

**T. C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**LİKOPEN VE GENİSTEİNİN TİYOASETAMİD İLE  
OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER SİROZUNDA  
KORUYUCU ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Bilal AKDEMİR**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU**

**ELAZIĞ  
2012**

**DEKANLIK ONAYI**

**Prof. Dr. İrfan ORHAN**

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Emir DÖNDER**

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU** \_\_\_\_\_

**Danışman**

**Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Prof. Dr. İ. Halil BAHÇECİOĞLU olmak üzere diğer saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Emir DÖNDER, Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Doç. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. Bilge AYGEM, Doç. Dr. S. Serdar KOCA, Doç. Dr. Handan ÇİPİL, Yrd. Doç. Dr. Ulvi DEMİREL, Uzm. Dr. Mustafa CANHOROZ'a, teşekkür ederim.

Histopatolojik ve biyokimyasal analizlerde destek olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN, Biyokimya A. D öğretim üyesi Prof. Dr. Necip İLHAN, Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fen Fakültesi Biyoloji A. D öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında desteklerini gördüğüm Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Bilim Dalı Arş. Gör. Dr. Cemal ORHAN'a, Fen Fakültesi Biyoloji A.D. Arş. Gör. Hasan GENÇOĞLU ve Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji A. D. Arş. Gör. Can Ali AĞCA'ya teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım iç hastalıkları asistan ve yan dal uzmanları, iç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire ve personellere teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini eksik etmeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim.

## ÖZET

Bu çalışmada antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri olan likopenin ve genisteinin tiyoasetamidle oluşturulan deneysel siroz modelinde koruyucu rolünü incelemeyi amaçlandı.

Çalışmada eşit sayıda 5 gruptan oluşan 35 adet erkek Wistar Albino ratlar kullanıldı. Birinci grup standart rat yemi ile beslendi. Diğer dört gruba hafta iki gün 200 mg/kg thioacetamide (TAA) i.p. uygulandı. İkinci gruba yalnızca TAA verildi. Üçüncü grup TAA +likopen (6 mg/kg p.o), dördüncü grup TAA+genistein (1 mg/kg p.o), beşinci grup TAA+likopen+gensitein aldı. Çalışma 8. hafta sonunda sonlandırıldı. Ratlar dekapitasyonla öldürülerek biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için serum ve karaciğer örnekleri alındı. ALT, AST, GGT, LDH düzeyleri çalışıldı. Histopatolojik incelemede fibrosis skorlandırıldı.  $\alpha$ -SMA ekspresyonu için immunohistokimyasal boyama yapıldı. Gruplara ait doku GSH-px, TNF-  $\alpha$ , TGF-  $\beta$ , NFk-B, tip 1 kollajen ve MDA düzeyleri çalışıldı.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında grup 2’de serum ALT, AST, GGT, LDH, doku TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , MDA, NF- $\kappa$ B ve tip 1 kollajen düzeylerinde anlamlı artış; doku GSH-Px düzeyinde anlamlı derecede azalma görüldü. Grup 3, 4 ve grup 5’te, grup 2 ile karşılaştırıldıklarında serum ALT, AST, GGT, doku TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , MDA, NF- $\kappa$ B ve tip 1 kollajen düzeylerinde anlamlı derecede azalma tespit edildi. Doku GSH-Px düzeyinde anlamlı artış saptandı.

Grup 2’de kontrol grubuyla karşılaştırıldığında doku fibrozisi ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunda anlamlı artış saptandı ( $p<0.001$ ). Grup 3, 4 ve 5’te grup 2’ye göre fibrosis ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonu anlamlı olarak daha azdı ( $p<0.001$ ). Grup 4 ve 5 arasında fibrosis ve  $\alpha$ -SMA skoru açısından anlamlı fark yokken, bu iki grup, grup 3’e göre fibrosis ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0.001$ ).

Gensitein ve likopen oksidatif stress ve inflamasyonu azaltarak siroza karşı koruyucu etki sağlamaktadır. Genistein ve likopen+genistein kombinasyonu fibrozisi azaltmada likopen göre daha etkili bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Karaciğer sirozu, tiyoasetamid, likopen, genistein.

## ABSTRACT

### THE PREVENTIVE ROLE OF LYCOPENE AND GENISTEIN IN THIOACETAMIDE INDUCED LIVER CIRRHOSIS

In this study we investigated the protective effect of two antioxidant and anti-inflammatory nutrients, lycopene and genistein, against TAA induced liver cirrhosis.

Thirty five Wistar Albino rats were used and equally divided into 5 groups. The first group was control group. The other four groups were injected with intraperitoneal TAA 2 mg/kg for 8 weeks. The second was injected TAA alone. The third group received TAA+lycopene (6 mg/kg p.o.), the fourth group received TAA+genistein (1 mg/kg p.o.) and the fifth group received TAA+lycopene (6 mg/kg p.o.)+genistein (1 mg/kg p.o.) for 8 weeks. At the end of eight weeks animals were killed. Plasma ALT, AST, GGT, LDH, GSH-Px and tissue GSH-Px, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , NF- $\kappa$ -B, MDA and collagen type 1 were studied. Histological analysis for fibrosis and Immunohistochemical staining for  $\alpha$ -SMA were performed.

In TAA group levels of serum ALT, AST, GGT, LDH and tissue TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , MDA, NF- $\kappa$ B, type 1 collagen were significantly elevated and levels of tissue GSH-Px decreased compared with the control group. In group 3, 4, 5 levels of serum ALT, AST, GGT, LDH and tissue TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , MDA, NF- $\kappa$ B, type 1 collagen were significantly decreased and levels of tissue GSH-Px were elevated.

In group 2 tissue fibrosis and  $\alpha$ -SMA expression significantly increased compared with control group ( $p < 0.001$ ). In group 3, 4, 5 tissue fibrosis and  $\alpha$ -SMA expression significantly decreased compared with group 2 ( $p < 0.001$ ). Tissue fibrosis and  $\alpha$ -SMA expression were not significantly different in group 4 and 5 but, in both groups these parameters were significantly lower than group 3.

In conclusion, lycopene and genistein are protective against liver cirrhosis via diminishing oxidative stress and inflammation. Genistein and genistein+lycopene combination are more potent than lycopene against liver cirrhosis.

**Key words:** Liver cirrhosis, thioacetamide, lycopene, genistein.

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Karaciğer Sirozu	3
1.1.1. Tanım	3
1.1.2. Sınıflama	3
1.1.3. Etyoloji	3
1.1.4. Fizyopatogenez	5
1.1.4.1. Başlama	5
1.1.4.2. Süreklilik	6
1.1.4.3. Fibrozisin süresi ve geri dönüşümü	9
1.2. Serbest Radikaller	9
1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	11
1.3.1. Enzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar	12
1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	12
1.3.1.2. Katalaz(KAT)	12
1.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) ve Glutatyon Redüktaz (GR)	12
1.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)	13
1.3.1.5. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)	14
1.3.2. Enzimatik Yapıda Olmayan Antioksidanlar	14
1.3.2.1. Askorbik asit (C vitamini)	14
1.3.2.2. Glutatyon (GSH)	14
1.3.2.3. E vitamini	14

1.3.2.4. Albumin	15
1.3.2.5. Transferrin	15
1.3.2.6. Seruloplazmin	15
1.3.2.7. Karotenoidler	15
1.3.2.8. Bilirubin	15
1.3.2.9. Ürat	15
1.3.2.10. Melatonin	15
1.4. Tiyoasetamid (TAA)	15
1.5. Likopen	16
1.6. Genistein	18
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>21</b>
2.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Grupların Oluşturulması	21
2.2. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması	22
2.3. Histopatolojik Değerlendirme	22
2.4. İmmunohistokimyasal İnceleme	23
2.5. İstatistiksel Analiz	23
<b>3. BULGULAR</b>	<b>24</b>
3.1. Bazal ve haftalık ağırlık ölçümleri	24
3.2. Karaciğer ağırlıkları	24
3.3. Biyokimyasal ölçümler	25
3.3.1. Biyokimyasal parametreler	25
3.3.2. Serum GSH-Px düzeyi	25
3.3.3. Doku GSH-Px düzeyleri	26
3.3.4. Doku TNF- $\alpha$ düzeyleri	26
3.3.5. Doku TGF- $\beta$ düzeyleri	27
3.3.6. Doku NF- $\kappa$ B düzeyleri	28
3.3.7. Doku tip 1 kollajen düzeyleri	28
3.3.8. lipid peroksidasyonu bulguları	29
3.4. Histopatolojik bulgular	30
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>41</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>57</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Karaciğer Sirozu Etyolojisi	4
<b>Tablo 2.</b> Gruplardaki rat ve karaciğer ağırlıkları	24
<b>Tablo 3.</b> Gruplara ait biyokimya sonuçlar	25
<b>Tablo 4.</b> Gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları	30

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Karaciğer hasarını takiben HSH aktivasyonu.	7
<b>Şekil 2.</b>	Glutasyon peroksidaz ve glutasyon reduktazın katalizlediği reaksiyon.	13
<b>Şekil 3.</b>	Likopenin kimyasal yapısı.	17
<b>Şekil 4.</b>	Genistein ve 17β-östradiolün kimyasal yapısı.	18
<b>Şekil 5.</b>	Gruplara ait doku GSH-Px düzeyleri.	26
<b>Şekil 6.</b>	Gruplara ait doku TNF-α düzeyleri.	27
<b>Şekil 7.</b>	Gruplara ait doku TGF-β düzeyleri.	27
<b>Şekil 8.</b>	Gruplara ait Doku NFκB düzeyleri	28
<b>Şekil 9.</b>	Gruplara ait doku kollajen tip 1 düzeyleri	29
<b>Şekil 10.</b>	Gruplara ait MDA düzeyleri.	29
<b>Şekil 11.</b>	Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (H&E, x200).	31
<b>Şekil 12.</b>	TAA grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200).	31
<b>Şekil 13.</b>	TAA+Likopen grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200).	32
<b>Şekil 14.</b>	TAA+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200)	32
<b>Şekil 15.</b>	TAA+likopen+genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200) .	33
<b>Şekil 16.</b>	Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü. (aktin boyası, x200).	33
<b>Şekil 17.</b>	TAA grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası x200).	34
<b>Şekil 18.</b>	TAA+likopen grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası, x200).	34
<b>Şekil 19.</b>	TAA+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü ( aktin boyası, x200).	35
<b>Şekil 20.</b>	TAA+Likopen+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası, x200).	35

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>bFGF</b>	: Basic fibroblast growth factor
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ECM</b>	: Ekstrasellüler matriks
<b>G6PDH</b>	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
<b>GGT</b>	: Gama glutamil transpeptidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GSSG</b>	: Okside glutasyon
<b>GST</b>	: Glutasyon-S-Transferaz
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen eozin
<b>HBV</b>	: Hepatit B virüsü
<b>HCV</b>	: Hepatit C virüsü
<b>HDV</b>	: Hepatit D virüsü
<b>HSH</b>	: Hepatik stellat hücre
<b>KAT</b>	: Katalaz
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrogenaz
<b>LDL</b>	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>MAPK</b>	: Mitojen aktive eden kinaz
<b>MCP-1</b>	: Monosit kemotaktik protein -1
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>MMPs</b>	: Matriks metalloproteinazlar
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NFκ-B</b>	: Nükleer faktör κ-B
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>ÖR</b>	: Östrojen Reseptörü
<b>PDGF</b>	: Platelet derived growth faktör
<b>RNT</b>	: Reaktif nitrojen türleri
<b>SMA</b>	: Smooth muscle actin

<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>TAA</b>	: Tiyoasetamid
<b>TASO</b>	: Tiyoasetamid sülfokside
<b>TGF</b>	: Transforming growth faktör
<b>TİMPs</b>	: Doku metalloproteinaz inhibitörleri
<b>TNF</b>	: Tümör nekrozis faktör

## 1. GİRİŞ

Karaciğer sirozu, karaciğer dokusunda fibröz septaların ve rejenerasyon nodüllerinin oluşumu ve karaciğer morfolojisinin bozulması ile karakterize olan hastalık tablolarının ortak adıdır. Batı ülkelerinde karaciğer sirozuna yol açan en önemli neden alkol kullanımımıdır. Uzakdoğu, Ortadoğu ve Türkiye’de ise, başlıca neden viral hepatitlerdir (1). Karaciğer sirozu, dünyanın pek çok bölgesinde ve Türkiye’de en önemli ölüm nedenlerinden birisidir.

Farklı nedenlerle başlayan kronik karaciğer hasarının ortak sonucu karaciğer dokusunun fibrozisidir. Fibrotik sürecin sonunda siroz ortaya çıkar. Karaciğer fibrozisi hepatik stellat hücre (HSH) aktivasyonu ile karakterize edilen ekstrasellüler matriks (ECM) bileşenlerinin aşırı üretimi anlamına gelir (2). İlerleyici fibrozis siroza yol açarken, başlangıç dönemindeki fibrozisin reversibl olduğu iddia edilmiştir. Erken dönemde sirozun da reversibl olabileceği yönünde ciddi deliller bulunmakla birlikte fibrozisin hangi döneminde reversibl hangi döneminde irreversibl olduğu konusu henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır (3).

Karaciğer hasarında önemli mekanizmalardan biri oksidatif stresdir. İlaç/toksin metabolitleri, iskemi/reperfüzyon ve alkol metabolizmasının sonucunda ortaya çıkan ve reaktif oksijen radikalleri olarak bilinen süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksietil radikalleri gibi ürünler, hepatositlerin nekroz ve apoptozu ile ilgilidir ve HSH aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır (4). Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Hücrede oluşan reaktif oksijen radikalleri, antioksidanlar olarak bilinen mekanizmalarla dengede tutulur. Oksidatif stres; hücresel oksidan/antioksidan dengenin oksidan lehine bozulması olarak tarif edilebilir (5). Yapılan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (6).

Karaciğer sirozu ve buna bağlı komplikasyonlar önemli mortalite ve morbidite sebeplerinden biridir ve sirozun sıklığı giderek artmaktadır. Günümüzde karaciğer sirozunun tek tedavisi karaciğer naklidir (7). Ancak karaciğer nakli verici yetersizliği nedeniyle her hastaya uygulanamadığı gibi nakil işlemine bağlı önemli oranda mortalite ve morbidite görülebilmektedir. Önemli bir mortalite ve morbidite sebebi olan karaciğer sirozunun önlenmesi, ilerleyişinin durdurulması ve oluşan lezyonların

gerilemesinin sağlanması halk sağlığı açısından son derece önemlidir. Fibrozisin patofizyolojisi ile ilgili bilgiler arttıkça sirozun tedavi edilebilir bir hastalık olabileceği fikri kuvvet kazanmıştır. Bu yönde yapılmış birçok farmakolojik çalışmanın yanı sıra doğal yapılı antioksidan bileşikler de son yıllarda daha çok gündeme gelmiş tedavi metodları arasındadır. Provitamin A dışı karotenoidlerden olan likopen ve flavonoid grubu bir fitoöstrojen olan genistein bu antioksidan bileşikler arasındadır.

Tiyoasetamid (TAA), deney hayvanlarında siroz modeli oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan güçlü bir hepatotoksindir. TAA akut uygulamalarda sentrilobüler nekroza ve hepatite (8, 9), kronik uygulamada ise karaciğer sirozuna yol açar (10, 11). TAA ile oluşturulan karaciğer sirozu histolojik olarak viral hepatitler sonucu oluşan karaciğer sirozu ile benzerlik göstermektedir (12).

Likopen insan diyetinde en fazla bulunan karotenoid olup güçlü antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (13, 14). Yapılmış olan çeşitli epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar likopenin prostat kanseri, mide kanseri, meme kanseri, akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlere karşı koruyucu etki gösterdiğini desteklemektedir (15-17). *In vitro* çalışmalar likopenin hepatokarsinoma karşı faydalı etkilerini desteklemektedir (18).

Genistein bitkilerde çok yaygın bir şekilde bulunan bir fitokimyasal olup izoflavonlar içinde en yüksek antioksidan aktiviteyi gösteren bileşik olarak tanımlanmaktadır (19). Anti tümör, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu bilinen genisteinin Transforming growth faktör-beta-1 (TGF- $\beta$ 1)'in uyarı yollarını modüle ederek birçok hücresel sistemde hücre büyümesini önleyici etki gösterebileceği öne sürülmüştür (20).

Yakın zamanda yapılan iki ayrı *in vitro* çalışmada genisteinin hepatik fibrogenezisten sorumlu olan stellat hücrelerin proliferasyonunu ve aktivasyonunu inhibe ettiği ve karaciğer fibrozisini önleyici potansiyel etkileri olabileceği bildirilmiştir (21, 22).

Bu çalışmada antioksidan ve anti-inflamatuvar etkileri olan likopenin ve genistein tiyoasetamidle oluşturulan deneysel siroz modelinde koruyucu rolleri incelenmiştir

## 1.1. Karaciğer Sirozu

### 1.1.1. Tanım

Karaciğer sirozu, normal parankim dokusunun kaybı, bağ dokusunun artışı, rejenerasyon nodüllerinin oluşması ve vasküler yapının bozulması ile karakterize, kronik, diffüz ve ilerleyici bir hastalıktır. Sirozun temel unsurları, fibröz doku artışı ve rejenerasyon nodülleridir. Siroz, klinik olarak hepatoselüler yetersizlik ve portal hipertansiyon bulgular ile seyreden ölümcül bir hastalıktır (23, 24).

### 1.1.2. Sınıflama

Karaciğer sirozu morfolojik özelliklerine, fonksiyonel durumuna, klinik evresine ve etyolojisine göre sınıflandırılabilir. Günümüzde klinik uygulamalarda etyolojik ve klinik evreye göre sınıflama daha çok kullanılmaktadır.

**1. Morfolojik olarak:** Karaciğer sirozu, karaciğerin makroskopik görünümüne ve oluşan nodüllerin özelliklerine göre üç morfolojik tip tanımlanmıştır:

**a- Makronodüler siroz:** Değişik çaptaki nodül ve septalarla karakterize olup, bazı nodüllerin çapı 5 cm'ye ulaşabilir. Septumlar genellikle kalındır. Postnekrotik siroz (kronik viral hepatitlere) bu gruba girer.

**b- Mikronodüler siroz:** 1 cm'den küçük, eşit çaptaki ufak nodüllerin arasında düzgün görümlü, ince septumlar ile karakterizedir. Alkolik siroz bu gruba girer.

**c- Mikstnodüler siroz:** Sirotik karaciğerlerin büyük kısmı bu gruba girer, makro ve mikronodüler tipin özellikleri birlikte gözlenir.

**2. Fonsiyonel sınıflama:** Aktif, inaktif siroz.

**3. Klinik evreye göre sınıflama:** Kompanse, dekompanse siroz.

### 1.1.3. Etiyoloji

Sirozun nedenleri sosyo-ekonomik ve kültür farklılıklarına göre değişiklikler gösterir. Batı ülkelerinde karaciğer sirozuna yol açan en önemli neden alkol kullanımıdır. Sirozun çok çeşitli nedenleri olsa da viral hepatit ve alkole bağlı siroz gelişimi çok daha sıktır (25). 1998-2001 yıllarını kapsayan 4 yıllık dönemde 573 vakalık karaciğer sirozu serisinde viral hepatitlerin %55, alkolün %12.4, alkol+viral hepatitlerin %4, diğer nedenlerin (otoimmün hepatit, biliyer siroz, metabolik

nedenler v.b.) %12 oranında rol oynadığı belirlenmiş, vakaların yaklaşık %16.4'ünde ise bir neden bulunamamıştır (Kriptojenik siroz). Viral hepatitlerden HBV'nin katkısı %46, HCV'nin katkısı %31.3, HDV'nin katkısı ise %19.6 bulunmuştur. Sonuç olarak, ülkemizde etyolojik ajan olarak viral hepatitler, özellikle HBV, HCV, HDV'nin önemli rol oynadığı dikkati çekmiştir (Tablo 1) (26).

**Tablo 1.** Karaciğer Sirozu Etiyolojisi

<b>A NEDENİ KANITLANMIŞ OLANLAR</b>	<b>B KANITLANMAMIŞ NEDENLER</b>
1-Kronik hepatitler <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Viral hepatitler (B.C.D)</li> <li>b. Otoimmün hepatitler</li> </ul>	1-Vüal hepatit G
2-Alkol	2-Şistozomiasis
3-Biliyer hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Primer bilier siroz</li> <li>b. Primer sklerozan kolanjit</li> <li>c. Sekonder bilier siroz</li> </ul>	3-Mikotoksinler
4-Kalıtsal metabolik hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Hemokromatozis</li> <li>b. Wilson hastalığı</li> <li>c. Alfa-1 antitripsin eksikliği</li> <li>d. Kistik fibrozis</li> <li>e. Glikojen depo hastalıkları</li> <li>f. Galaktozemi</li> <li>g. Herediter tirozinemi</li> <li>h. Herediter fruktoz intoleransı</li> <li>i. Herediter hemorajik telenjektazi</li> <li>j. Abetalipoproteinemi</li> <li>k. Porfirya</li> <li>1. Byler's hastalığı</li> </ul>	4-Malnutrisyon
5-İlaç ve toksinler	5-Obezite
6-Venöz çıkış obstrüksiyonu <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Budd-Chiari sendromu</li> <li>b. Veno-oklüzif hastalık</li> </ul>	6-Diabetes Mellitus
7-Kalp yetmezliği <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Kronik sağ kalp yetmezliği</li> <li>b. Triküspit yetmezliği</li> </ul>	<b>C NEDENİ BİLİNMEYENLER</b>
8-İntestinal by-pass cerrahisi <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Jejunioileal by-pass</li> <li>b. Gastroplasti</li> </ul>	1-Kriptojenik (idyopatik)
9-Diğer sebepler <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Silitiz</li> <li>b. Sarkoidoz</li> </ul>	2-İndian çocukluk sirozu

#### **1.1.4. Fizyopatogenez**

Sirozun patogeneğinde dört faktör rol oynamaktadır;

- 1.Kronik aktif hepatit
- 2.Steatohepatit
- 3.Portal fibrozis
4. Sentrilobüler ( Zon 3) fibrozis

Etyolojide rol oynayan faktörler; bu dört yoldan bir ya da birkaçının etkili olduğu bir süreci takiben karaciğer sirozunu oluştururlar (27).

Sirozun başlangıcında etyolojik nedene bağlı olarak gelişen hepatosellüler hasar ve buna eşlik eden iltihabi infiltrasyon söz konusudur. İltihabi infiltrasyonun uzun süre devam etmesi karaciğerde aşırı bağ doku artışı olarak ifade edilen fibrozise neden olmaktadır. Gelişen fibrozis sonucunda karaciğerin normal yapısı ile mikrovasküler ilişkileri bozulmakta ve devam eden bu süreç sonucunda karaciğer sirozu gelişmektedir. Bu yapısal değişiklikler presinuzoidal alan, sinuzoidler düzeyi ve postsinuzoidal alanda (santral ven) farklı morfolojik oluşumlarla temsil edilir (28, 29). Karaciğer sirozunun temel morfolojik görünümünü oluşturan fibrozis; ekstrasellüler matriksin yapımı (fibrojenesis) ile yıkımı (fibrolizis) arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar. Normal bir karaciğerin disse aralığı membran benzeri bir matriks içerir (30). Subendotelyal matriks; kollajen, glikoproteinler, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar gibi makromoleküllerden meydana gelir (31). Karaciğer fibrotik hale geldiğinde, hepatik ESM kompozisyonunda kalitatif ve kantitatif değişiklikler oluşur. Kollajen içeriği 3–5 kat artar ve subendotelyal aralıktaki düşük dansiteli subendotelyal matriks progresif bir şekilde, fibril-forming kollajenden zengin olanıyla yer değiştirir. Karaciğer hasarını takiben HSH'ler pasif hücrelerden kontraktıl myofibroblastlara, proliferatif ve fibrojenik hale geçtiği aktivasyon diye bilinen bir cevap gösterirler. Hepatik fibrozise yol açan temel faktör HSH aktivasyonudur. HSH aktivasyonu, tekrarlanan sıralı ve sıkı programlı bir cevaptır, başlangıç ve devam dönemleri olmak üzere birbirini takip eden iki olayla organize olur (30).

##### **1.1.4.1. Başlama**

Hepatik stellat hücre aktivasyonu esnasında gözlenen en erken değişiklikler komşu hücreler olan sinusoidal endotel, Kuffer hücreleri, hepatositler ve trombositler

tarafından oluşturulmuş parakrin stimülasyonun bir sonucudur. Endotelial hücrelerdeki erken hasarlanma selüler fibronektin oluşumunu stimüle eder. Fibronektin ise HSH'ler üzerinde aktive edici bir etkiye sahiptir. Endotelial hücreler ayrıca TGF-  $\beta$ 'nin latent formdan aktif olan fibrojenik forma dönüşümüne de katılabilirler. Trombositler *platelet derived growth factor* (PDGF), TGF-  $\beta$ 1 ve *epidermal growth factor* (EGF) yoluyla parakrin stimulus yapan bir diğer önemli kaynaktır (32).

Kuffer hücreleri, sitokinler (özellikle TGF- $\beta$ 1), reaktif oksijen intermediatları/lipid peroksidazlar sayesinde HSH'yi uyararak matriks sentezini, hücre proliferasyonunu ve stellate hücreden retinoid salıverilmesini stimüle ederler. Böylece HSH aktivasyonuna katkıda bulunurlar. Öte yandan aktive Kuffer hücreleri farklı mekanizmalarla HSH apoptozuna da yol açmaktadır (33).

Hepatositler de potent bir fibrojenik lipid peroksidaz kaynağıdır. Bir hasarlanmayı takiben gelişen hepatosit apoptozu da, apoptozda rol oynayan bir protein olan Fas aracılığıyla HSH'de başlangıç döneminin oluşmasına neden olur (34).

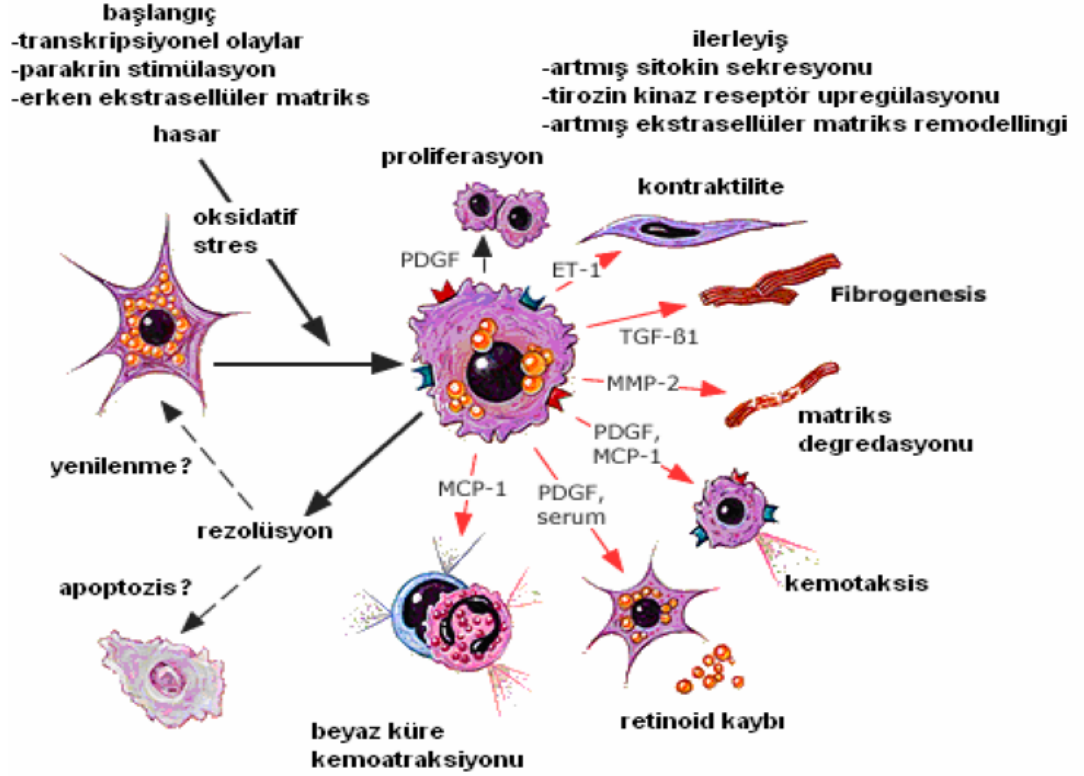
Lipit peroksidasyonunun da hepatosit zedelenmesinin ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Lipit peroksidasyonun ürünlerinden olan malondialdehitin kollajen gen ekspresyonunu ve üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu aldehitik ürünlerin profibrojenetik sitokinleri (TGF-  $\beta$ 1) salınan kupffer hücrelerini de aktive ettiği bilinmektedir (35). Lipit peroksidasyon yıkılım ürünlerinden olan aldehitlerin ve henüz tanımlanmamış benzer ürünlerin de HSH aktivasyonuna, özellikle de başlangıç evresi denilen erken dönemlerde katkıda bulunabildiği belirtilmiştir (36, 37).

#### **1.1.4.2. Süreklilik**

Karaciğer hasarında aktivasyon sürdükçe, stellat hücrelerde sırasıyla;

- a) Proliferasyon
- b) Kemotaksis
- c) Fibrogenesis
- d) Kontraktilite
- e) Matriks degradasyonu
- f) Retinoid kaybı

g) Lökosit kemoatraktanı ve sitokin salıverilmesi gib fenotipik cevaplar görülür



Şekil 1. Karaciğer hasarını takiben HSH aktivasyonu (38).

Bu değişimlerin net etkisi ekstraselüler matriksteki artıştır. Örneğin; proliferasyon ve kemotaksis, hem kollajen üreten hücre sayısında bir artışa hem de her bir hücrenin daha fazla matriks üretmesine yol açar. HSH'ler tarafından sitokin salıverilmesi inflamatuvar ve fibrojenik doku yanıtını artırarak matriks proteazlarının normal matriks yerine tipik bir yara skarındaki matriks oluşumunu hızlandırabilir.

#### 1.1.4.2.1. Proliferasyon

Hasarlı karaciğerde, stellat hücreleri polipeptit yapıdaki büyüme faktörlerine cevap olarak proliferasyona uğrar (30). PDGF stellat hücre sayısının artırılmasında başlıca sitokindir (39). Stellate Hücredeki mitojen aktiviteye sahip diğer bileşenler trombin, trombin reseptörleri, EGF, TGF $\alpha$ , bFGF ve leptindir (40-42).

#### 1.1.4.2.2. Kontraksiyon (Kasılma)

Karaciğer hasarını takiben HSH'ler aktive olur ve sessiz hücrelerden proliferatif, kontraktıl ve fibrojenik miyofibroblastlara dönüşürler (43). HSH'lerin aktivasyonu ve sonrasında kasılabilirlik özelliklerini kazanmaları, sinüzoidlerin

daralmasını sağlar, ayrıca ortaya çıkan kollajen bantlarda karaciğerin büzüşmesine neden olur, böylece portal kan akımı da azalır (44). HSH için en önemli kontraktıl uyarıcı da endotelin-1'dir (30, 44).

#### **1.1.4.2.3. Fibrojeniz**

Karaciğer fibrozisi, özellikle tip 1 kollajen olmak üzere aşırı düzeyde ESM bileşenlerinin üretimi ve depolanmasıyla karakterizedir. HSH karaciğer fibrozisi sırasında skar dokusunun aşırı üretiminden sorumludur (43). HSH tarafından ESM üretilmesi için dominant uyarın TGF-  $\beta$ 1'dir (30). Lipit peroksidasyon ürünleri de ESM üretiminin önemli bir uyarandır (45).

#### **1.1.4.2.4. Matriks yıkımı**

Fibröz doku oluşumunda matriks proteinlerinin yıkımı önemlidir. Bunu metalloproteinaz denilen bir grup enzim sağlar (2). Normal karaciğer dokusunda matriks proteinlerinden matriks metalloproteinazlar (MMPs), ESM ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. MMPs'ı inhibe eden bazı faktörler mevcuttur. Bunlardan metalloproteinazların spesifik doku inhibitörleri (TIMPs) *in vivo* koşullarda bu enzimlerin aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar. MMPs ve TIMPs arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmekte ve böylece bunlar arasındaki denge değişik patolojik durumların patogeneğinde önemli bir rol oynayabilmektedir (46).

#### **1.1.4.2.5. Stellat hücre kemotaksisi**

Aktif HSH'ler hasarlı alana göç ederler. PDGF ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) aktif HSH'lerin kemoatraktanları olarak tanımlanırlar ama bu moleküller dinlenme halindeki HSH'de görev yapmazlar (47).

#### **1.1.4.2.6. Retinoid kaybı**

Disse aralığında bulunan yağ ve A vitamini depolamak ile görevli olan HSH'ler siroz gelişimi sırasında aktive olarak retinil ester depolarını kaybeder ve miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (48). Retinoid kaybının HSH'lerin aktive olması için gerekli olup olmadığı ve retinoidlerin, aktivasyonu hızlandırabileceği ya da önleyebileceği tam olarak anlaşılabilmiş değildir.

#### **1.1.4.2.7. Sitokinlerin serbest bırakılması ve lökosit kemoatraksiyonu**

Sitokinlerin üretilmeleri veya aktivitelerinin arttırılması, stellat hücre aktivasyonun devamı için çok önemlidir. Stellat hücreler, nötrofil ve monosit kemoatraktanlar salarak, inflamasyonu arttırabilirler. Anahtar inflamatuvar kemokinler; koloni stimule edici faktör ve MCP-1'dir (30).

#### **1.1.4.3. Fibrozisin süresi ve geri dönüşümü**

Fibroziste ilerleme süresi etkene, çevresel faktörlere ve genetiğe göre değişir. Örneğin, biliyer bir obstrüksiyonda başlangıçtan yaklaşık 10 ay sonra siroz gelişirken, kronik Hepatit-C infeksiyonunda alkol yoksa siroza ilerleme yaklaşık 20 yılı almaktadır. Östrojenin antifibrojenik etkilerinden dolayı kadınlarda fibrozis gelişimi erkeklere göre daha yavaştır (49, 50). Fibrozis süresince ortaya çıkan ECM proteinaz aktivasyonundaki yetersizlik sebebiyle hasarlı karaciğer dokusunun normal yapıya yeniden dönüştürülmesi çok kolay değildir. Ancak fibrojenik uyarılma engellenebilirse aktif HSH miktarı azalır ve bu yolla HSH aktivasyonu yavaşlar. Mevcut proteinazların etkisiyle fibrozis geriye döndürülebilir (51). Fibrozisin tedavi ile gerilediğine dair ciddi kanıtlar mevcuttur. Buna, alkolik sirozlarda alkolün bırakılması, otoimmün hepatitlerde immünsüpresif tedavi kullanılması, hemokromatoziste flebotomi yapılması, Hepatit B'de lamivudin, Hepatit C'de ve Hepatit D'de interferon kullanılması, primer biliyer sirozda ursodeoksikolik asid ve metotreksat kullanılması ile aşikâr sirozun gerileyebildiği örnekleri sayılabilir (52). Eğer siroz hızla oluşmuşsa tamamıyla düzelme ihtimali vardır. Buna örnek; karbon tetraklorür veya safra yolları ligasyonu ile fare karaciğerde oluşturulmuş fibrozisin, etken kaldırıldığında tamamen düzelmesidir (53). Karbon tetraklorürle oluşturulan deneysel siroz modellerinde karbon tetraklorürün sekiz hafta verilmesiyle fibrozis geliştiği gösterilmiştir. Sekiz haftadan sonra karbon tetraklorürün kesilmesiyle karaciğerin normal morfolojiye döndüğü gösterilmesine karşın bu süre oniki haftayı geçtiğinde karbon tetraklorür kesilse bile fibroziste kısmen düzelme sağlanabildiği gösterilmiştir (54).

#### **1.2. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller: Dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir (55). Serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilmekte olup, protein, lipid ve nükleik asit gibi makro

moleküllerle etkileşmeleri sonucu, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Serbest radikaller antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulur ve normal şartlar altında organizma kendini antioksidan mekanizmalarla korur. Serbest radikallerin sebep olduğu hasar sonucunda bazı enzimler inaktive, bazı enzimler ise uygun inhibitörün inaktivasyonu ile aktive olurlar. Fazla miktarda disülfid bağı içeren ekstrasellüler proteinler hidroksil ve peroksil radikal saldırısına daha hassastırlar. Serbest radikal (özellikle hidroksil) saldırısı sonrası DNA'da hasar oluşur. Bunun sonucunda; sitotoksisite, mutasyon ve malign transformasyon potansiyeli meydana gelir. Reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine en fazla maruz kalan biyolojik moleküller lipidlerdir. Hücre membranı serbest oksijen radikalleri ile hızla reaksiyona girebilen çoklu doymamış yağ asitlerinden oldukça zengindir. Çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikal hasarına özellikle hassastır ve bu oksidatif hasara "lipid peroksidasyonu" denir. Lipid peroksidasyonu, oksijen türevi serbest radikaller tarafından tetiklenen oksidatif stresin en önemli organik göstergelerinden birisidir. Üç karbonlu bir ketoaldehid olan malondialdehid (MDA) normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur, daha sonra krebs siklusu ile CO<sub>2</sub>'e indirgenerek atılır. Fakat aşırı lipid peroksidasyonunda MDA konsantrasyonu artar ve dokulara hasar verir (56). Biyolojik sistemlerdeki oksidatif stresin ölçülmesinde günümüzde en yaygın metod MDA ölçümüdür (57).

Serbest radikallerin hücre membranı ile reaksiyona girmesi sonucunda membran akışkanlığında azalma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir. Hücrelerden başta potasyum olmak üzere çeşitli elektrolitlerin kaybını artırır. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar ve litik enzimleri (elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz) aktive ederler. Kapiller ve venüllerin endotelial tabakalarında oluşan bu hasarlar, permeabilite artışına ve plazmanın, hatta eritrositlerin ekstrasvazasyonuna yol açar. *In vitro* olarak, serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidazların oluşumundan dolayı, indirekt olarak araşidonik asit metabolizmasını uyararak prostaglandin, tromboksan ve lökotrien konsantrasyonlarını artırır. Bunun sonucu, permeabilite değişimleri ile mikro ve makro dolaşım bozuklukları gözlenir. Bunlara ek olarak mitokondrial oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu ve sitokrom P450 aktivitesi gibi birçok

fizyolojik reaksiyonlarda serbest radikal mekanizmalarının temel rol oynadığı düşünülmektedir (5, 58, 59). Serbest radikaller; normal metabolik olaylar sırasında meydana gelebildikleri gibi çok çeşitli dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler (60). Ekzojen kaynaklar; hava kirleticiler, doğal zararlı gazlar (ozon, oksijen ve hiperbarik oksijenin yüksek konsantrasyonları), iyonize ve non-iyonize radyasyon, ilaçlar, alkol, patojenik bakteri ve virüslerdir. Endojen kaynaklar ise; mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, araşidonik asit metabolizması, redoks döngüsü, fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelial hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, indolamin dioksijenaz, triptofan dioksijenaz, galaktoz oksidaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz, monoamin oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır (61, 62).

Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri, sülfür merkezli radikaller vb. moleküllerden oluşurlar (63). reaktif oksijen türlerine superoksit ( $O_2^{\cdot}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ), alkoksil radikali ( $RO^{\cdot}$ ), peroksil radikali ( $ROO^{\cdot}$ ) ve hidroperoksil radikali ( $OOH^{\cdot}$ ) örnek verilebilir. Nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ) ve nitrojen dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ ) radikalleri de reaktif nitrojen türlerini oluşturur.

Oksijen ve nitrojen serbest radikalleri, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ), hipoklorik asit ( $HOCl$ ), hipobromoz asit ( $HOBr$ ) gibi diğer reaktiflere dönüşebilir. Gerek karaciğere hasar veren ajanın oksidatif yapısından dolayı kendisinden açığa çıkan, gerekse de inflamatuvar hücreler tarafından karaciğerde üretilen serbest radikallerin daha önce belirtildiği gibi karaciğer hasarında önemli rolleri vardır. Serbest radikaller, hepatosit nekrozu ve apopitozu ile HSH aktivasyonuna katılmaktadır (64, 65).

### **1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri**

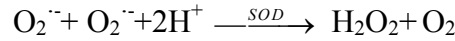
Vücutta reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı geciktirmek ya da önlemek için geliştirilen savunma sistemleri antioksidanlar olarak bilinir. Antioksidanların serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki”, serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekile dönüştürme işlemine “baskılayıcı etki”, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye “zincir kırıcı

etki” ve tamir fonksiyonuna da “onarıcı etki” denir (59). Antioksidanlar endojen (organizma tarafından sentezlenen) ve eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılır (66). Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek savunma mekanizmasında rol oynayan antioksidanlar enzimatik yapıda olabilecekleri gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler. Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, seruloplazmin, ürik asit gibi molekülleri içermektedir. Asıl antioksidan savunmayı hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalazdır.

### **1.3.1. Enzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar**

#### **1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

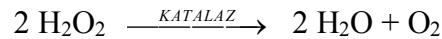
İki molekül süperoksit anyonunun iki molekül proton ile reaksiyonunu katalizleyerek onları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye ve moleküler oksijene dismute eden bir metalloenzimdir.



İki reaktif oksijen türünü, radikal olmayan moleküllere dönüştürmesi nedeniyle antioksidan sistemin önemli öğelerinden birisidir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır ve doku PO<sub>2</sub> artışıyla artar. Buna karşılık hücre dışı sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür (67). Sitozolik SOD (Cu-ZnSOD, SOD1), Mitokondrial SOD (Mn-SOD, SOD2) ve Ekstrasellüler SOD (EC-SOD, SOD3) olmak üzere üç tipi vardır.

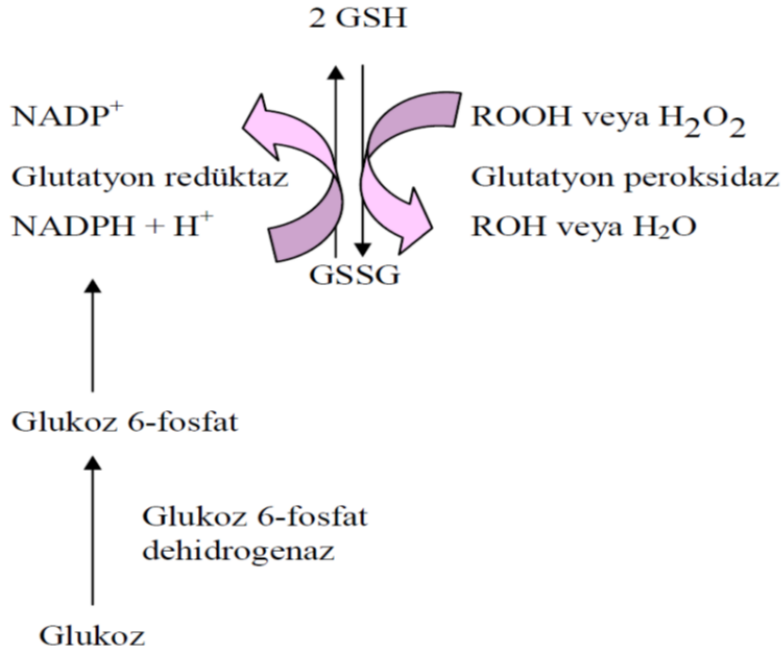
#### **1.3.1.2. Katalaz(KAT)**

Peoksizomlarda lokalize, dört tane hem grubu bulunan hemoproteindir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde aktivitesi yüksektir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'i oksijen ve suya parçalar (68).



#### **1.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) ve Glutatyon Redüktaz (GR)**

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) 'in iki substratı vardır. Substratlarından biri olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suya, diğer substratı olan organik hidroperoksit alkole indirgenirken, bu sırada koenzim redükte



**Şekil 2.** Glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon.

(GSH) ise yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşür. Kullanılan koenzim NADPH, esas olarak pentoz fosfat yolundan sentezlenir (69).

Genel olarak GSH-Px'in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e karşı en belirgin savunma sistemi olduğu düşünülmektedir. Tetramerik yapıda olan enzim en çok karaciğer ve eritrositte aktif olarak bulunmaktadır (70). Glutasyon Redüktaz hücrel GSH redox siklusundan sorumlu olup endojen peroksidlerin detoksifikasyonu için önemlidir (71).

#### 1.3.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

Glutasyon-S-transferazlar; hücrel detoksifikasyon ve transporttan sorumlu multifonksiyonel protein ailesidir. GST ailesi hepatositlerdeki başlıca detoksifiye edici sistemdir (72). Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksidleri olmak üzere lipid hidroperoksidlere karşı GST'ler, selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi gösterirler. GST'ler, glutasyonun reaktif metabolitlerle konjugasyonunu sağlayarak organizmadan uzaklaşmasını sağlamaktadır (73).

### **1.3.1.5. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)**

Pentoz fosfat yolunun oksidatif faz hız kısıtlayıcı enzimidir. G6PDH eksikliğinde oksidan ajanların detoksifiye edilememesi sonucu hemolitik anemi oluşur. İnsanlarda hastalığa neden olan en sık görülen enzim anomalisidir (74).

## **1.3.2. Enzimatik Yapıda Olmayan Antioksidanlar**

### **1.3.2.1. Askorbik asit (C vitamini)**

Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidandır. Askorbik asitin antioksidan mekanizmaları singlet oksijenin süpürülmesi ve moleküler oksijenin ortadan kaldırılması esasına dayanır. C vitamini, fagositoz için de gereklidir. C vitamini, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur. Bu etkisi sebebiyle askorbik asit aynı zamanda prooksidan olarak kabul edilmektedir. Fakat bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü daha yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bir antioksidan olarak etki gösterdiği kabul edilmiştir (62, 75). Askorbik asitin radikalik formu glutatyon sistemi tarafından askorbik asite yeniden dönüştürülür (76).

### **1.3.2.2. Glutatyon (GSH)**

Glutatyon vücudun birçok hücresinde bulunan ve hücrenin fonksiyonel proteinlerini oksidan ajanlara karşı koruyan bir tripeptittir (77). Glutatyon, hidrojen peroksidin suya dönüştürülmesindeki görevinin yanısıra hidroksil radikali, peroksil radikali ve peroksinitrit gibi serbest radikallerle reaksiyona girerek serbest radikal hasarını önlemektedir (69). GSH; DNA sentezinde ve hasarlı DNA parçalarının onarılmasında, metabolik fonksiyonların yerine getirilmesinde, zehirli maddelerin inaktif hale dönüştürülmesinde (detoksifikasyon) görev yapmaktadır (78).

### **1.3.2.3. E vitamini**

E vitamini sekiz farklı formda bulunan ve yağda çözülebilen bir vitamindir. E vitamininin insanlardaki en aktif formu  $\alpha$ -tokoferol olup güçlü bir biyolojik antioksidandır. Temel antioksidan işlevi lipit peroksidasyonuna karşı koruma sağlamaktır (79).

#### **1.3.2.4. Albumin**

Albumin vücutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipit peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (80).

#### **1.3.2.5. Transferrin**

Transferrin plazmada bulunan demiri bağlayan bir glikoproteindir. Serbest demiri bağlayarak demirin lipit peroksidasyon tepkimelerini başlatmasını önlemektedir (81).

#### **1.3.2.6. Seruloplazmin**

Bakır bağlayan bir glikoproteindir. Seruloplazminin ferooksidaz aktivitesi demir iyonuna bağlı lipit peroksidasyonunu inhibe eder (81).

#### **1.3.2.7. Karotenoidler**

$\beta$ -karoten ve likopen gibi karotenoidler hücreleri ve organizmayı korumada önemli rolleri vardır (82). Karotenoidler biyolojik sistemlerdeki en efektif singlet oksijen söndürücü maddelerdendir (83).

#### **1.3.2.8. Bilirubin**

Bilirubin, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (84).

#### **1.3.2.9. Ürat**

Ürat, normal plazma konsantrasyonunda süperoksit, hidroksil, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler, fakat lipit radikalleri üzerine etkisi yoktur (84).

#### **1.3.2.10. Melatonin**

Melatonin, hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Lipofilik yapıda olmasından dolayı kan beyin bariyerini rahat geçer ve çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir (84).

### **1.4. Tiyaoasetamid (TAA)**

Tiyaoasetamid, nekrojenik ve kanserojen olan, thiono- sülfür içeren bir bileşiktir (85, 86). Çoğunlukla hayvanlarda fulminant hepatik yetmezlik ve karaciğer sirozu gibi deneysel modelleri oluşturmak için kullanılır (87, 88). Hepatotoksik ajan olarak bilinen TAA ( $\text{CH}_3\text{-C(S)NH}_2$ ) gerçekte fungusit olarak kullanılır. Deneysel düşük dozlarda verildiğinde kronik hepatiti takiben siroz meydana gelirken; öldürücü

dozlarda verilmesi halinde karaciğerde şiddetli sentrilobüler nekroza neden olur (89, 90).

Tiyoastemid, NADPH ve sitokrom P 450 gerektiren mikrozomal monooksijenaz sistemi aracılığıyla yoğun metabolik işlemler sonucu zararlı metabolitlerine dönüşüp hepatik makromoleküllere kovalent bağlanması sonucunda karaciğerde hasara neden olur (90-92). Karaciğerde TAA önce CYP2E1 ile TAA sülfokside metabolize olur. TAA sülfoksitte (TASO) ileri metabolizmalarla TAA S-dioksidi (TASO<sub>2</sub>) dönüşür. Karaciğerde asıl hasara neden olanda bu iki bileşiktir. TASO; hücre ölümü, mitokondriyal aktivitenin azalması, çekirdek volumü ve kalsiyum iyonunun hücre içi konsantrasyonunun artması, hücre zarı geçirgenliğinde değişiklikler gibi etkilere neden olur (93).

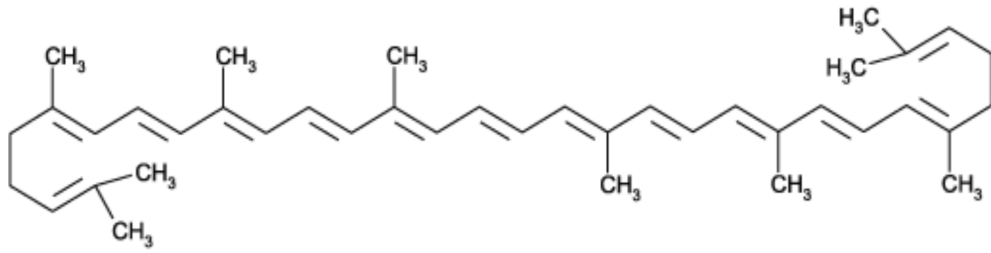
Tiyoasetamidin tek ve büyük bir dozunun (200 mg/kg) 12 saatte nekroza yol açtığı, 24 ila 30 saatte ise nekrozun yanı sıra mononükleer inflamasyon cevabı geliştiği bildirilmiştir. Düzeltme 36 saatte başlamakta ve karaciğer 7 günde normale dönmektedir (94). Ayrıca TAA verildikten üç ay sonra karaciğerde fibrozis, rejeneratif nodüller ve ayrıca sirozun karakteristikleri olan portal hipertansiyon ve hiperdinamik sirkülasyon gözlemlendiği rapor edilmiştir (95).

Tiyoasetamidin biyotransformasyonu esnasında hem flavin içeren monooksijenaz hem de sitokrom P450 sistemi hidrojen peroksidin katalizlenmesiyle oluşan, superoksit anyonunu dioksijene çevirir. Böylece oksidatif hasarla ilişkili olarak karaciğerdeki bozulmalara öncülük eder (91, 96). TAA verilmesini takiben karaciğer hücrelerinde tetraploit hücrelerin yok olduğu, MDA oluşumunun arttığı ve glutatyonun azaldığı görülmüştür (97-99). Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunda TAA indüksiyonlu karaciğer fibrozisinin ilerlemesine neden olur.

### **1.5. Likopen**

Likopen, karotenoid grubundan bir antioksidandır (100). Bitkiler ve mikrororganizmalar tarafından fotosentez esnasında ışığı emmek ve fotosensitizasyona karşı korumak için sentezlenen doğal bir pigmenttir (101). Domates ve domates ürünleri (salça, ketçap, sos, domates suyu), karpuz, kayısı, kuşburnu, pembe greyfurt, papaya ve guava gibi bitkilerde yüksek miktarlarda bulunur ve bu bitkilere kırmızı rengi verir (102, 103). Likopenin insan vücudunda sentezi mümkün değildir, ancak depo edilebilir (104). Düz bir sıra halinde dizilmiş

11 konjuge ve 2 konjuge olmamış çift bağ içeren açık hidrokarbon zincirinden oluşmaktadır (Şekil 3). Moleküler formülü C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>, molekül ağırlığı 536,85 daltondur (101, 105). Diğer bazı karotenoidlerden farklı olarak likopen, terminal β-iyonik halkası içermediğinden A vitamini aktivitesinden yoksundur (106). Likopenin güçlü antioksidan özelliğinin yapısındaki konjuge çift bağlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Likopenin antioksidan aktivitesi, tekli oksijen grupları yok etme özelliği ve peroksit radikallerini yakalama özellikleriyle belirlenir (104). Likopen miktarı özellikle kırmızı meyve ve sebzelerin türüne, olgunluğuna ve yetiştirildiği çevrenin koşullarına göre farklılık gösterir. İşlenmiş domates ürünlerindeki likopenin biyoyararlılığı, ham domates ürünlerinden daha fazladır (107, 108). Besinlerle alınan likopenin insanlarda %10-30 kadarı emilir (109). İşlenmiş domates ürünlerindeki likopenin çiğ domatesle kıyaslandığında daha iyi emildiği bildirilmiştir (106).



**Şekil 3.** Likopenin kimyasal yapısı.

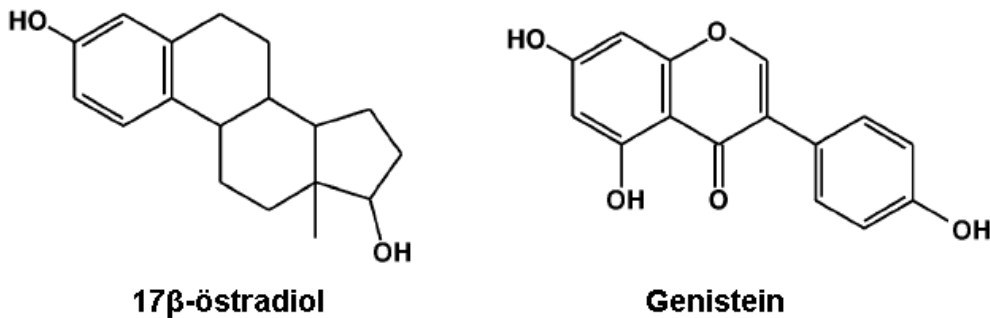
Likopen organizmada yaygın bir şekilde dağılım gösterir. Bazı çalışmalarda ratlarda tek doz likopen uygulamasından sonra likopenin birikim yerinin öncelikle karaciğer olduğu, bunun dışında akciğer, prostat, meme bezi ve serumda da önemli miktarlarda biriktiği görülmüştür (104). Likopen, karotenoidler arasında en güçlü antioksidandır. Yüksek düzeyde domates tüketimi sonucunda yüksek antioksidan düzeye ulaşmakta ve böylece lipid, protein ve DNA'nın oksidasyonunda azalmaya yol açmaktadır (106, 110). Likopen *in vivo* ve *in vitro* şartlarda reaktif oksijen türevlerinin etkisini nötralize ederek lipid, protein ve DNA'yı oksidatif hasarlara karşı korur, hücrelerin ve dokuların korunmasına ve iyileşmesine yardımcı olur (111, 112). Bir çalışmada domates ürünlerinden sağlanan günlük 40 mg'lık likopen tüketiminin koroner kalp hastalıkları ve aterosklerozun gelişiminde önemli rolü olan LDL seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir (113). Başka bir çalışmada günlük düzenli tüketilen likopenin akciğer kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (114).

Deneysel olarak oluşturulan gastrik kanserlerde likopenin antioksidan kapasiteyi artırarak, lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (115).

Likopenin kanser önleyici ve kalp-damar hastalıklarıyla ilişkili faydalı etkileri yanında değişik sistem hastalıkları üzerine de olumlu etkileri bulunmaktadır. Mohanty ve ark. (116) infertil erkeklerde likopenin sperm yoğunluğu ve motilitesini gösteren seminal sıvılarının kalitesini önemli derecede artırdığını belirlemişlerdir. Rao ve ark. (117, 118) likopenin osteoblast aktivasyonunu artırırken osteoklast aktivasyonu azalttığını ve likopenin osteoporozisin önlenmesinde etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Alkol kullananlarda yapılan bir klinik çalışmada likopenin, alkol kullananlarda karaciğer hasarının göstergesi olan GGT seviyesi ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (119). Rao ve ark. (120), likopenin prostat, meme, servikal, ovariyal, karaciğer ve diğer organların çeşitli kanserlerini azalttığını bildirmişlerdir. Yapılan bir vaka kontrol çalışmasında prostat kanserli hastalarda serum likopen seviyelerinin önemli derecede azaldığı görülmüştür. Bu çalışma sonucunda: Kanserin likopen emilimini bozduğu ve ya prostat kanserinde likopen kullanımının arttığı sonucuna varılmıştır (101).

### 1.6. Genistein

Genistein (4',5,7,-trihidroksiizoflavon), anti-oksidan, anti-tümör ve anti-inflamatuvar özellikleri bulunan, izoflavon yapısında bir fitoöstrojendir (121). Genistein bitkisel kaynaklı, difenolik bir molekül olup yapı ve fonksiyon olarak 17 $\beta$ -östradiole benzerlik göstermektedir (Şekil) (122).



Şekil 4. Genistein ve 17 $\beta$ -östradiolün kimyasal yapısı (15).

Genistein, bifenolik yapısından dolayı östrojen reseptörlerine bağlanarak endojen östrojenin etkilerine benzeyen veya etkilerini düzenleyen östrojen reseptörlerine agonisti veya antagonisti olarak işlev görebilmektedir (123). Genistein aynı zamanda progesteron, androjen ve oksitosin reseptör ekspresyonunu

etkilemektedir (124). Diğer izoflavonlarda olduğu gibi başlıca kaynak soya ürünleridir (125).

Genistein serbest radikallerin temizlenmesinde görev almakta ve böylelikle DNA hasarına karşı hücreyi korumaktadır (126). Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve redüktaz gibi çeşitli antioksidan enzimleri stimüle etmektedir (127). Genistein, bir transkripsiyon faktörü olan ve sitokinler, hücre yüzey reseptörleri, adhezyon molekülleri ve akut faz proteinleri gibi inflamasyonla ilişkili çeşitli düzenlenebilir genlerin ekspresyonunda önemli bir rol oynayan NFκ-B'yi inhibe eder (128).

Her ne kadar genisteinin biyolojik aktivitesi çoğunlukla östrojen reseptörlerine olan kompetatif affinitesi ile ilişkilendirilse de, genistein aynı zamanda apoptozis, hücre büyümesinin düzenlenmesi ve diğer sinyal yollarıyla etkileşmek gibi biyokimyasal mekanizmalarla, belki de östrojenik aktivitesinden bağımsız olarak kanser riskini azaltmaktadır. Genisteinin, kanser hücrelerinde sıklıkla aşırı miktarda bulunan bir enzim olan tirozin protein kinazın spesifik bir inhibitörü olduğunun gösterilmesi farklı koruyucu mekanizmaların araştırılmasının yolunu açmıştır (129). Yapılan çeşitli çalışmalarda genisteinin, mitojen aktive eden kinaz (MAPK), ribozomal S6 kinaz, DNA topoizomera I ve II gibi sinyal iletiminde görevli, hücre farklılaşması ve proliferasyonunda etkili çeşitli enzimlerin inhibitörü olduğu gösterilmiştir (130-132).

Göreceli olarak fazla miktarda soya ihtiva eden yiyecek tüketen Asyalı kadınlar, Amerika'ya yerleşmiş ve batılı beslenme alışkanlıklarını benimsemiş ikinci kuşak Asyalı göçmen kadınlar ile karşılaştırıldığında meme kanseri insidansı oldukça düşük bulunmuştur (133). Diyet ile soya alımı ile azalmış endometriyum kanser insidansı da bildirilmiştir (134). İzoflavonlardan zengin diyetle beslenen ülkelerde, batı ülkelerine göre meme ve endometrial kanserlerinin yanı sıra prostat kanser oranının da düşük olması izoflavonların östrojenik etkilerinin yanı sıra androjen reseptörleri ile ilişkili hastalıklarda faydalı etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Kompetatif radyoligand bağlanma analizlerinde, fitoöstrojenler androjen reseptörlerine bağlanma göstermişlerdir. Ancak fitoöstrojenlerin anti-androjenik etkilerinin moleküler mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (135). Spontan prostat kanseri oluşan transjenik farelerde doza bağlı olarak genisteinin

adenokarsinom gelişimini önemli ölçüde azalttığı ortaya konulmuştur (136). Çalışmalar genisteinin meme ve prostat gibi hormona bağlı kanser türlerinin yanısıra, mide, mesane, kolon, rektum, karaciğer ve pankreas gibi diğer kanser türlerine karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir (137-142).

Genisteinin, karaciğer ve yağ dokusunda lipid metabolizmasına direkt etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Genistein, hepatositlerde glukozun lipitlere dönüşümünü azaltmakta ve ortama serbest yağ asitlerinin salınımını arttırmaktadır (143). Yakın zamanda yapılan iki *in vitro* çalışmada genisteinin rat hepatik steallat hücrelerinin proliferasyon ve aktivasyonunu inhibe ettiği ve karaciğer fibrozisini önleyici potansiyel etkileri olabileceği bildirilmiştir (21, 22).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Deney Hayvanlarının Temini ve Grupların Oluşturulması

Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (FÜHADEK) onayı alındıktan sonra, standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde yapıldı. Bu çalışmada ağırlıkları ortalama 220 gram olan 35 adet Wistar albino cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar 22±1 °C sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık siklusunun sağlandığı ortamda etik kurallara uygun olarak muhafaza edildi. Hayvanların beslenmesinde, standart pellet yemi ve çeşme suyu kullanıldı. Tüm deney süresince ratların kiloları takip edildi.

Ratlar her bir grupta 7 tane olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı:

**Grup I (kontrol grubu) (n=7):** Bazal diyet + 8 hafta boyunca intraperitoneal serum fizyolojik verildi.

**Grup II (tiyoasetamid grubu) (n=7) :** Bazal diyet + 8 hafta boyunca haftada iki kez 200 mg/kg tiyoasetamid intra peritoneal (i.p) + serum fizyolojik i.p verildi.

**Grup III (likopen grubu) (n=7) :** Bazal diyet + 8 hafta boyunca haftada iki kez 200 mg/kg tiyoasetamid i.p + 6 mg/kg/gün likopen p. o verildi.

**Grup IV (genistein grubu) (n=7) :** Bazal diyet + 8 hafta boyunca haftada iki kez 200 mg/kg tiyoasetamid i.p + 1 mg/kg/gün genistein p.o verildi.

**Grup V (likopen + genistein)(n=7) :** Bazal diyet + 8 hafta boyunca haftada iki kez 200 mg/kg tiyoasetamid i.p + 1 mg/kg/gün genistein p.o + günlük 6 mg/kg/gün CA likopen p. o verildi.

Genistein (Bonistein, DSM, Switzerland) %30 luk 0.5 ml dimethyl sulfoxide içerisinde çözdürölüp ratlara gavaj yoluyla verildi. Likopen (Redivivo, DSM, Switzerland) distile suda çözdürölerek gavaj yoluyla verildi. Tiyoasetamid (Sigma-Aldrich Chemical Co. USA) 8 hafta boyunca haftada iki kez 200 mg/kg olacak şekilde hazırlanıp intraperitoneal olarak uygulandı. Bu maddenin hazırlanmasında çözücü olarak distile su kullanıldı.

Deney protokolünün 8. haftası tamamlandıktan sonra ratlar bir gecelik açlığı takiben anestezi altında dekapite edildi ve kan örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri 5000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri analiz edilinceye kadar -20 °C de saklandı. Abdomenleri açılıp karaciğerleri doku bütünlüğü bozulmadan çıkartıldıktan sonra tartıldı ve kaydedildi.

Karaciğerin farklı bölgelerinden doku örnekleri alınıp % 10'luk formalin solüsyonu ile tespit edildi. Aynı gün Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında parafin blokları hazırlandı.

## **2.2. Biyokimyasal Analizlerin Yapılması**

Serum AST, ALT, GGT ve LDH düzeyleri Olympus AU 600 otoanalizörle Olympus kitler kullanılarak çalışıldı. Serum GSH-Px uygun ticari kit kullanılarak ELİSA yöntemiyle çalışıldı. Doku GSH-Px (Anti-Glutathione Peroxidase 1 antibody, Abcam, Cambridge, UK), TNF- $\alpha$  (Anti-TNF alpha antibody, Abcam, Cambridge, UK), TGF- $\beta$  (Anti-TGF beta antibody, Abcam, Cambridge, UK ), NF- $\kappa$ B (Anti-NF $\kappa$ B p65 antibody, Abcam, Cambridge, UK), kollajen tip 1 ( Anti-Collagene type I antibody, Abcam Cambridge, UK) kitleri kullanılarak Western Blot yöntemiyle çalışıldı. Karaciğer dokusunda malondialdehit (MDA) seviyesi yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japan) analiz edildi.

## **2.3. Histopatolojik Değerlendirme**

Parafin ile fikse edilmiş bloklardan beş mikrometre kalınlığında karaciğer kesitleri alınarak konvansiyonel histopatolojik inceleme için Hematoksilin eozin (H&E) ile boyandı. Fibrozis değerlendirilmesi için Masson Trichrom boyaması kullanıldı. Boyanan preparatlar Olympus BX-50 ışık mikroskobu ile x40, x100, x200 ve x400 büyütmelelerde bu konuda uzman patolog tarafından kör olarak incelendi.

H&E ve Masson Trichrom boyları ile boyanan preparatların tüm alanları x400 büyütme ile ışık mikroskobunda incelendi. Histopatolojik değerlendirmede doku fibrozisi metavir skorlama sistemine göre değerlendirildi (144).

Skor 0: Fibrozis yok

Skor 1: Portal bölgelerde genişleme var, septa oluşumu yok

Skor 2: Portal bölgelerde genişleme var, seyrek septa oluşumu var

Skor 3: Belirgin septa oluşumu var, siroz yok

Skor 4: Siroz

İnflamasyon, x400 büyütmede 10 rasgele alanda  $\text{mm}^2$  de inflamatuvar hücreler sayılarak ortalaması alındı ve  $\text{mm}^2$  deki inflamatuvar hücre sayısı belirlendi. Nekroz,  $\text{mm}^2$  deki nekrotik odak sayısı olarak belirlendi (145).

#### **2.4. İmmunohistokimyasal İnceleme**

Hepatik stellat hücrelerinin (HSH) aktivasyonunu göstermek için karaciğer dokusu immunohistokimyasal olarak  $\alpha$ -SMA ( $\alpha$ -smooth muscle actin) ile boyandı. Karaciğer dokusunda  $\alpha$ -SMA reaktif HSH'nin varlığı semikantitatif olarak skorlandı (146).

Skor 0: Boyanma yok veya çok az sayıda hücrede boyanma var.

Skor 1: Sinuzoidal alanda HSH'lerin % 30'undan azında boyanma var.

Skor 2: Sinuzoidal alanda HSH'lerin % 31-60'ında boyanma var.

Skor 3: Sinuzoidal alanda HSH'lerin % 61-90'ında boyanma var.

Skor 4: Sinuzoidal alanda HSH'lerin % 90'ından fazlasında diffüz boyanma var.

#### **2.5. İstatistiksel Analiz**

Gruplardan elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 13.0 paket programı kullanıldı. Parametreler değerlendirilirken gruplardan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $p < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Bazal ve haftalık ağırlık ölçümleri

Çalışma 35 adet Wistar albino cinsi rat üzerinde yapıldı. Çalışmanın 6. haftasında 3. gruptan ve 5. gruptan birer adet, 8. haftasında 5. gruptan 1 rat eksitus oldu. Gruplar arasında ratların bazal ağırlıklarının ortalaması yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Çalışma sonunda kontrol grubunun ağırlık ortalamasının TAA ( $p<0.05$ ) ve TAA+L ( $p<0.05$ ) grubuna anlamlı derecede ağırlık artışı saptandı. Grupların karaciğer ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 2.** Gruplardaki rat ve karaciğer ağırlıkları\*

Grup	Bazal ağırlık (gr)	Son ağırlık (gr)	Karaciğer Ağırlığı (gr)
<b>Grup 1</b>			
(Kontrol)	218.29±7.73	280.57±18.18 <sup>a</sup>	9.51±0.48
<b>Grup 2</b>			
(TAA)	219.71±14.50	221.29±6.69 <sup>b</sup>	10.12±0.94
<b>Grup 3</b>			
(TAA+Lik)	218.14±7.40	238.67±3.05 <sup>b</sup>	10.92±0.27
<b>Grup 4</b>			
(TAA+Gen)	219±5.85	254±8.18 <sup>a,b</sup>	9.82±0.69
<b>Grup 5</b>			
(TAA+Lik+Gen)	219.29±8.73	249±16.62 <sup>a,b</sup>	10.68±1.1

\* Veriler ortalama ± Standart hata olarak sunulmuştur.

a–d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiki olarak anlamlıdır.  $P<0.05$

#### 3.2. Karaciğer ağırlıkları

Gruplar arasında başlangıç karaciğer ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Çalışma sonunda TAA ve TAA+L gruplarında diğer gruplarla karşılaştırıldığında kilo artışının anlamlı oranda daha az olduğu görüldü ( $P<0.05$ )

### 3.3. Biyokimyasal ölçümler

Tablo 3. Gruplara ait biyokimya sonuçlar

	Grup 1 kontrol	Grup 2 TAA	Grup 3 TAA+L	Grup 4 TAA+ G	Grup 5 TAA+L+G
ALT(U/L)	74.14±3.27	101.83±8.20***	82.75±9.23 <sup>#</sup>	74.71±5.23 <sup>###</sup>	88.33±11.78 <sup>#</sup>
AST(U/L)	160.5±21.3	324.17±20.7***	182.75±55.79 <sup>#</sup>	178.29±12.21 <sup>#</sup>	184.67±43.70 <sup>#</sup>
GGT(U/L)	0.43±0.30	2.83±1.512* *	0.25±0.25 <sup>##</sup>	0.57±0.30 <sup>###</sup>	0.33±0.33 <sup>##</sup>
LDH(U/L)	2269±385	6504±929* *	3179±1487 <sup>#</sup>	2302±713 <sup>###</sup>	2034±676 <sup>##</sup>
GSH-Px (serum)	1472±262	920±171	1156±97	1032±82	1099±140
GSH-Px (Doku)	100±6.16	59.19±10.73***	81.13±10.35 <sup>#†</sup>	78.23±4.34 <sup>#††</sup>	105.13±2.69 <sup>###</sup>
TNF- $\alpha$ (Doku)	100±13.4	256.6±11.03***	183.39±4.82 <sup>###††</sup>	188.9±15.4 <sup>###†††</sup>	131.79±3.14 <sup>###</sup>
TGF- $\beta$ (Doku)	100±3.80	165.64±3.62***	130.45±8.33 <sup>###†</sup>	133.87±8.19 <sup>###††</sup>	110.63±6.10 <sup>###</sup>
NF- $\kappa$ B (Doku)	100±10.66	245.8±10.1***	170±12.32 <sup>###††</sup>	147.84±24.60 <sup>###†</sup>	103.73±3.78 <sup>###</sup>
MDA(nmol/gr) (Doku)	11.09±0.55	21.08±1.01***	15.66±0.47 <sup>###</sup>	16.83±0.94 <sup>##</sup>	14.39±0.85 <sup>###</sup>
Kollajen tip 1 (Doku)	100±2.59	131.43±4.13***	119.07±6.16 <sup>#††</sup>	116.79±3.31 <sup>#†</sup>	101.23±36.9 <sup>###</sup>

Veriler ortalama  $\pm$  Standart hata olarak sunulmuştur.

\*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında : \*p<0.05

<sup>#</sup>TAA grubu ile karşılaştırıldığında : <sup>#</sup>p<0.05

<sup>†</sup>TAA+L +G grubu ile karşılaştırıldığında : <sup>†</sup>p<0.05

TAA: Tiyoasetamid , L: likopen, G: Genistein.

\* \* p<0.01

<sup>##</sup> p<0.01

<sup>††</sup>p<0.01

\* \* \* p<0.001

<sup>###</sup>p<0.001

<sup>†††</sup>p<0.001

#### 3.3.1. Biyokimyasal parametreler

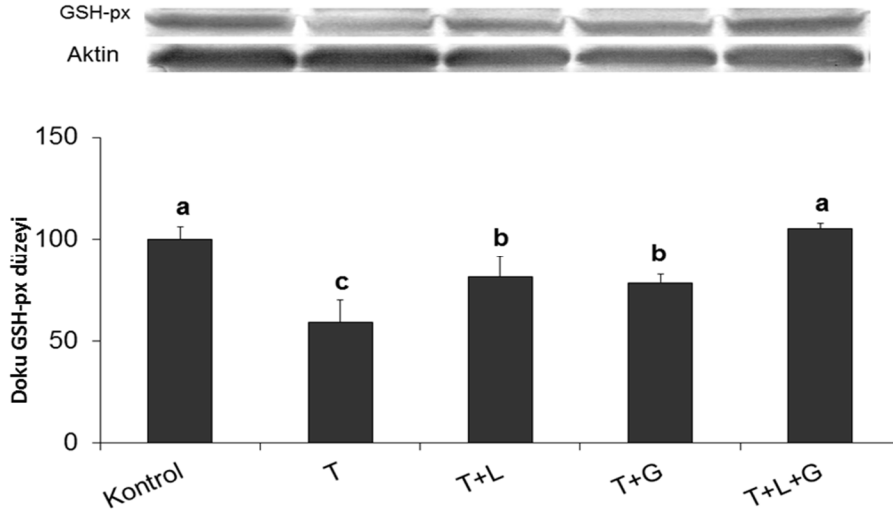
Çalışmamızda TAA grubunda ALT (p<0.001), AST (p<0.001), LDH (p<0.01) ve GGT (p<0.001) değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı. TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G gruplarında ALT (sırasıyla p<0.05, p<0.001 ve p<0.05) , AST (p<0.05), GGT (p<0.01) ve LDH (sırasıyla p<0.05, p<0.01, p<0.01) değerleri TAA grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düşüş saptandı. TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (P>0.05).

#### 3.3.2. Serum GSH-Px düzeyi

Çalışmamızda TAA+L, TAA+G ve TAA+ L+G gruplarında serum GSH-Px düzeyleri TAA grubuyla karşılaştırıldığında daha yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (P>0.05).

### 3.3.3. Doku GSH-Px düzeyleri

Çalışmamızda TAA grubunda, kontrol grubuna göre doku GSH-Px düzeyinde anlamlı derecede düşüş saptandı ( $P<0.001$ ). TAA grubuna göre, TAA+L ( $P<0.05$ ), TAA+G ( $P<0.05$ ) ve TAA+L+G ( $P<0.001$ ) gruplarında GSH-Px düzeylerinde anlamlı artış saptandı.



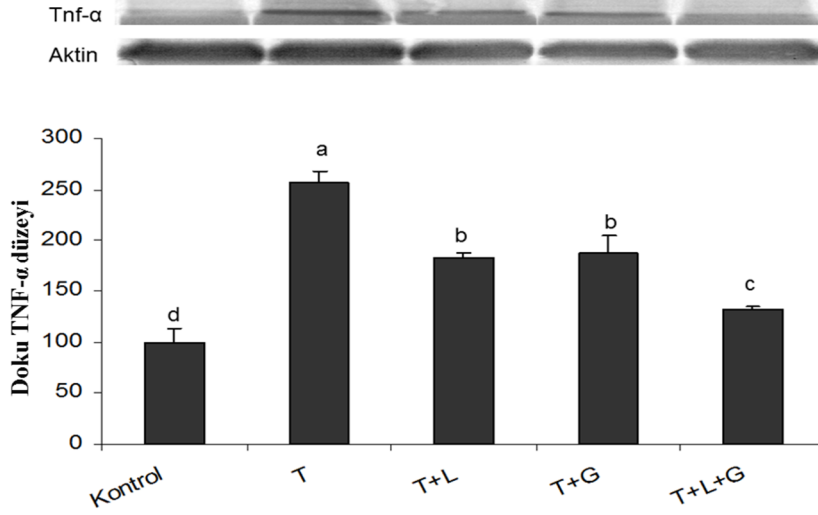
a–d: Farklı harfi taşıyan gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 5.** Gruplara ait doku GSH-Px düzeyleri.

Çalışmamızda TAA+L ve TAA+G grupları arasında GSH-Px bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). TAA+L ve TAA+G gruplarında doku GSH-Px düzeyleri kontrol grubu ve TAA+L+G grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı ( $p<0.05$ ). TAA+L+G grubunda GSH-Px düzeyi bakımından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

### 3.3.4. Doku TNF- $\alpha$ düzeyleri

Doku TNF- $\alpha$  düzeyi TAA grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0.001$ ). TAA+L ve TAA+G grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). TAA+L ve TAA+G gruplarında doku TNF- $\alpha$  düzeyleri TAA+L+G grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0.01$  ve  $p<0.001$ ). TAA+L+G grubunda doku TNF- $\alpha$  düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ( $p<0.05$ ).

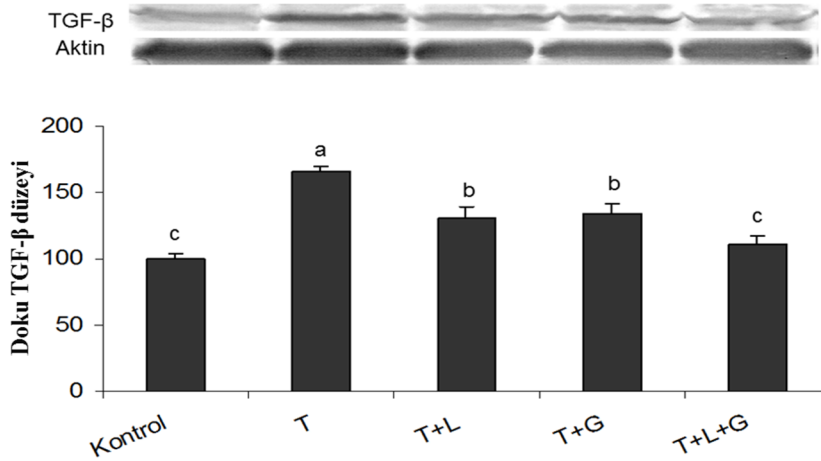


a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 6.** Gruplara ait doku TNF- $\alpha$  düzeyleri.

### 3.3.5. Doku TGF- $\beta$ düzeyleri

Çalışmamızda TAA grubunda kontrol grubu, TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G gruplarıyla karşılaştırıldığında Doku TGF- $\beta$  düzeyinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). TAA+L ve TAA+G grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ). TAA+L+G grubunda, TAA+L ve TAA+G gruplarına göre TGF- $\beta$  düzeyi anlamlı derecede düşüktü ( $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$ ). TAA+L+G grubunda doku TGF- $\beta$  düzeyi bakımından kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

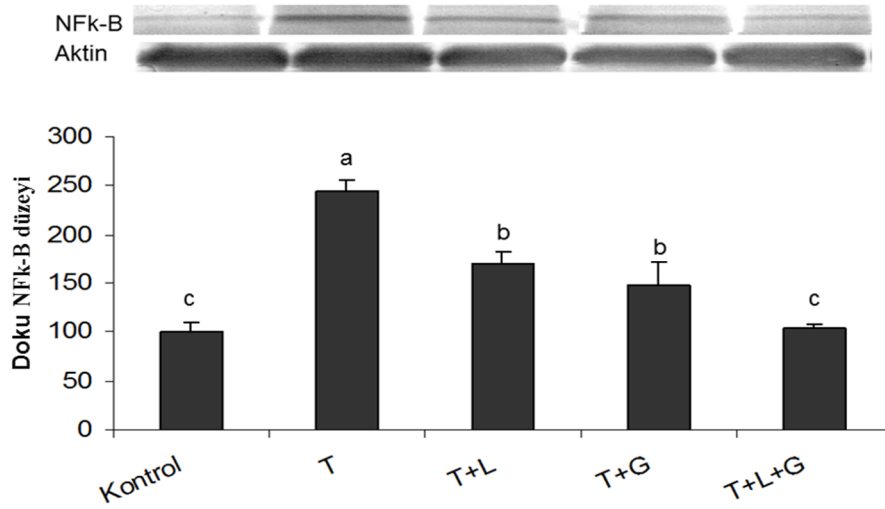


a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 7.** Gruplara ait doku TGF- $\beta$  düzeyleri.

### 3.3.6. Doku NF-κB düzeyleri

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TAA grubunda doku NF-κB düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G gruplarında doku NF-κB düzeyinde TAA grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşüş olduğu gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). TAA+L ve TAA+G gruplarında doku NF-κB düzeyleri TAA+L+G grubuna göre daha anlamlı olarak daha yüksek saptandı. ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ). TAA+L ve TAA+G grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ). TAA+L+G ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

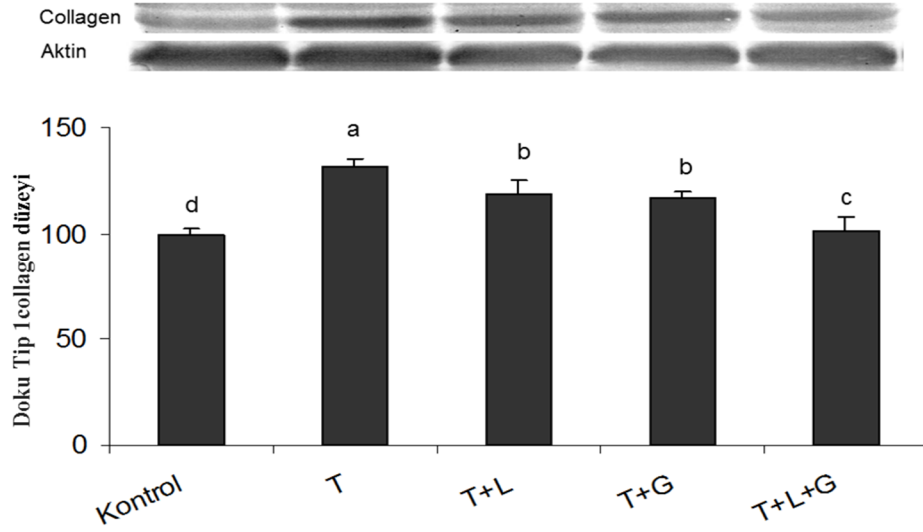


a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 8.** Gruplara ait Doku NFκB düzeyleri

### 3.3.7. Doku tip 1 kollajen düzeyleri

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TAA grubunda doku tip 1 kollajen düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G gruplarında TAA grubuyla karşılaştırıldığında doku tip 1 kollajen düzeyinde anlamlı olarak düşüş olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  ve  $p < 0.001$ ). TAA+L+G grubunda, TAA+L ve TAA+G gruplarına göre doku tip 1 kollajen düzeyi anlamlı derecede daha düşüktü ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ). TAA+L ve TAA+G grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

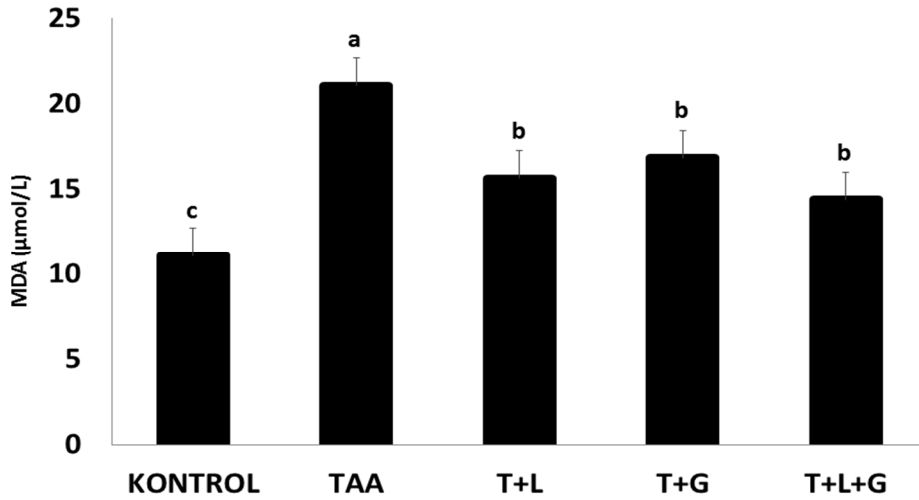


a-d: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 9.** Gruplara ait doku kollajen tip 1 düzeyleri

### 3.3.8. lipid peroksidasyonu bulguları

Karaciğer dokusunda MDA HPLC ile ölçüldü. TAA grubunda MDA düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p < 0.001$ ). TAA+L,



a-d: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır.

**Şekil 10.** Gruplara ait MDA düzeyleri.

Çalışmamızda TAA+G, TAA+L+G gruplarında, TAA grubuna göre MDA düzeyinde anlamlı olarak azalma saptandı ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$ ). TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ )

### 3.4. Histopatolojik bulgular

**Tablo 4.** Gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları

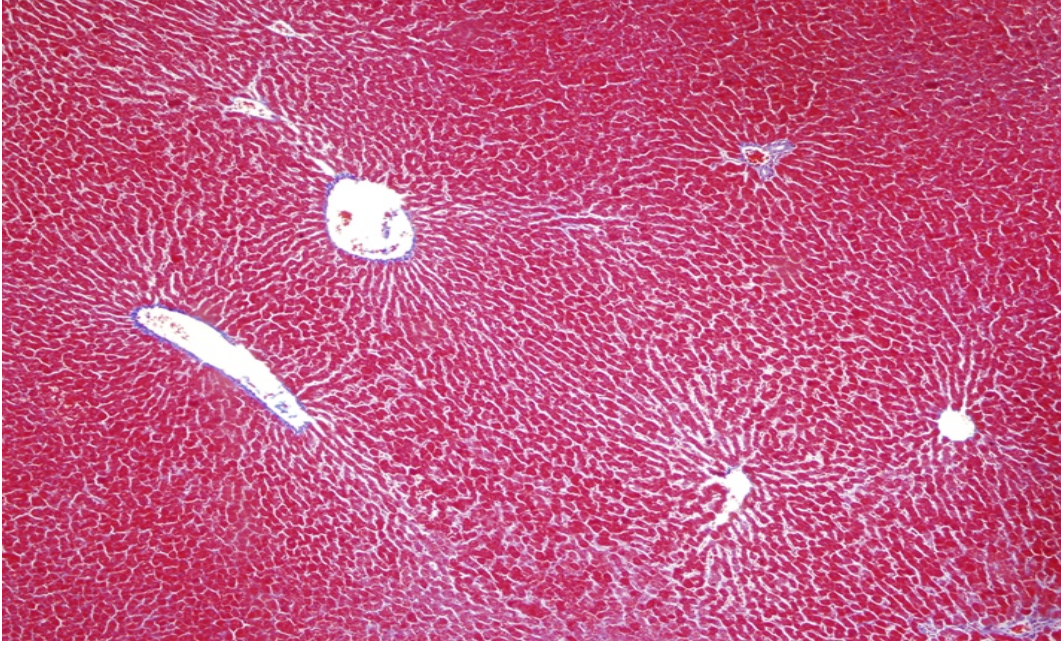
	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
	<b>kontrol</b>	<b>TAA</b>	<b>TAA+L</b>	<b>TAA+ G</b>	<b>TAA+L+G</b>
<b>Fibrozis</b>	0	3.29±0.18***	1.58±0.20###	0,72±0.184###†	0.43±0.20####†††
<b>İnflamasyon</b>	1.97±0.24	7.64±0.87***	4.23±0.40###	3.43±0.35###†††	2.84±0.38###†††
<b>Nekroz</b>	0.043±0.029	0.94±0.25***	0,80±0.164	0.23±0.05##	0.17±0.04##
<b>α-SMA</b>	0	3.43±0.20***	1.86±0.14###	0.57±0.20###	0.43±0.20###†

\*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında : \*p<0.05      \* \* p<0.01      \* \* \* p<0.001  
#TAA grubu ile karşılaştırıldığında : #p<0.05      ## p<0.01      ### p<0.001  
†TAA+L grubu ile karşılaştırıldığında : †p<0.05      †† p<0.01      ††† p<0.001  
TAA: Tiyoasetamid, L: likopen, G: Genistein

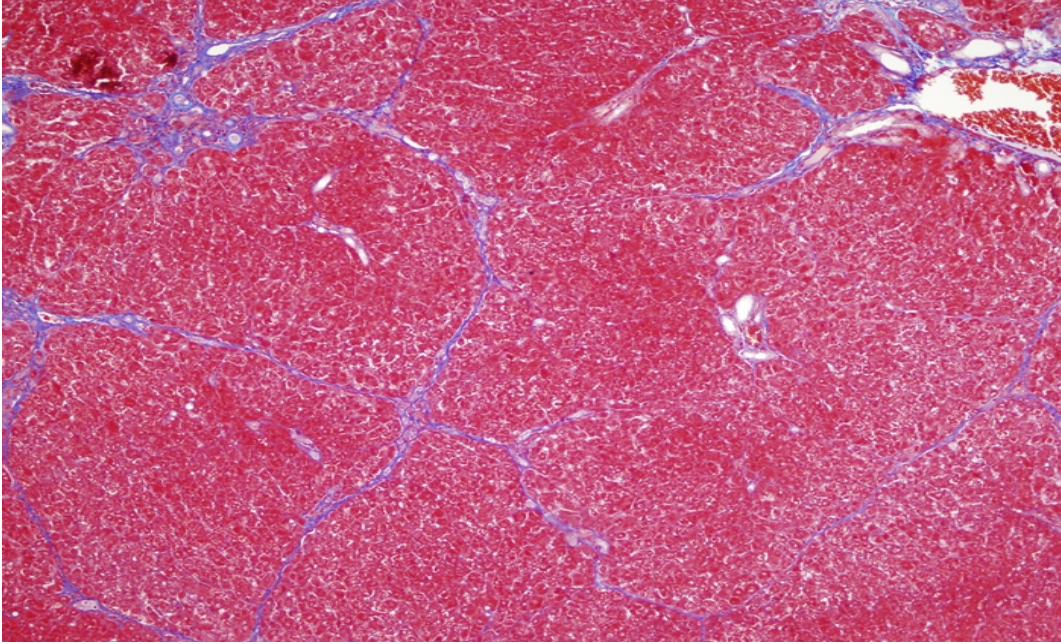
Histopatolojik değerlendirmede doku fibrozisi metavir skorlama sistemine göre değerlendirildi (144). HSH aktivasyonunu göstermek için karaciğer dokusu immunohistokimyasal olarak α-SMA (α-smooth muscle actin) ile boyandı. Karaciğer dokusunda α-SMA reaktif HSH'nin varlığı semikantitatif olarak skorlandı (145).

Histopatolojik değerlendirme sonucunda sonucunda TAA grubunda belirgin fibrozis ve siroz oluşumu görüldü (3.29±0.118). TAA grubunda kontrol grubuna göre fibrozis, inflamasyon ve nekrozda anlamlı derecede artış görüldü (p<0.001). TAA+L, TAA+G, TAA+L+G gruplarında fibrozis gelişiminin ve inflamasyonun TAA grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi (p<0.001). TAA+G ve TAA+L+ G gruplarında, TAA+L grubu ile karşılaştırıldığında fibrozis gelişiminin daha az olduğu görüldü (p<0.05 ve p<0.001). TAA+G ve TAA+L+G gruplarında fibrozis skoru bakımından anlamlı fark yoktu (p>0.05).

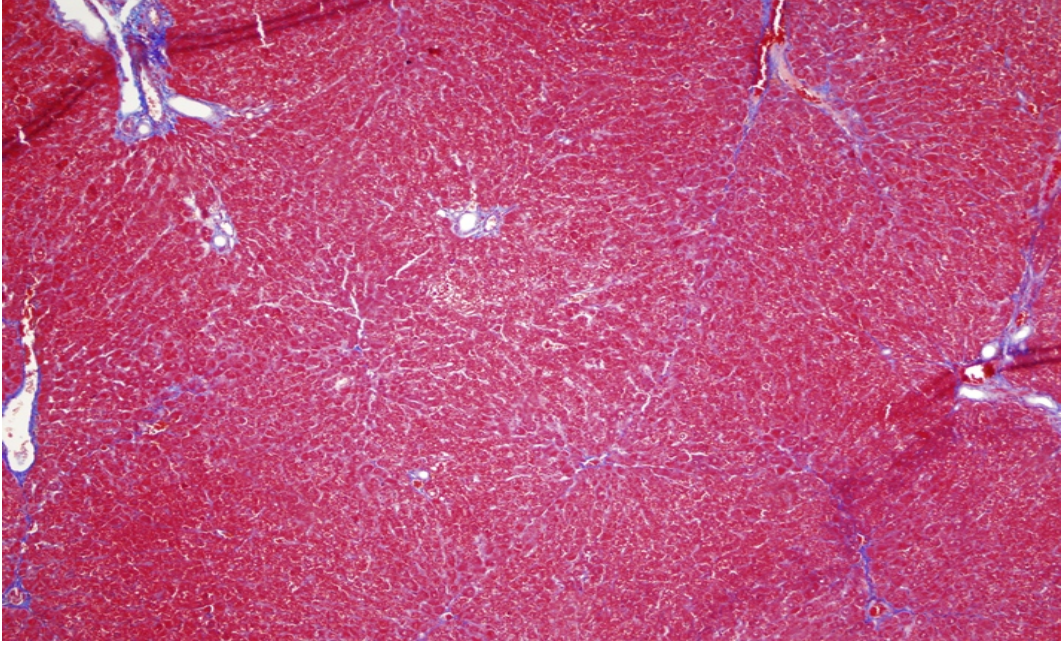
İmmunohistokimyasal incelemede α-SMA reaktif HSH sayısında kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edildi (p<0.001). TAA+L, TAA+G ve TAA+L+G gruplarında TAA ile karşılaştırıldığında aktin boyanma anlamlı derecede daha azdı (p<0.001). TAA+L ve TAA+G arasında anlamlı farklılık yokken, TAA+L+G grubunda TAA+L grubuna göre aktin boyanması daha azdı (p<0.001).



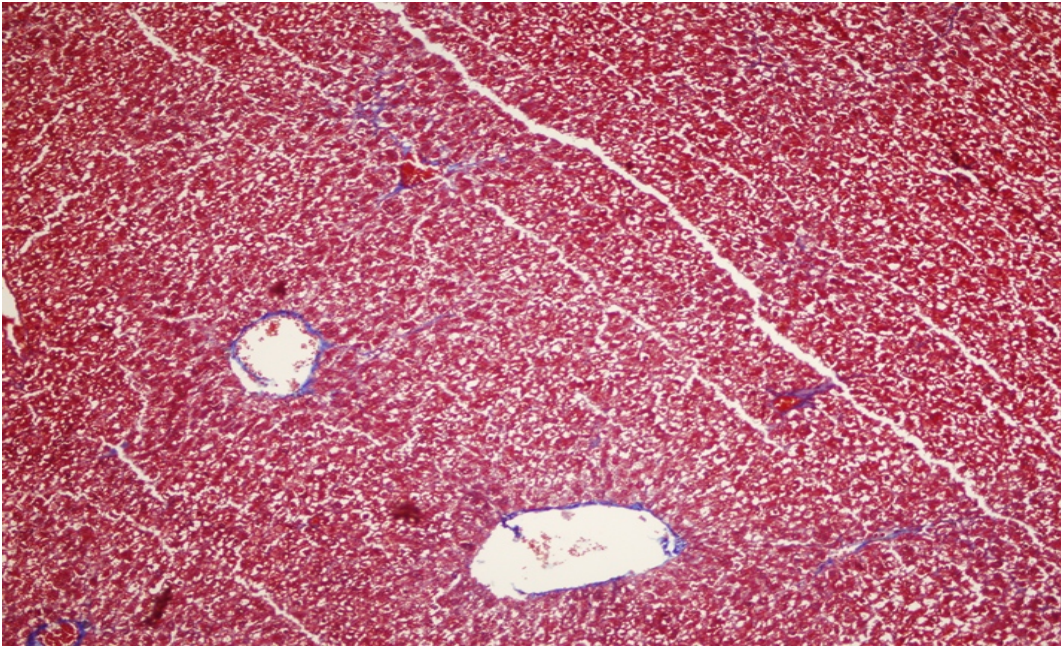
**Şekil 11.** Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (H&E, x200).



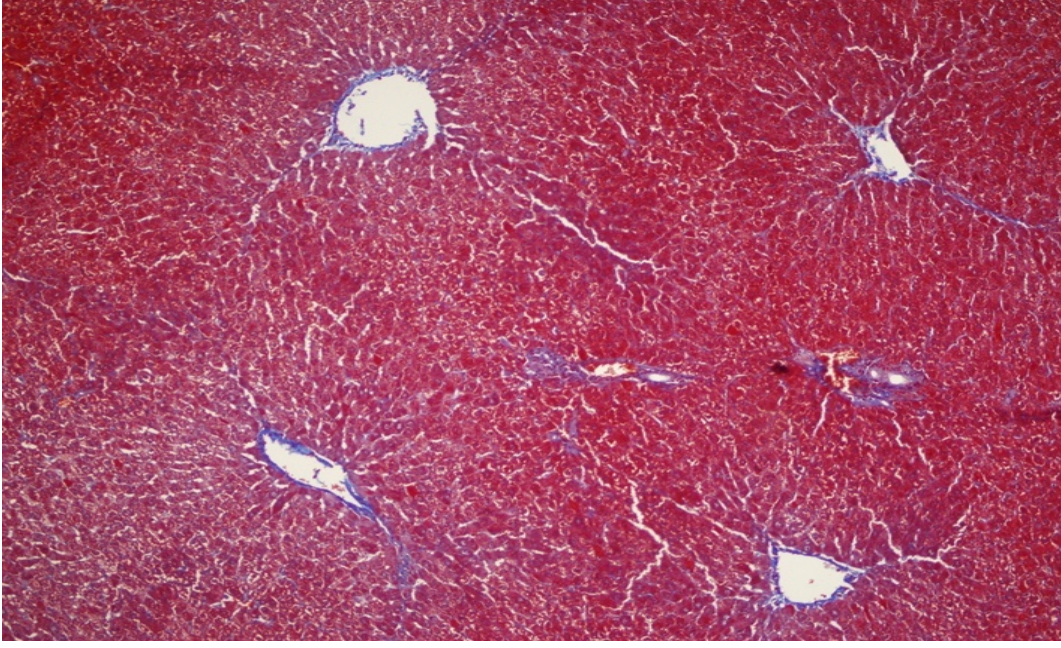
**Şekil 12.** TAA grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200). Belirgin fibrozis ve rejenerasyon nodülleri oluşumu görülmektedir.



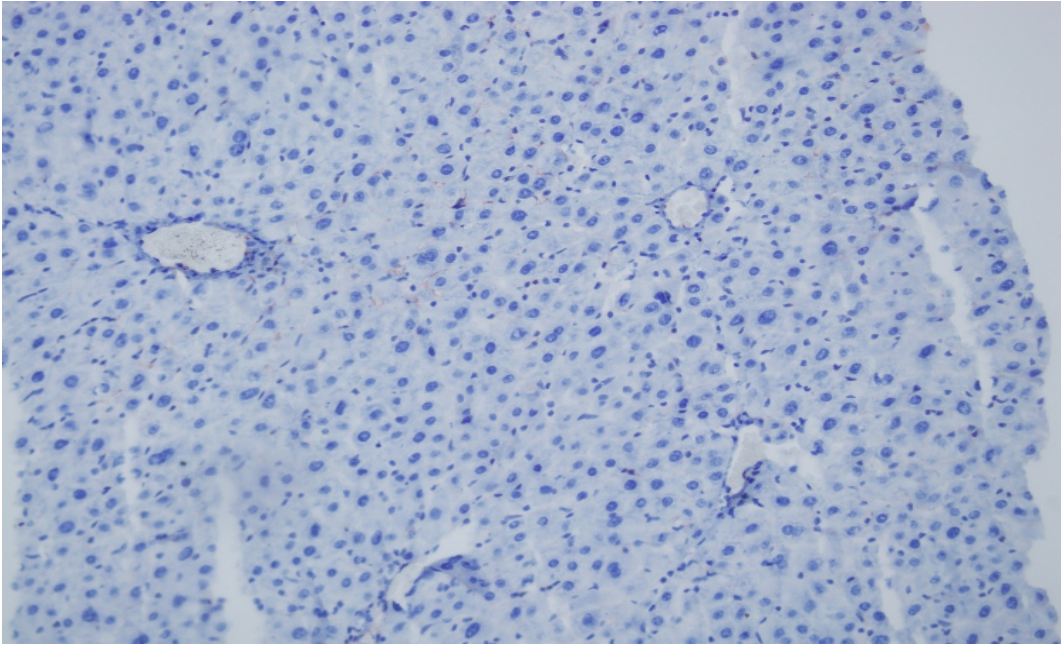
**Şekil 13.** TAA+Likopen grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200). Likopen tedavisi ile fibrozisde belirgin azalma olduğu ve rejenerasyon nodüllerinin kaybolduğu görülmektedir.



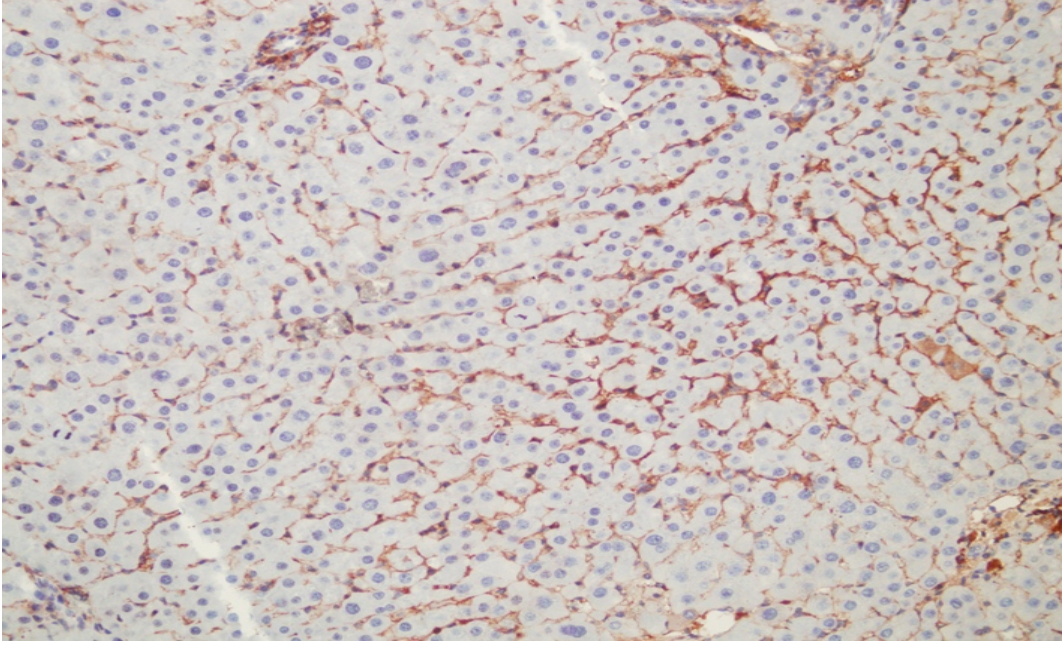
**Şekil 14.** TAA+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200). Şekilde fibrozis oluşumunda belirgin azalma olduğu ve rejenerasyon nodüllerinin kaybolduğu görülmektedir.



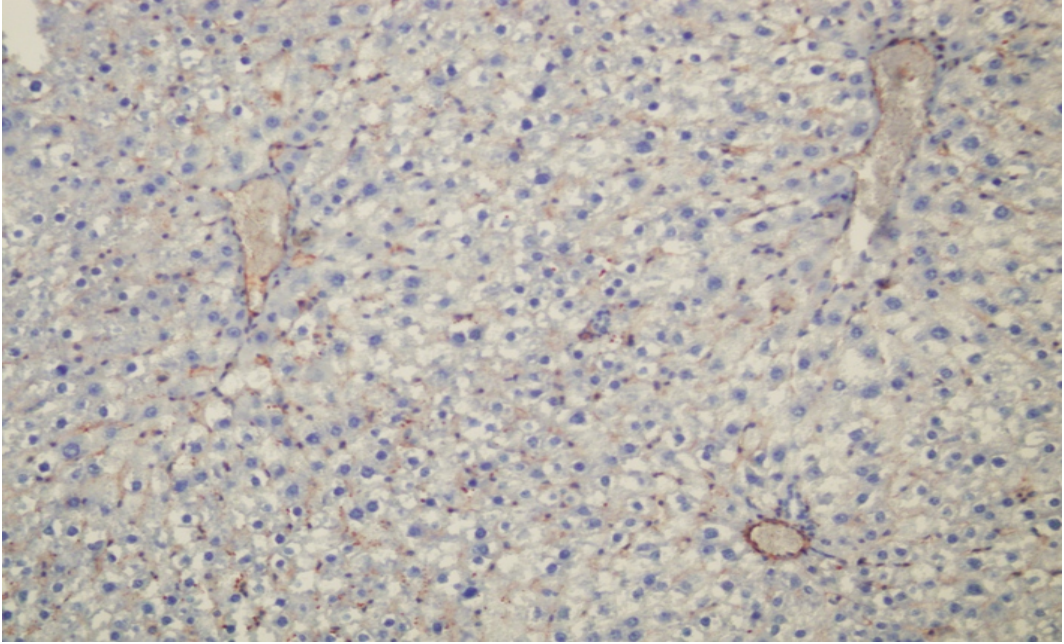
**Şekil 15.** TAA+likopen+genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Masson Trichrom, x200) . Şekilde fibrozis oluşumunda belirgin azalma olduğu ve rejenerasyon nodüllerinin kaybolduğu görülmektedir.



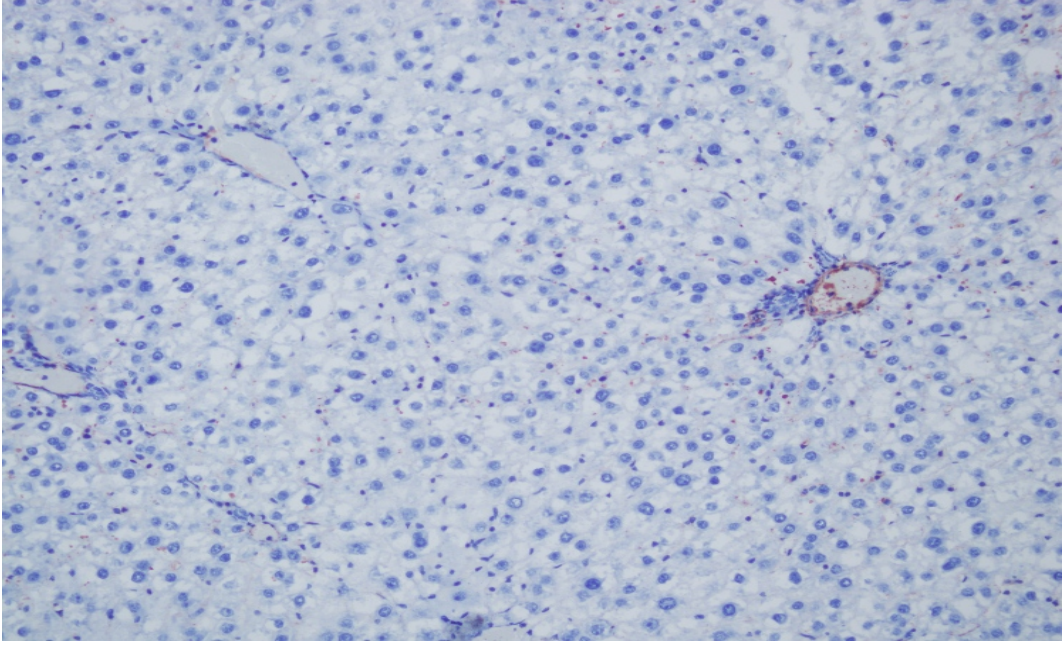
**Şekil 16.** Kontrol grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü. (aktin boyası, x200 ).



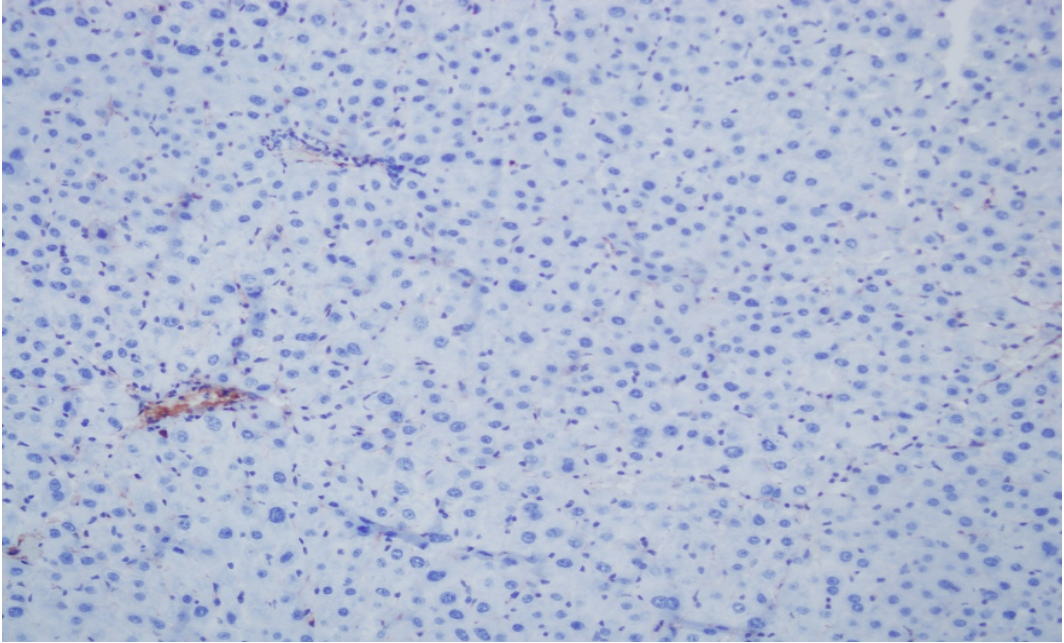
**Şekil 17.** TAA grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası x200). Şekilde immunohistokimyasal incelemede  $\alpha$ -SMA ekspresyonunda belirgin artış görülmektedir.



**Şekil 18.** TAA+likopen grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası, x200). Şekilde immunohistokimyasal incelemede likopen tedavisinin TAAA verilen ratlarda  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu azalttığı görülmektedir.



**Şekil 19.** TAA+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü ( aktin boyası, x200). Şekilde immunohistokimyasal incelemede genistein tedavisinin TAA verilen ratlarda  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu likopene göre daha fazla azalttığı görülmektedir.



**Şekil 20.** TAA+Likopen+Genistein grubu ratlara ait karaciğer dokusunun histopatolojik görünümü (aktin boyası, x200). İmmunohistokimyasal incelemede genistein+likopen tedavisinin  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu genisteine benzer oranda azalttığı görülmektedir.

#### 4. TARTIŞMA

Karaciğerde inflamasyonu ve lipid peroksidasyonunu artırarak karaciğer hasarı oluşturan TAA deneysel siroz modelinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da 8 hafta sonunda TAA verilen ratlarda karaciğerde fibrozis ve rejenerasyon nodülleri oluşturduk. İmmünohistokimyasal incelemede de dokuda HSH aktivasyonunun göstergesi olan  $\alpha$ -SMA ekspresyonunda ve fibrozis belirteci olan tip 1 kollajen düzeyinde anlamlı derecede artış saptadık. Aynı şekilde karaciğer parankim hasarının değerlendirilmesinde kullanılan serum ALT, AST, GGT ve LDH düzeylerinde anlamlı artış saptadık. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, dokuda özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı en belirgin savunma sistemi olan antioksidan enzim GSH-Px düzeyinde anlamlı derecede düşüş saptadık. Dokuda TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$ , MDA düzeylerinde anlamlı derecede artış tespit ettik. Literatürde TAA ile karaciğer hasarı oluşturulmuş çok sayıda deneysel çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (147-158).

Çalışmamızda likopen, genistein ve likopen+genistein verilen gruplarda tek başına TAA verilen grupla karşılaştırıldığında karaciğer dokusunda fibrozis skorunun anlamlı olarak daha az olduğunu gördük. İmmünohistokimyasal incelemede  $\alpha$ -SMA ekspresyonunun anlamlı olarak daha az olduğunu tespit ettik. Bu üç grupta histopatolojik incelemeyi destekler nitelikte, dokuda fibrozisin belirteci olan tip 1 kollajen düzeyi de TAA grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu tespit ettik. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında genistein verilen grupta kollajen ve  $\alpha$ -SMA skorları bakımından anlamlı fark saptamadık. Ancak likopen verilen grupta fibrozis ve  $\alpha$ -SMA skorlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu saptadık. Genisteinin likopene göre fibrozis ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu azaltmada daha etkili olduğunu gördük. Salas ve ark. (159) genisteinin biliyer obstrüksiyon ile oluşturulmuş fibrozis ve kolestaza karşı koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada genisteinin HSH aktivasyonunu inhibe ederek karaciğerde tip 1 kollajen miktarını azalttığını ve karaciğer fibrozunu önlediğini belirtmişlerdir. Wardi ve ark. (147) beta-karotenin TAA ile oluşturulmuş deneysel karaciğer sirozuna karşı rolünü araştırdıkları çalışmada beta karoten ve likopenin HSH aktivasyonu ve oksidatif stresi azaltarak karaciğer fibrozisini ve kollajen metabolizmasının ürünü olan hidroksiprolin düzeyini azalttığını, ancak likopen

verilen ratlarda fibrozis skorundaki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı derecede olmadığını bildirmişlerdir. Bahçecioğlu ve ark. (160), yağdan zengin diyetle oluşturdukları deneysel non-alkolik yağlı karaciğer modelinde likopenin lipid peroksidasyonunu ve inflamasyonu azaltarak yağlanmayı önlediğini ve  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Liu ve ark. (22) yaptıkları bir in vitro çalışmada genisteinin PDGF ile uyarılmış HSH proliferasyonunu ve dolayısıyla  $\alpha$ -SMA ekspresyonunu anlamlı derecede azalttığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da likopen ve genisteinin karaciğerde fibrozisi azalttığını, ancak genisteinin fibrozisi önlemede likopen'e göre daha etkili olduğunu tespit ettik. Muhtemelen likopen ve genisteinin bu etkileri, lipid peroksidasyonunu ve inflamasyonu azaltarak HSH aktivasyonunu önlemelerine bağlıdır.

Çalışmamızda TAA ile beraber verilen likopen, genistein ve likopen+genisteinin, serum ALT, AST ve GGT düzeylerinin TAA grubuna göre anlamlı derecede düşürdüklerini saptadık. Bu sonuç, histopatolojik incelemede gözlemlediğimiz gibi, likopen ve genisteinin karaciğer parankim hasarına karşı koruyucu etki sağladıkları görüşünü desteklemektedir. Literatürde likopen ve genisteinin karaciğer hasarının azaltarak serum ALT ve AST düzeylerini düşürdükleri ile ilgili çok sayıda çalışma vardır (160-164).

Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$  proinflamatuvar bir sitokindir. Apoptozis ve hepatosit hasarında rol alır. Ayrıca TNF- $\alpha$  organizmaların çoğunda bulunan ve özellikle çeşitli inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda görevli bir transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B aktivasyonunu uyarır. Fibrozis sürecinde aktive olan NF- $\kappa$ B bir yandan HSH proliferasyonuna yol açarken, bir yandan da HSH'nin apoptozunu engellemektedir (165). Çalışmamızda da likopen ve genisteinin bu iki proinflamatuvar sitokini inhibe ederek inflamasyonu azalttıklarını tespit ettik. Likopen, genistein ve likopen+genistein verilen gruplarda, dokuda TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B düzeylerini TAA grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük saptadık. Literatürde mevcut çalışmalar da likopen ve genisteinin bu iki proinflamatuvar sitokin üzerinde inhibitör etki gösterdiklerini belirtmektedir. Bahçecioğlu ve ark. (160), likopenin non-alkolik yağlı karaciğer modelinde koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, likopenin serum TNF- $\alpha$  düzeyini düşürdüğünü ve inflamasyonu azalttığını saptamışlardır. Wang ve ark. (166), likopen ve domates

özünün deneysel non-alkolik yağlı karaciğer zemininde gelişen hepatokarsinogenezise karşı koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmada, likopenin TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunun inhibe ederek karaciğerde inflamatuvar odakları azalttığını tespit etmişlerdir. Yalnız ve ark. (163), non-alkolik yağlı karaciğer modelinde genisteinin koruyucu rolünü araştırdıkları deneysel bir çalışmada genisteinin plazma TNF- $\alpha$  düzeyini düşürerek inflamasyonu azalttığını ve hepatosteatoza karşı koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Raffoul ve ark. (164), yaptıkları *in vitro* çalışmada radyasyona maruz bırakılan prostat hücrelerinde genisteinin NF- $\kappa$ B'yi inhibe ederek düzenleyici hücre döngü proteinlerindeki radyasyona bağlı değişiklikleri önlediğini tespit etmişlerdir. Likopen ve genisteinin, inflamatuvar ve fibrojenetik sitokinlerin ekspresyonunu sağlayan TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B'yi inhibe etmelerinin, inflamasyonu azaltarak fibrozis oluşumunu önlemelerinde önemli bir mekanizma olduğu düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda likopen ve genisteinin lipid peroksidasyonunu azalttığını saptadık. Likopen, genistein ve likopen+genistein tedavilerinin, TAA verilen grupta karşılaştırıldığında dokuda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyinde anlamlı düşüş sağladıklarını tespit ettik. Likopen ve genisteinin lipid peroksidasyonu ile ilişkileri ile ilgili yapılmış çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Wang ve ark. (166) likopen ve domates özünün deneysel non-alkolik yağlı karaciğere bağlı oluşan hepatokarsinogenezise karşı koruyucu rolünü araştırdıkları çalışmada, likopenin lipid peroksidasyonunu azaltarak doku MDA düzeyinin düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Kuzu ve ark. (162), genisteinin karbon tetraklorürle oluşturulan akut karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada genisteinin doku MDA düzeyini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar dışında literatürde likopen ve genisteinin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiklerini bildiren çok sayıda çalışma vardır (160, 163). Lipit peroksidasyonunun hepatosit zedelenmesinin ana nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Lipit peroksidasyonun ürünlerinden olan MDA'nın kollajen gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu aldehitik ürünlerin profibrojenetik sitokinleri (TGF- $\beta$ 1) salınan kupffer hücrelerini de aktive ettiği bilinmektedir (35). Likopen ve genisteinin, siroz patogenezinde önemli etkenlerden olan lipid peroksidasyonunu

önlemleri, siroza karşı koruyucu etki göstermelerinde temel mekanizmalardan biridir.

Çalışmamızda likopen ve genisteinin lipid peroksidasyonunu azaltmalarının yanısıra, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi ortadan kaldırmada önemli bir antioksidan enzim olan GSH-Px düzeyini de artırdıklarını tespit ettik. Likopen, genistein ve likopen+genistein verilen gruplarda TAA verilen grupla karşılaştırıldığında doku GSH-Px düzeyleri anlamlı olarak daha yüksekti. Likopen ve genisteinin doku GSH-Px düzeyleri üzerindeki etkileri benzer saptandı. Genistein+likopen kombinasyonunun bu iki gruba göre GSH-Px düzeyinde daha fazla artış sağladığını gördük. Serum GSH-Px değerlerinde likopen, genistein ve likopen+genistein verilen gruplarda TAA grubuna göre daha yüksekti, ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildi. Literatürde likopen ve genisteinin GSH-Px düzeyini artırarak antioksidan özellik sergilediğini belirten çok sayıda çalışma vardır. Deng ve ark. (161), likopenin civa ile oluşturulmuş karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini araştırdıkları bir çalışmada, likopenin lipid peroksidasyonunu ve serbest radikal oluşumunu azaltarak, GSH-Px, SOD gibi antioksidan enzim düzeylerinin artırarak hepatotoksititeyi azalttığını saptamışlardır. Hsu ve ark. (167), domates salçasının lipid düşürücü ve antioksidan etkilerini araştırdıkları deneysel bir çalışmada domates salçasının lipid peroksidasyonunu azalttığını, GSH-Px, SOD ve CAT gibi antioksidan enzim düzeylerinin arttırdığını tespit etmişlerdir. Mohamed Salih ve ark. (168), fruktoz ile oluşturulmuş deneysel non-alkolik yağlı karaciğer modelinde genisteini fruktozla beslenen ratlarda doku GSH-Px düzeyini artırdığını, antioksidan ve anti-inflamatuvar etki göstererek hepatosteatoza karşı koruyucu etki sağladığını saptamışlardır. GSH-Px, en çok karaciğer ve eritrositte aktif olarak bulunan ve özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e karşı en belirgin savunma sistemi olduğu düşünülen antioksidan bir enzimdir. Bu sonuçlara göre genistein ve likopenin, lipid peroksidasyonunu azaltmalarının yanısıra, özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi ortadan kaldırmada önemli antioksidan olan GSH-Px düzeyini de artırarak karaciğer hasarında önemli mekanizmalardan biri olan oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiklerini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda likopen ve genisteinin fibrogenesis sürecinde en önemli sitokin olan TGF-β'yı inhibe ederek antifibrotik etki gösterdiklerini saptadık. TGF-β, HSH'nin aktivasyonu, proliferasyonu ve karaciğer dokusunda fibrogenesisde etkili

bir sitokindir (30, 32, 42). Karaciğer fibrozisinin gelişmesinde stellat hücreler tarafından ESM üretilmesi için dominant uyaran TGF- $\beta$ 1'dir (30). TGF- $\beta$  antifibrotik tedavi yaklaşımları içerisinde en kapsamlı araştırılan sitokinlerden biridir. TGF- $\beta$ 'nin yarışmacı reseptör antagonistlerinin karaciğer hasarının başlangıcındaki ve seyirindeki uygulamalarında etkili olduğu bildirilmiştir (171, 172). Çalışmamızda likopen, genistein ve likopen+genistein verilen ratlarda TAA verilen ratlarla karşılaştırıldığında doku TGF- $\beta$  düzeyini anlamlı derecede daha düşük saptadık. Literatürde genistein ve likopenin TGF- $\beta$  düzeyini düşürerek anti-inflamatuvar ve antifibrotik özellik gösterdiklerini belirten çok sayıda çalışma vardır. Palanisamy ve ark. (169), deneysel bir çalışmada genisteinin, fruktozla beslenen ratlarda böbrek dokusunda TGF- $\beta$  ve NF- $\kappa$ B düzeyini azaltarak anti-inflamatuvar ve antifibrotik etki gösterdiğini saptamışlardır. Ji ve ark. (170), genisteinin yağdan zengin diyetle oluşturulan deneysel non-alkolik yağlı karaciğer modelinde koruyucu etkisini araştırdıkları bir çalışmada genisteinin lipid peroksidasyonunu azalttığını ve TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B, IL-6 ve TGF- $\beta$  düzeyinde düşme sağlayarak inflamasyonu azalttığını ve karaciğer hasarına karşı koruyucu etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Likopen ve genisteinin fibrogenesis sürecinde temel sitokinlerden biri olan TGF- $\beta$ 'yi inhibe etmeleri antifibrotik etki göstermelerinde önemli mekanizmalardan biri gibi görünmektedir.

Sonuç olarak; genistein ve likopenin TAA ile oluşturulmuş karaciğer sirozuna karşı önleyici rolleri vardır. Genistein likopene göre daha güçlü koruma sağlamaktadır. Genistein+likopen kombinasyonu genistein tedavisine ek fayda sağlamamaktadır. Likopen ve genistein iki önemli pro-inflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$  ve NF- $\kappa$ B ve profibrogenetik sitokin TGF- $\beta$ 'yi inhibe ederek anti-inflamatuvar ve antifibrotik etki göstermektedir. Ayrıca bu iki madde lipid peroksidasyonunu önleyerek ve antioksidan enzim düzeylerini artırarak oksidatif stresi azaltmaktadır. Genistein ve likopenin siroza karşı koruyucu etkileri muhtemelen oksidatif stresi ve inflamasyonu önlemelerine bağlıdır.

## 5. KAYNAKLAR

1. Ökten A, Demir K, Kaymakoglu S. Kronik hepatitlerin etyolojik dağılımı. Tr J Gastroenteroloji 1997; 8: 9.
2. Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. Karaciğer sirozu. Gastroenterohepatoloji İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2001; 449–500.
3. Memik F, Dolar E. Klinik Gastroenteroloji. Nobel&Güneş Tıp Kitapevi, 2005: 626-653.
4. Prosser CC, Yen RD, Wu J. Molecular therapy for hepatic injury and fibrosis: Where are we? World J Gastroenterol 2006; 12: 509-515.
5. Sinclair AJ, Barnet AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. Br J Hosp Med 1990; 43: 334-344.
6. Shimiziu I. Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection. Current Drug Targets Infectious Disorders 2001; 1: 227-240.
7. Irdale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. J Clin Invest 2007; 117: 539–48.
8. Bruck R, Aeed H, Shirin H, Matas Z, Zaidel L, Avni Y, Halpern Z. The hydroxyl radical scavengers dimethylsulfoxide and dimethylthiourea protect rats against thioacetamide-induced hepatic failure. J Hepatol 1999; 31: 27-38.
9. Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Balkan J, Çevikbas U, Aykaç-Toker G, Uysal M. The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. Human Exp Toxicol 2001; 20: 23-27.
10. Balkan J, Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Çevikbas U, Aykaç-Toker G, Uysal M. Taurine has protective effect against thioacetamide-induced liver cirrhosis by decreasing oxidative stress. Hum Exp Toxicol 2001; 20: 251-254.
11. Natarajan SK, Thomas S, Ramamoorthy S, Basivireddy J, Pulimood AB, Ramachandran A, Balasubramanian KA. Oxidative stress in the development of liver

cirrhosis: A comparison of two different experimental models. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 947-957.

12. Constantinou MA, Theocharis SE, Mikros E. Application of metabonomics on an experimental model of fibrosis and cirrhosis induced by thioacetamide in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 218: 11–19.
13. Unlu NZ, Bohn T, Francis DM, Nagaraja HN, Clinton SK, Schwartz SJ. Lycopene from heatinduced cis-isomer-rich tomato sauce is more bioavailable than from all-trans-rich tomato sauce in human subjects. *Br J Nutr* 2007; 98: 140–146.
14. Britton G. Carotenoids 1: structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J* 1995; 9: 1551–1558.
15. Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1998; 56: 35–41.
16. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 317–331.
17. Mein JR, Lian F, Wang XD. Biological activity of lycopene metabolites: implication for cancer prevention. *Nutr Rev* 2008; 66: 667–683.
18. Park YO, Hwang ES, Moon TW. The effect of lycopene on cell growth and oxidative DNA damage of Hep3B human hepatoma cells. *Biofactors* 2005; 23: 129–139.
19. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 897-904.
20. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002; 60: 205-211.
21. Kang LP, Qi LH, Zhang JP, Shi N, Zhang M, Wu TM, Chen J. Effects of genistein and quercetin on proliferation, collagen synthesis, and type I procollagen mRNA levels of rat hepatic stellate cells. *Acta Pharmacol Sin* 2001; 22: 793-796.
22. Liu XJ, Yang L, Mao YQ, Wang Q, Huang MH, Wang YP, Wu HB. Effects of the tyrosine protein kinase inhibitor genistein on the proliferation, activation of cultured rat hepatic stellate cells. *World J Gastroenterology* 2002; 8: 739-745.

23. Nolte W, Ramadori G. Cirrhosis. Porro G (editor). *Gastroenterology and Hepatology*. New York City: The McGraw-Hill Company, 1999: 549-558.
24. Chung RT, Podolsky DV. Cirrhosis and its complications. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Edition, New York City: The McGraw-Hill Company, 2005; 1858-1859.
25. Stanley NN, Williams AJ, Dewar CA, Blendis LM, Reid L. Hypoxia and hydrothoraces in a case of liver cirrhosis correlation of physiological, radiographic, scintigraphic, and pathological findings. *Thorax* 1977; 32: 457-471.
26. Çakaloğlu Y. Kronik Hepatit. Ökten A (editör). *Gastroenterohepatoloji*. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2001; 387-400.
27. Thomas H, Sciadht L, Knehr M, Oesch F. Effect of diabetes and starvation on the activity of rat liver epoxide hydrolases glutathione S transferases and peroxisomal  $\beta$ -oxidation. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 4291-4297.
28. Paradis V, Dargere D, Vidaud M, De Gouville AC, Huet S, Martinez V, et al. Expression of connective tissue growth factor in experimental rat and human liver fibrosis. *Hepatology* 1999; 30: 968-976.
29. Guido M, Rugge M, Leandro G, Fiel IM, Thung SN. Hepatic stellate cell immunodetection and cirrhotic evolution of viral hepatitis in liver allografts. *Hepatology* 1997; 26: 310-314.
30. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250.
31. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 351-372.
32. Bachem MG, Melchior R, Gressner AM. The role of thrombocytes in liver fibrogenesis: effects of platelet lysate and thrombocyte-derived growth factors on the mitogenic activity and glycosaminoglycan synthesis of cultured rat liver fat storing cells. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27: 555-565.

33. Fischer R, Cariers A, Reinehr R, Haussinger D. Caspase 9-dependent killing of hepatic stellate cells by activated Kupffer cells. *Gastroenterology* 2002; 123: 845-861.
34. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 2002; 123: 1323-1330.
35. Kaçmaz B, Öğüş E, Paşaoğlu H, Kılınç D, Tülek N, Bakır F. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda lipid peroksidasyonu ve oksidasyona direncin incelenmesi. *Viral Hepatit Dergisi* 2001; 7: 374-378.
36. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects of Med* 2000; 21: 49-98.
37. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology* 2002; 35: 62-73.
38. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247- 2250.
39. Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic Fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 223-229.
40. Marra F, Grandaliano G, Valente AJ, Abboud HE. Thrombin stimulates proliferation of liver fat-storing cells and expression of monocyte chemotactic protein-1: potential role in liver injury. *Hepatology* 1995; 22: 780-787.
41. Marra F, DeFranco R, Grappone C, Milani S, Pinzani M, Pellegrini G, et al. Expression of the thrombin receptor in human liver: Up-regulation during acute and chronic injury. *Hepatology* 1998; 27: 462-471.
42. Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Freidman SL, Anania FA. Leptin in hepatic fibrosis: Evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-771.
43. Urtasun R, Nieto N. Hepatic stellate cells and oxidative stres. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 223-230.

44. Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension: stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology* 1997; 25: 2–5.
45. Whalen R, Rockey DC, Friedman SL, Boyer TD. Activation of rat hepatic stellate cells leads to loss of glutathione S-transferases and their enzymatic activity against products of oxidative stress. *Hepatology* 1999; 30: 927–933.
46. Apakkan S, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinazlar inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin J Med Sci* 2001; 2: 332–342.
47. Marra F, Gentilini A, Pinzani M, Choudhury G, Parola M, Herbst H, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase is required for platelet-derived growth factor's actions on hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1997; 112: 1297–1306.
48. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel Patoloji*. Çevikbas U (Çeviren). s.517, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2003.
49. Shimizu I, Mizobuchi Y, Yasuda M, Shiba M, Ma YR, Horie T, et al. Inhibitory effect of oestradiol on activation of rat hepatic stellate cells in vivo and in vitro. *Gut* 1999; 44: 127-136.
50. Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressing effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 1999; 29: 719-727.
51. Vyas Sk, Leyland H, Gentry J, Arthur Mj. Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture. *Gastroenterology* 1995; 109: 889 -898.
52. Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? *N Engl J Med* 2001; 344: 452–454.
53. Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, Clement B, Rissel M, Deugnier Y, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. *Am J Pathol* 1990; 137: 1333-1342.
54. Issa R, Zhou X, Constandinou CM, Fallowfield J, Millward-Sadler H, Gaca MD, et al. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking. *Gastroenterology* 2004; 126: 1795-1808.

55. Üstündağ B, Bahçecioğlu İH, Şahin K, Gülcü F, Düzgün S, Özeran İH, Gürsu MF. Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCL4) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *FU Sağlık Bil Dergisi* 2005; 19: 263-271.
56. Ulusu NN, Sahilli M, Avcı A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, et al. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochem Res* 2003; 28: 815-823.
57. Uchida K. 4-Hydroxy-2-Nonenal: a product and mediator of oxidative stress, *Progr Lip Res* 2003; 569: 1-26.
58. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ. Formation of unique biologically active prostaglandins in vivo by a non-cyclooxygenase free radical and catalyzed mechanism. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1991; 21: 125-128.
59. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995; 35: 21-39.
60. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition* 2002; 18: 872-879.
61. Halliwell B, Gutteridge JM. (editors). The chemistry of free radicals and related reactive species. *Free Radical in Biology and Medicine*, Third ed, Oxford, Oxford University Press, 1999: 30-45.
62. Akkuş I. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1.Baskı, Mimoza Yayınları, 1995: 13-19.
63. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.
64. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol* 2001; 35: 297-306.
65. Wu J, Zern MA. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2000; 35: 665-672.

66. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free radic. Res Commun* 1990; 1: 1-32.
67. Harris ED. Regulation of antioxidant enzyrnes. *Faseb J* 1992; 6: 2675-2683.
68. Guemori L, Arthur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cunny G, Siest G. Biological variability of süperoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 1991; 37: 1932-1937.
69. Mayes PA, Botham KM. Biologic oxidation. Murray RK, Granner DK, Mayes PA (editors). *Harper's Biochemistry*. London: Medical Publication 1993: 126-350.
70. Michiels C, Raes M, Toussaint, Remacle J. Importance of Seglutathione peroxidase, catalase, Cu-Zn superoxide dismutase for cell survival against oxidative stress, *Free Radic Biol Med* 1994; 17: 235-248.
71. Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J, Peroxide detoxification by brain cells, *J Neurosci Res* 2005; 79: 157-165.
72. Shidhu P, Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats, *Chemico-Biological Interactions* 2004; 150: 199-209.
73. Listowsky I, Abramowitz M, Hama H, Niitsu Y. Intracelluler binding and transport of hormones and xenobiotics by GST. *Drug Metab Rev* 1988; 19: 305-318.
74. Felix K, Rockwood LD, Pretsch W, Nair J, Bartsch H, Bornkamm GV, Janz S. Moderate G6PD deficiency increases mutation rates in the brain on mice. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 663-673.
75. May JM. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *FASEB J* 1999; 13: 995-1006.
76. Mendiratta S, Zhi-chao Qu, James M. enzyme dependent ascorbate recycling in human erythrocytes: role of thioredoxin reductase. . *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 221-228.
77. Champe PC, Harvey RA. *Biyokimya. İkinci baskı*. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. (çeviren), s. 147-156. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1997.

78. Chavan S, Sava L, Saxena V, Pillai S, Sontakke A, Ingole D. Reduced glutathione: importance of specimen collection, *Ind J Clin Biochem* 2005; 20: 150-152.
79. Valko M, Rhodes C J, Moncola J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interac* 2006; 160: 1–40.
80. Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters* 2008; 582: 1783–1787.
81. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 34: 92–95.
82. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 194–200.
83. Lee, N Koo, DB Min. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. *CRFSFS* 2004; 3: 37–47.
84. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Kuzucular Ofset*, 1995:3–25.
85. Landon E J, Naukam R J, Rama Sastry BV. Effects of calcium channel blocking agents on calcium and centrilobular necrosis in the liver of rats treated with hepatotoxic agents. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 697–705.
86. Kizer DE, Clouse JA, Ringer DP, Hanson-Painton O, Vaz AD, Palakodety RB, Griffin MJ. *Biochem Pharmacol* 1985; 34: 1795–1800.
87. Li XN, Huang CT, Wang XH, Leng XS, Du RY, Chen YF, Hou X. Changes of blood humoral substances in experimental cirrhosis and their effects on portal hemodynamics. *Chin Med J (Engl)* 1990; 103: 970–977.
88. Li X, Benjamin I S, Alexander B. Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality. *J Hepatol* 2002; 36: 488–493.
89. Müller A, Machnik F, Zimmermann T, Schubert H. Thioacetamide induced cirrhosis like liver lesions in rats—usefulness and reliability of this animal model. *Exp Pathol* 1988; 34: 229–236.

90. Hunter AL, Holscher MA, Neal RA. Thioacetamide-induced hepatic necrosis. Involvement of the mixed-function oxidase enzyme system. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 200: 439–48.
91. Chieli E, Malvaldi G. Role of the microsomal FAD-containing monooxygenase in the liver toxicity of thioacetamide-S-oxide. *Toxicology* 1984; 31: 41–51.
92. Porter WR, Neal RA. Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1978; 6: 379-388.
93. Bruck R, Aeed H, Avni Y, Shirin H, Matas Z, Shahmurov M, et al. Melatonin inhibits nuclear factor kappa B activation and oxidative stress and protects against thioacetamide induced liver damage in rats. *J Hepatol* 2004; 40: 86.
94. Zimmerman HJ (editör). Experimental hepatotoxicity. *Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*. Washington: Lippincott Williams&Wilkins, 1999: 266-268.
95. Hori N, Okanoue T, Sawa Y, Mori T, Kashima K. Hemodynamic characterization in experimental liver cirrhosis induced by thioacetamide administration. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2195–2202.
96. Lee JW, Shin KD, Lee M, Kim E, Han SS, Han MY, et al. Role of metabolism by flavin-containing monooxygenase in thioacetamide-induced immunosuppression. *Toxicol Lett* 2003; 136: 163–172.
97. Diez-Fernández C, Boscá L, Fernández-Simón L, Alvarez A, Cascales, M. Relationship between genomic DNA-ploidy and parameters of liver damage during necrosis and regeneration induced by thioacetamide. *Hepatology* 1993; 18: 912–918.
98. So EC, Wong KL, Huang TC, Tasi SC, Liu CF. Tetramethylpyrazine protects mice against thioacetamide-induced acute hepatotoxicity. *J Biomed Sci* 2002; 9: 410–414.
99. Sanz N, Diez-Fernández C, Andrés D, Cascales M. Hepatotoxicity and aging: endogenous antioxidant systems in hepatocytes from 2-, 6-, 12-, 18- and 30-month-old rats following a necrogenic dose of thioacetamide. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1587: 12–20.
100. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharm Res* 2007; 55: 207-216.

101. Rao AV, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res* 1999; 19: 305-323.
102. Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease, *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 563-569.
103. Shi J, Le M, Bryan M, Bryan M. Lycopene from tomatoes. Shi J, Mazza G, Maguer M (eds). *Functional Foods*. New York: CRC Press LCC, 2002: 136-152.
104. Bramley PM. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J Exp Bot* 2002; 53: 2107-2113.
105. Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233: 658-662.
106. Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 2000; 54: 233-236.
107. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr* 1992; 122: 2161-2166.
108. Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Biotechnol* 2000; 20: 293-334.
109. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 116-122.
110. Heber D, Lu Q-Y. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Experimental Biology and Medicine* 2002; 227: 920-923.
111. Matos HR, Di Mascio P, Medeiros MH. Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys* 2000; 383: 56-59.
112. Matos HR, Marques SA, Gomes OF, Silva AA, Heimann JC, Di Mascio P, Medeiros MH. Lycopene and beta-carotene protect in vivo iron-induced oxidative stress damage in rat prostate. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 203-210.

113. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 1998; 33: 981-984.
114. Michaud DS, Feskanich D, Rimm EB, Colditz GA, Spezier FE, Willett WC, Giovannucci E. Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 990-997.
115. Velmurugan B, Bhuvaneswari V, Nagini S. Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis. *Fitoterapia* 2002; 73: 604-611.
116. Mohanty NK, Kumar R, Gupta NP. Lycopene therapy in the management of idiopathic oligoasthenospermia. *Ind J Urol* 2001; 56: 102-103.
117. Rao LG, Krishnadev N, Banasikowska K, Rao AV. Lycopene I. effect on osteoclasts; lycopene inhibits basal and parathyroid hormone (PTH)-stimulated osteoclast formation and mineral resorption mediated by reactive oxygen species (ROS) in rat bone marrow cultures. *J Med Food* 2003; 6: 69-78.
118. Rao LG, Krishnadev N, Liu LJ-F, Murray TM, Rao AV. Lycopene inhibits osteoclastic bone resorption mediated by reactive oxygen species (ROS). *J Bone Min Res* 2001; 16: 382.
119. Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, et al. High serum carotenoids are inversely associated with serum gamma-glutamyltransferase in alcohol drinkers within normal liver function. *J Epidemiol* 2005; 15: 180–186.
120. Rao AV, Ali A. Biologically active phytochemicals in human health: Lycopene. *Int J Food Propert* 2007; 10: 279-288.
121. Polkowsky K, Mazurek AP. Biological properties of genistein. A review of in vitro and in vivo data. *Acta Pol Pharm* 2000; 8: 739-745.
122. Barnes S, Kim H, Darley Usmar V, Patel R, Xu J, Boersma B, Luo M. Beyond ER alpha and ER beta: estrogen receptor binding is only part of the isoflavone story. *J Nutr* 2000; 130: 656-657.
123. Bingham SA, Atkinson C, Liggins J, Bluck L, Coward A. Phytoestrogens: where are we now? *Br J Nutr* 1998; 79: 393-406.

124. Davis S, Dalais F, Simpson E, Murkies A. Phytoestrogens in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 1999; 54: 185-211.
125. Cassidy A, Hanley B, Raventos R. Isoflavones, lignans and stilbens-origins, metabolism and potential importance to human health. *J Scien Food* 2000; 80: 1044-1062.
126. Wei H, Frenkel K, Bowen R, Barnes S. Inhibition of tumour-promoter induced hydrogen peroxide formation by genistein in vitro and in vivo. *Nutr Cancer* 1993; 20: 1-12.
127. Adlercreutz H. Phyto-oestrogens and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 364-373.
128. Muraoka K, Shimizu K, Sun X, Tani T, Izumi R, Miwa K, et al. Flavonoids exert diverse inhibitory effects on the activation of nf-[kappa]b, *Transplant Proc* 2002; 34: 1335–1340.
129. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987; 262: 5592-5595.
130. Thorburn J, Thorburn T. The tyrosine kinase inhibitor, genistein, prevents a-adrenergic-induced cardiac muscle cell hypertrophy by inhibiting activation of the Ras-MAP kinase signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 202: 1586-1591.
131. Linassier C, Pierre M, Le Peco J-B, Pierre J. Mechanism of action in NIH-3T3 cells of genistein, an inhibitor of EGF receptor tyrosine kinase activity. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 187-193.
132. Constantinou A, Kiguchi K, Huberman E. Induction of differentiation and DNA strand breakage in human HL-60 and K-562 leukemia cells by genistein. *Cancer Res* 1990; 50: 2618–2624.
133. Deapen D, Liu L, Perkins C, Bernstein L, Ross RK, Rapidly rising breast cancer incidence rates among Asian–American women, *Int J Cancer* 2002; 99: 747-750.
134. An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC. Estrogen receptor beta-selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem* 2001; 276: 17808-17814.

135. Morton MS, Arisaka O, Miyake N, Morgan LD, Evans BA. Phytoestrogen concentrations in serum from Japanese men and women over 40 years of age. *J Nutr* 2002; 132: 3168-3171.
136. Mentor-Marcel R, Lamartiniere CA, Greenberg NM, Elagavish A. Genistein in the diet reduces the incidence of prostate tumors in a transgenic mouse (TRAMP). *Cancer Res* 2001; 61: 6777-6782.
137. Banerjee S, Li Y, Wang Z, Sarkar FH. Multi-targeted therapy of cancer by genistein. *Cancer Lett* 2008; 269: 226-242.
138. Banerjee S, Zhang Y, Wang Z, Che M, Chiao PJ, Abbruzzese JL, Sarkar FH. In vitro and in vivo molecular evidence of genistein action in augmenting the efficacy of cisplatin in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 906-917.
139. Barnes S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. *J Nutr* 1995; 125: 777-783.
140. Gilad LA, Tirosh O, Schwartz B. Phytoestrogens regulate transcription and translation of vitamin D receptor in colon cancer cells. *J Endocrinol* 2006; 191: 387-398.
141. Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibitory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957.
142. Yanagihara K, Ito A, Toge T, Numoto M. Antiproliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 1993; 53: 5815-5821.
143. Nogowski L, Mackowiak P, Kandulska K, Szkudelski T, Nowak KW. Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. *Ann Nutr Metab* 1998; 42: 360-366.
144. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsies in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 1994; 20: 15-20.

145. Bahçecioğlu IH, Yalniz M, Ataseven H, Bülbüller N, Keçeci M, Demirdağ K, et al. TNF-alpha and leptin in experimental liver fibrosis models induced by carbon tetrachloride and by common bile duct ligation. *Cell Biochem Funct* 2004; 22: 359-363.
146. Lau DT, Luxon BA, Xiao SY, Beard MR, Lemon SM. Lemon, Intrahepatic gene expression profiles and alphasmooth muscle actin patterns in hepatitis C virus induced fibrosis. *Hepatology* 2005; 42: 273–281.
147. Wardi J, Reifen R, Aeed H, Zadel L, Avni Y, Bruck R. Beta-carotene attenuates experimentally induced liver cirrhosis in rats. *IMAJ* 2001; 3: 151-154.
148. Al-Attar AM. Attenuating effect of ginkgo biloba leaves extract on liver fibrosis induced by thioacetamide in mice. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 761450.
149. Salama SM, Bilgen M, Al Rashdi AS, Abdulla MA. Efficacy of Boesenbergia rotunda treatment against thioacetamide-induced liver cirrhosis in a rat model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 137083.
150. Amin ZA, Bilgen M, Alshawsh MA, Ali HM, Hadi AH, Abdulla MA. Protective role of phyllanthus niruri extract against thioacetamide-induced liver cirrhosis in rat model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 241583.
151. de David C, Rodrigues G, Bona S, Meurer L, González-Gallego J, Tuñón MJ, Marroni NP. Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicol Pathol* 2011; 39: 949-957.
152. Aydin AF, Küskü-Kiraz Z, Doğru-Abbasoğlu S, Güllüoğlu M, Uysal M, Koçak Toker N. Effect of carnosine against thioacetamide-induced liver cirrhosis in rat. *Peptides* 2010; 31: 67-71.
153. Park JH, Kum YS, Lee TI, Kim SJ, Lee WR, Kim BI, et al. Melittin attenuates liver injury in thioacetamide-treated mice through modulating inflammation and fibrogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2011; 236: 1306-1313.
154. Salguero Palacios R, Roderfeld M, Hemmann S, Rath T, Atanasova S, Tschuschner A, et al. Activation of hepatic stellate cells is associated with cytokine expression in thioacetamide-induced hepatic fibrosis in mice. *Lab Invest* 2008; 88: 1192-1203

155. Chen IS, Chen YC, Chou CH, Chuang RF, Sheen LY, Chiu CH. Hepatoprotection of silymarin against thioacetamide induced chronic liver fibrosis. *J Sci Food Agric* 2012; 92: 1441-1447.
156. Chen TM, Subeq YM, Lee RP, Chiou TW, Hsu BG. Single dose intravenous thioacetamide administration as a model of acute liver damage in rats. *Int J Exp Pathol* 2008; 89: 223-231.
157. Zaragoza A, Andres D, Sarrion D, Cascales M. Potentiation of thioacetamide hepatotoxicity by phenobarbital pretreatment in rats. Inducibility of FAD monooxygenase system and age effect. *Chemico-Biological Interactions* 2000; 124: 87-101.
158. Kim IH, Kim DG, Hao P, Wang Y, Kim SH, Kim SW, et al. Anti-fibrotic effects of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid via modulation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in rats *BMB Rep* 2012; 45: 348-353.
159. Salas AL, Ocampo G, Fariña GG, Reyes-Esparza J, Rodríguez-Fragoso L. Genistein decreases liver fibrosis and cholestasis induced by prolonged biliary obstruction in the rat. *Ann Hepatol* 2007; 6: 41-47.
160. Bahcecioglu IH, Kuzu N, Metin K, Ozercan IH, Ustündag B, Sahin K, Kucuk O. Lycopene prevents development of steatohepatitis in experimental nonalcoholic steatohepatitis model induced by high-fat diet. *Vet Med Int* 2010; 2010: 262179.
161. Deng Y, Xu Z, Liu W, Yang H, Xu B, Wei Y. Effects of lycopene and proanthocyanidins on hepatotoxicity induced by mercuric chloride in rats. *Biol Trace Elem Res* 2012; 146: 213-223.
162. Kuzu N, Orhan C, Yalniz M, Ozercan IH, Sahin K, Bahcecioglu IH, et al. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 36381.
163. Yalniz M, Bahcecioglu IH, Kuzu N, Poyrazoglu OK, Ozercan IH, Sahin K, et al. Preventive role of genistein in an experimental non alcoholic steatohepatitis model. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2009-2014.

164. Raffoul JJ, Wang Y, Kucuk O, Forman JD, Sarkar FH, Hillman GG. Genistein inhibits radiation-induced activation of NF-kappaB in prostate cancer cells promoting apoptosis and G2/M cell cycle arrest. *BMC Cancer* 2006; 6: 107.
165. Gallois C, Habib A, Tao J, Moulin S, Maclouf J, Mallat A, et al. Role of NF- KB in the antiproliferative effect of endothelin-1 and tumor necrosis factor-a in human hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 23183-23190.
166. Wang Y, Ausman LM, Greenberg AS, Russell RM, Wang XD. Dietary lycopene and tomato extract supplementations inhibit nonalcoholic steatohepatitis-promoted hepatocarcinogenesis in rats. *Int J Cancer* 2010; 126: 1788-1796.
167. Hsu YM, Lai CH, Chang CY, Fan CT, Chen CT, Wu CH. Characterizing the lipid-lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72: 677-685.
168. Mohamed Salih S, Nallasamy P, Muniyandi P, Periyasami V, Carani Venkatraman A. Genistein improves liver function and attenuates non-alcoholic fatty liver disease in a rat model of insulinresistance. *J Diabetes* 2009; 1: 278-287.
169. Palanisamy N, Kannappan S, Anuradha CV. Genistein modulates NF-kB-associated renal inflammation, fibrosis and podocyte abnormalities in fructose-fedrats. *Eur J Pharmacol* 2011; 667: 355-364.
170. Ji G, Yang Q, Hao J, Guo L, Chen X, Hu J, Leng L, Jiang Z. Anti-inflammatory effect of genistein on non-alcoholic steatohepatitis rats induced by high fat diet and its potential mechanisms. *Int Immunopharmacol* 2011;11: 762-768.
171. George J, Roulot D, Koteliansky VE, Bissell DM. In vivo inhibition of rat stellate cell activation by soluble transforming growth factor beta type II receptor: a potential new therapy for hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12719-12724.
172. Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2345-2349.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Bitlis'in Mutki ilçesine bağlı Kocainiş köyünde doğdum. İlkokulu Hasköy 100. Yıl Gazi İlköğretim Okulu'nda, ortaokulu Muş Anadolu Lisesi'nde okudum. Lisenin birinci ve ikinci sınıfını Elazığ Kaya Karakaya Fen Lisesi'nde okudukta sonra son sınıfı Muş Hasköy Çok Programlı Lisesi'nde okudum. 2008 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Mezun olduktan sonra 5 ay Van Gevaş İlçe Hastanesi'nde pratisyen olarak çalıştım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda başladığım uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim.