN D. E., WILKE T. J. ve POWIS G., *Comparative Studies of the In Vitro Metabolism and Covalent Binding of ¹⁴C-Benzene by Liver Slices and Microsomal Fraction of Mouse, Rat and Human, Drug Metabolism and Disposition*, 18(1), 20-27 (1990)

BUCKLE, J., *Clinical Aromatherapy in Nursing*, Arnold: A Member of the Hodder Headline Group, London, 83-84 (1997)

BUDHIRAJA, R. D., GARG, K. N., SUDHIR, S. ve ARORA, B., *Protective Effect of 3-β-Hydroxy-2,3-dihydrowithanolide F against CCl₄-induced Hepatotoxicity*, *Planta Med*, 52, 28-29 (1986)

BUDZIANOWSKI, J., *Caffeic Acid Esters from Urtica dioica and U. urens*, *Planta Med.*, 57, 507 (1991)

BWMENTHAL, GOLDBERG ve BRINCKMANN, *Herbal Medicine*, Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council (2000)

CARCINOGENICITY, internet, <http://www.ccohs.ca/products/databases/samples/cesars.txt>

CASSIDY M. K. ve HOUSTAN J. B., *In vivo Capacity of Hepatic and Extrahepatic Enzymes to Conjugate Phenol*, *Drug Metabolism and Disposition*, 12(5), 619-624 (1984)

CAWTHORNE M. A., PALMER E. D., BUNYAN J. ve GREEN J., *In vivo effects of carbon tetrachloride and chloroform on liver and kidney glucose-6-phosphatase in mice*, 20(2), 494-496 (1971)

CERİTOĞLU, İ., *Türkiye' de Halk İlacı Olarak Kullanılan Antikanser ve İmmünostimülan Etkili Bitkisel Droglar Üzerinde Çalışmalar*, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara (1995)

CHANEY A. M. ve CARLSON G. P., *Comparison of rat hepatic and pulmonary microsomal metabolism of benzene and the lack of benzene-induced pneumotoxicity and hepatotoxicity*, *Toxicology*, 104, 53-62 (1995)

CHAURASIA, N. ve WICHTL, M., *Flavonolglykoside aus Urtica dioica: Flavonol Glycosides from Urtica dioica*, *Planta Medica*, 432-434 (1987)

CONSTAN, A. A., YANG, R. S., BAKER, D. C. ve BENJAMIN, S. A., *A unique pattern of hepatocyte proliferation in F344 rats following long-term exposures to low levels of a chemical mixture of groundwater contaminants*, *Carcinogenesis*, 16(2), 303-310 (1995)

- CRAUN, G. F., *Epidemiologic Studies of Organic Micropollutants in Drinking Water*, The Science of the Total Environment, **47**, 461-472 (1985)
- CZARNETZKI, B. M., THIELE, T. ve ROSENBACH, T., *Immunoreactive Leukotrienes in Nettle Plants*, Int Arch Allergy Appl Immunol, **91**, 43-46 (1990)
- DAI, J.-Q., LIU, Z.-L. ve YANG, L., *Non-glycosidic iridoids from Cymbaria mongolica*, Phytochemistry, **59**, 537-542 (2002)
- DAVIS, P. H., *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, Volume 7, Edinburg, 633-637 (1982)
- DE LIMA, P. L. A., DELMANTO, R., D., SUGUI, M. M., DA EIRA, A. F., SALVADORI, D. M. F., SPEIT, G. ve RIBEIRO, L. R., *Letinula edodes (Berk.) Pegler (Shiitake) modulates genotoxic and mutagenic effects induced by alkylating agents in vivo*, Mutation Research, **496**, 23-32 (2001)
- DEML, E. ve OESTERLE, D., *Dose-dependent Promoting Activity of Chloroform in Rat Liver Foci Bioassay*, Cancer Letters, **29**, 59-63 (1985)
- DUKE, J. A., *CRC Handbook of Medicinal Herbs*, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 501-503 (1985)
- ERBENGİ, T., *Histoloji, Güneş Kitabevi Yayınları*, Ankara, 98-111 (1990)
- ERBENGİ, T., *Histoloji Atlası Özet Histoloji*, Beta Basım, 160-163 (1994)
- GALELLI, A. ve TRUFFA-BACHI, P., *Urtica dioica Agglutinin, A Superantigenic Lectin from Stinging Nettle Rhizome*, The Journal of Immunology, **151**, 1821-1831 (1993)
- GALLUS, S., TAVANI, A., NEGRI, E. ve LA VECCHIA, C., *Does Coffee Protect Against Liver Cirrhosis?*, Ann Epidemiol, **12**, 202-205 (2002)
- GANONG, W. F., *Tıbbi Fizyoloji*, Onyedinci Baskı, Barış Kitabevi, Ankara, s. 345-436 (1996)
- GOLD, L.S., SLONE, T.H., STERN, B.R. ve BERNSTEIN, L., *Comparison of target organs of carcinogenicity for mutagenic and non-mutagenic chemicals*, Mutation Research, **286**(1), 75-100 (1993)
- GOLDEN, R. J., HOLM S. E., ROBINSON D.E., JULKUNEN P. H. ve REESEL E. A., *Chloroform Mode of Action: Implications for Cancer Risk Assessment*, **26**(2), 142-155 (1997)

GRAF, U., MORAGA, A., CASTRO, R. ve CARRILLO, E. D., *Genotoxicity Testing of Different Types of Beverages in The Drosophila Wing Somatic Mutation and Recombination Test*, *Fd. Chem. Toxic.*, **32**(5), 423-430 (1994)

GRAHAM, J. G., QUINN, M. L., FABRICANT D.S. ve FARNSWORTH, N.R., *Plants used against cancer – an extension of the work of Jonathan Hartwell*, *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 347 – 377 (2000)

GRIMSTONE, A. V. ve SKAER, R. J., *A Guidebook to Microscopical Methods*, Cambridge at the University Press, 21 (1972)

GUYTON, A. C., *Textbook of Medical Physiology*, 7. Edition , Merk Yayıncılık / Saunders, 53,54 (1986)

GÜLER, M. ve ÖNDER, E., *Sindirim Sistemi Kanserlilerinde Serum Askorbik Asit, Kalsiyum, Total Kolesterol ve Alkalen Fosfataz Aktivite Seviyeleri*, *Anadolu Tıp Dergisi*, **11**(2), 117-124 (1989)

GÜLEY, M. ve VURAL, N., *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları : 38, Ankara, 200,201 (1976)

GÜNEŞ, H. V., BAŞARAN, A., ÇAKMAK, E. A., DEĞİRMENCİ, İ., BAŞARAN, N., KAYGISIZ, Z. ve ÖZDAMAR, K., *Aflatoksin B1' in Siçanlarda Bazı Enzim Düzeylerine Etkisi*, *Anadolu Tıp Dergisi*, **13**(1), 1-9 (1991)

HAMAT, H., *Isırgan (Urtica dioica L.) ve Arpa (Hordeum vulgare L.) Bitkilerinden Elde Edilen Ekstrelerin Bitkisel Tümörler Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul (1999)

HIKINO, H., KISO, Y., KINOUCI, J., SANADA, S. ve SHOJI, J., *Antihepatotoxic Actions of Ginsenosides from Panax ginseng Roots*, *Planta Med*, **51**, 62-64 (1985)

HIRANO, T., HOMMA, M. ve OKA, K., *Effects of Stinging Nettle Root Extracts and Their Steroidal Components on the Na⁺, K⁺-ATPase of the Benign Prostatic Hyperplasia*, *Planta Med.*, **60**, 31-33 (1994)

HRYB, D. J., KHAN, M. S., ROMAS, N. A. ve ROSNER, W., *The Effect of Extracts of the Roots of the Stinging Nettle (Urtica dioica) on the Interaction of SHBG with its Receptor on Human Prostatic Membranes*, *Planta Med.*, **61**, 31-32 (1995)

HUESING, J. E., MURDOCK, L. L. ve SHADE, R. E., *Rice and Stinging Nettle Lectins: Insecticidal Activity Similar to Wheat Germ Agglutinin*, *Phytochemistry*, **30**(11), 3565-3568 (1991)

HUGHES, R. E., ELLERY, P., HARRY, T., JENKINS, V. ve JONES, E., *The Dietary Potential of Common Nettle*, *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 1279-1286 (1980)

HUTCHENS, K. S. ve KÜNG M., '*Experimentation*' with Chloroform, *The American Journal of Medicine*, **78**, 715-718 (1985)

IVANOV, I. I., LANCEV, I. I. ve NEŞEV, G. K., *Şifalı Bitkilerle Tedavi*, Pamuk Yayıncılık, İstanbul, 12, 13, 142 (1999)

İMREN, H., *Fizyopatoloji Ia: Metabolizma Karbonhidrat ve Yağ*, İ.Ü. Tıp Fakültesi Fizyopatoloji Kürsüsü, İstanbul, 7, 17, 43, 46, 64 (1977)

JORGENSEN, T. A., MEIERHENRY, E. F., RUSHBROOK, C. J., BULL, R. J. ve ROBINSON, M., *Carcinogenicity of Chloroform in Drinking Water to Male Osborne-Mendel Rats and Female B6C3F1 Mice*, *Fundamental and Applied Toxicology*, **5**, 760-769 (1985)

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. ve KELLEY, R. O., *Basic Histology*, Seventh Edition, Barış Kitabevi / Appleton & Lange, 380-396 (1992)

KARAKAYA, S. ve KAVAS, A., *Antimutagenic activities of some foods*, *J Sci Agric* **79**, 237-242 (1999)

KAROL, S., AYVALI, C. ve SULUDERE, Z., *Hücre Biyolojisi*, A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, G. Ü. Fen Edebiyat Fakültesi, Üçüncü Baskı, Ankara, 70 (1995)

KAYNE, S. B., *Homeopathic Pharmacy*, An Introduction and Handbook, Churchill Livingstone (1997)

KENNER, D. ve REQUENA, Y., *Botanical Medicine*, An European Professional Perspective, Pradigm Publications (2001)

KISO, Y., OGOSAWARA, S., HIROTA, K., WATANABE, N., OSHIMA, Y., KONNO, C. ve HIKINO, H., *Antihepatotoxic Principles of Artemisia capillaris Buds*, *Planta Med*, **50**, 81-85 (1984)

KISO, Y., SUZUKI, Y., WATANABE, N., OSHIMA, Y. ve HIKINO, H., *Antihepatotoxic Principles of Curcuma longa Rhizomes*, *Planta Med*, **49**, 185-187 (1983 a)

KISO, Y., TOHKIN, M. ve HIKINO, H., *Mechanism of Antihepatotoxic Activity of Atractylon, I: Effect on Free Radical Generation and Lipid Peroxidation*, *Planta Med*, **51**, 97-100 (1985)

KISO, Y., TOHKIN, M. ve HIKINO, H., *Assay Method for Antihepatotoxic Activity Using Carbon Tetrachloride Induced Cytotoxicity in Primary Cultured Hepatocytes*, *Planta Med*, **49**, 222-225 (1983 b)

KISO, Y., TOHKIN, M., HIKINO, H., HATTORI, M., SAKAMATO, T. ve NAMBA, T., *Mechanism of Antihepatotoxic Activity of Glycyrrhizin, I: Effect Free Radical Generation and Lipid Peroxidation*, *Planta Med*, **50**, 298-302 (1984)

KOCH, E., *Extracts from Fruits of Saw Palmetto and Roots of Stinging Nettle : Viable Alternatives in the Medical Treatment of Bening Prostatic Hyperplasia and Associated Lower Urinary Tracts Symptoms*, *Planta Med*, **67**, 489-500 (2001)

KOPTAGEL, E., *Fümigantların Sıçan Akciğer Dokusunda Oluşturduğu Histolojik Farklılaşmalar*, T. C. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Sivas (1988)

LE MOAL, M. A., COLLE, J. -H., GALELLI, A. ve TRUFFA-BACHI, P., *Mouse T-lymphocyte activation by Urtica dioica agglutinin*, *Res. Immunol.*, **143**, 691-700 (1992)

LE MOAL, M. A. ve TRUFFA-BACHI, P., *Urtica dioica Agglutinin, a New Mitogen for Murine T Lymphocytes: Unaltered Interleukin-1 Production but Late Interleukin 2-Mediated Proliferation*, *Cellular Immunology*, **115**(1), 24-35 (1988)

LICHIOUS, J. J. ve MUTH, C., *The Inhibiting Effects of Urtica dioica Root Extracts on Experimentally Induced Prostatic Hyperplasia in the Mouse*, *Planta Med.*, **63**, 307-310 (1997)

LININGER, S. W., *The Natural Pharmacy*, 2nd Edition, Healthnotes Inc., 447 (1999)

LUTOMSKI, J. ve SPEICHERT, H., *Stinging Nettle in Medical Science and Nutrition*, *Pharmazie in unserer Zeit*, **12**(6), 181-186 (1983)

MILLER, E.C. ve MILLER, J.A., *Mechanisms of Chemical Carcinogenesis*, *Cancer*, **47**, 1055-1064 (1981)

MILLER, L. G. ve MURRAY, W. J., *Herbal Medicinals, A Clinician's Guide*, Pharmaceutical Products Press (1998)

MILLS, S. ve BONE, K., 2000, *Principles and Practice of Phytotherapy*, Modern Herbal Medicine, Curchill Livingstone, 117-119, 490-498 (2000)

MURATHANOĞLU, O., *Histoloji*, İ. Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, s. 217-225 (1996)

MUSETTE, P., GALELLI, A., TRUFFA-BACHI, P., PEUMANS, W., KOURILSKY, P. ve GACHELIN, G., *The J segment of the T cell receptor contributes to the V-specific T cell expansion caused by staphylococcal enterotoxin B and Urtica dioica superantigens*, Eur. J. Immunol., **26**, 618-622 (1996)

NAKAJIMA, T., OKINO T. ve SATO A., *Kinetic Studies on Benzene Metabolism in Rat Liver-Possible Presence of Three Forms of Benzene Metabolizing Enzymes in the Liver*, Biochemical Pharmacology, **36**(17), 2799-2804 (1987)

NEEF, H., DECLERCQ, P. ve LAEKEMAN, G., *Hypoglycaemic Activity of Selected European Plants*, Phytotherapy Research, **9**(1), 45-48 (1995)

NEWALL, C. A., ANDERSON, L. A. ve PHILIPSON, J. D., *Herbal Medicines, A Guide for Health-Care Professionals*, The Pharmaceutical Press, London (1996)

OBERTREIS, B., RUTTOWSKI, T., TEUCHET, T., BEHNKE, B. ve SCHMITZ, H., *Ex-vivo in-vitro Inhibition of Lipopolysaccharide Stimulated Tumor Necrosis Factor- α and Interleukin1 Secretion in Human Whole Blood by Extractum Urticae dioicae foliorum*, Arzneim. Forsch. Drug Res., **46**(4), 389-394 (1996)

OHMINAMI, H., KIMURA, Y., OKUDA, H., ARICHI, S., YOSHIKAWA, M. ve KITAGAWA, I., *Effects of Soyasaponins on Liver Injury Induced by Highly Peroxidized Fat in Rats*, Planta Med, **50**, 440-441 (1984)

ÖZATA, A. ve KUTLU, M., *Enzimoloji Ders Notları*, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları; No. 1254, Fen Fakültesi Yayınları; No. 15, Eskişehir, 115, 116 (2000)

ÖZTÜRK, M. ve ÖZÇELİK, H., *Doğu Anadolu' nun Faydalı Bitkileri*, Siirt İlim Spor Kültür Araştırma Vakfı, Ankara (1991)

ÖZYUT, M. S., *Ekonomik Botanik*, Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 47, Kayseri, s. 203 (1992)

PACKER, L., HIRAMATSU, M. ve YOSHIKAWA, T., *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, Academic Press, San Diego, California, 174, 454 (1999)

PARK, E., NAN, J., KIM, J., KANG, H., CHOI, J. H., LEE, S. J., LEE, B. H., KIM, S. J., LEE, J. H., KIM, Y. C. ve SOHN, D. H. *The Ethanol-soluble Part of a Hot-water Extract from Artemisia iwayomogi Inhibits Liver Fibrosis Induced by CCl₄ in Rats*, J. Pharm. Pharmacol., **52**, 875-881 (2000)

PATIROĞLU, T. E., *İltihap ve İmmunoloji*, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri (1994)

PEREIRA, M. A., KNUTSEN, G. L. ve HERREN-FREUND, S. L., *Effect of Subsequent Treatment of Chloroform or Phenobarbital on the Incidence of Liver and Lung Tumors Initiated by Ethylnitrosourea in 15 day old Mice*, Carcinogenesis, **6**(2), 203-207 (1985)

PEREIRA, M. A. ve GROTHAUS, M., *Chloroform in Drinking Water Prevents Hepatic Cell Proliferation Induced by Chloroform Administered by Gavage in Corn Oil to Mice*, Fundamental And Applied Toxicology, **37**(1), 82-87 (1997)

RASTOGI, R., SRIVASTAVA, A. K., SRIVASTAVA, M. ve RASTOGI, A. K., *Hepatocurative Effect of Picroliv and Silymarin Against Aflatoxin B₁ Induced Hepatotoxicity in Rats*, Planta Med, **66**, 709-711 (2000)

ROSNITSCHKE-SCHIMMEL, I., *The Influence of Nitrogen Nutrition on the Accumulation of Free Amino Acids in Root Tissue of Urtica dioica and their Apical Transport in Xylem Sap*, Plant Cell Physiol., **26**(1), 215-219 (1985)

ROSS D., *Metabolic basis of benzene toxicity*, Eur. J. Haematol, **57**(suppl), 111-118 (1996)

SAĞLAM, M., *Genel Histoloji*, Emel Matbaacılık Sanayii, Ankara, 212, 213 (1987)

SCHULZ, V., HANSEL, R. ve TYLER, V. E., *Rational Phytotherapy, A Physician's Guide to Herbal Medicine*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 228, 229 (1998)

SCHLOSSER P. M., BOND J. A. ve MEDINSKY M. A., *Benzene and phenol metabolism by mouse and rat liver microsomes*, Carcinogenesis, **14**(12), 2477-2486 (1993)

SCHOEN, A. M., *Complementary and Alternative Veterinary Medicine, Principles and Practice*, Mosby (1998)

SCHRENK D. ve BOCK K. W., *Metabolism of Benzene in Rat Hepatocytes*, Drug Metabolism and Disposition, 18(5), 720-725 (1990)

SENCER, E., *Beslenme ve Diyet*, İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı-BAYDA Yayını, No:4, 62,63 (1983)

SHARMA, R.K., JACOBSON-KRAM, D., LEMMON, M., BAKKE, J., GALPERİN, I. ve BLAZAK W.F., *Sister-chromatid exchange and cell replication kinetics in fetal and maternal cells after treatment with chemical teratogens*, Mutation Research, 158, 217-231 (1985)

SHARMA, B. B., VARSHNEY, M. D., GUPTA, D. N. ve PRAKASH, A. O., *Antifertility Screening of Plants. Part I., Effect of Ten Indigenous Plants on Early Pregnancy in Albino Rats*, Int. J. Drug Res., 21(4), 183-187 (1983)

SHARP, P. E. ve REGINA, M., *The Laboratory Rat*, CRC Press LLC, 14 (1998)

SHERLOCK, S., *Karaciğer ve Safra Yolları Hastalıkları*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-34, 1 (1975)

SHERTZER, H. G., PUGA, A., CHANG, C.-Y., SMITH, P., NEBERT, D. W., SETCHELL, K. D. R. ve DALTON, T. P., *Inhibition of CYP1A1 enzyme activity in mouse hepatoma cell culture by soybean isoflavones*, Chemico-Biological Interactions, 123, 31-49 (1999)

SHIBUYA, N., GOLDSTEIN, I. J., SHAFER, J. A., PEUMANS, W. J. ve BROEKAERT, W. F., *Carbohydrate Binding Properties of the Stinging Nettle (Urtica dioica) Rhizome Lectin*, Archives of Biochemistry and Biophysics, 249(1), 215-224 (1986)

SONG, E-K., CHO, H., KIM, J-S., KIM, N-Y., AN, N-H, KIM, J-A., LEE, S-H. ve KIM, Y-C., *Diarylheptanoids with Free Radical Scavenging and Hepatoprotective Activity in vitro from Curcuma longa*, Planta Med, 67, 876-877 (2001)

ŞAHİNTÜRK, V., ERÇAKIR, M., KOYUNCU, D., UYSAL, O. ve SARIBOYACI, A. E., *Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvar Kılavuzu*, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Eskişehir, s. 5, 6 (1999)

TAHRI, A., YAMANI, S., LEGSSYER, A., AZIZ, M., MEKHFI, H., BNOUHAM, M. ve ZIYYAT, A., *Acute diuretic, natriuretic and hypotensive effects of a continuous perfusion of aqueous extract of Urtica dioica in the rat*, Journal of Ethnopharmacology, 73, 95-100 (2000)

TANER, F., *Metabolizma ve Nütrisyon Fizyopatolojisi*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 117,118,134,135 (1975)

TANKER, M. ve SEZİK, E., *Bitkilerin Kanser Tedavisindeki Yeri ve Nerium Oleander Semineri*, VII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirileri, Ankara (1988)

TEKELİOĞLU, M., *Sobotta/Hammerson Histoloji Renkli Mikroskopik Anatomi Atlası*, Beta A. Ş., İstanbul, 152-155 (1994)

TEMİZKAN, G., *Genetik, II. Moleküler Genetik*, T.C. İstanbul Üniversitesi Yayınlarından Sayı: 4067, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 372 (1999)

TUMASONIS, C. F., MCMARTIN, D. N. ve BUSH, B., *Lifetime Toxicity of Chloroform and Bromodichloromethane when Administered over a Lifetime in Rats*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **9**, 233-240 (1985)

TUNÇER, N., AYDIN, S. ve ZEYTİNOĞLU, M., *İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi*, TC. Anadolu Üniversitesi Yayını No:1246, Eskişehir, 218-224 (2000)

ÜNSAL, A., KALYONCU, C., ETİZ, S. ve METİNTAŞ, S., *Eskişehir'de Çeşitli İşyerlerinde Benzen Sorunu*, *Anadolu Tıp Dergisi*, **12**(2), 11-17 (1990)

VURAL, N., 1984, *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 281, 282, 287-291 (1984)

WEISBURGER, J. H., *Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future*, *Mutation Research*, **480-481**, 23-35 (2001)

WHEATHER, P., BURKITT, G. ve LANCASTER, P., *Colour Atlas of Histology*, Longman, 76,77 (1985)

WICHTL, M., *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 502-509 (1994)

WRIGHT, G. P. ve SYMMERS, W. St. C., *Systemic Pathology, Volume I*, Longmans, Green & Co Ltd., p. 609, 610, 638, 666 (1966)

XIANG, T., XIONG, Q-B., KETUT, A. I., TEZUKA, Y., NAGAOKA, T., WU, L-J. ve KADOTA, S., *Studies on the Hepatocyte Protective Activity and the Structure Activity Relationships of Quinic Acid and Caffeic Acid Derivatives from the Flower Buds of *Lonicera bournei**, *Planta Med*, **67**, 322-325 (2001)

XING, S.G., SHI, X., WU, Z.-L., CHEN, J.-K., WALLACE, W., WHONG, W.-Z. ve ONG, T., *Transplacental Genotoxicity of Triethylenemelamine*,

Benzene, and Vinblastine in Mice, Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis, 12(5), 223-230 (1992)

XIONG, Q., FAN, W., TEZUKA, Y., ADNYANA, I. K., STAMPOULIS, P., HATTORI, M., NAMBA, T. ve KADOTA, S., Hepatoprotective Effect of *Apocynum venetum* and its Active Constituents, Planta Med, 66, 127-133 (2000)