



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SAFRA KANALI BAĞLAMA YÖNTEMİ İLE KARACİĞER
HASARI OLUŞTURULAN SIÇANLARDA PETROSELİNUM
CRISPUM (MAYDANOZ) EKSTRESİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

SEREN EDE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF.DR. GÖKSEL ŞENER

2021-İSTANBUL

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Seren EDE

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan her konuda bilgisini, ilgisini, sevgisini ve desteğini hiç esirgemeyen fedarlığı, dürüstlüğü, çalışkanlığı ile herkeste hayranlık uyandıran saygıdeğer hocam Prof. Dr. Göksel Şener'e tüm kalbimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim sırasında her zaman destek olan Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Levent Kabasakal'a ve çalışma sırasında ve sonrasında bir an olsun desteğini, bilgisini ve sevgisini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilek Özbeyli' ye sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan ekstrenin hazırlanmasında ve analizinde destek olan Prof. Dr. Refiye Yanardağ ve Prof. Dr. Özlem Saçan, dokuların analizinde destek olan Prof. Dr. Özge Çevik, dokuların histoloji sonuçlarının değerlendirilmesini yapan Prof. Dr. Feriha Ercan hocalarıma da yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olup bana yol gösteren ve desteğini hep hissettiğim değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Suna Özbaş'a, tüm hayatım boyunca hiç bir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------------|
| BEYAN | i |
| TEŞEKKÜR | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ | vi |
| ŞEKİL LİSTESİ | ix |
| TABLolar LİSTESİ | xi |
| 1. ÖZET | 1 |
| 2. SUMMARY | 2 |
| 3. GİRİŞ VE AMAÇ | 3 |
| 4. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 4.1. Karaciğer | 4 |
| 4.2. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Sınıflandırılması | 5 |
| 4.3. Karaciğer Hücreleri | 7 |
| 4.3.1. Hepatositler | 7 |
| 4.3.2. Endotel hücreler | 7 |
| 4.3.3. Kupffer hücreleri | 8 |
| 4.3.4. Hepatik stellat hücreleri | 10 |
| 4.3.5. Safra epitel hücreleri | 12 |
| 4.4. Karaciğer Fibrozu | 13 |
| 4.5. Serbest Radikaller | 14 |
| 4.6. Antioksidan Savunma Sistemi | 20 |
| 4.7. Oksidatif Stres Biyobelirteci Olarak Kullanılan Parametreler | 24 |
| 4.8. Kolestaz | 25 |
| 4.9. Safra Kanalı Bağlama Yöntemi | 26 |
| 4.10. Maydanoz | 28 |
| 5. GEREÇ ve YÖNTEMLER | 30 |
| 5.1. Hayvanlar | 30 |
| 5.2. Maydanz Ekstresinin Hazırlanması | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 5.3. Safra Kanalı Bağlama Yöntemi | 30 |
| 5.4. Gruplar ve Deney Protokolü | 31 |
| 5.5. Serumda Yapılan İncelemeler | 32 |
| 5.5.1. Alanin aminotransferaz, aspartat aminotrasferaz, total bilirubin ve direkt bilirubin tayini | 32 |
| 5.6. Dokuda Yapılan İncelemeler | 32 |
| 5.6.1. Luminol ve lusigenin kemilüminesans tayini | 32 |
| 5.6.2. Süperoksit dismutaz tayini | 32 |
| 5.6.3. Katalaz tayini | 33 |
| 5.6.4. Glutasyon tayini | 33 |
| 5.6.5. Malondialdehit tayini | 33 |
| 5.6.6. Sodyum/potasyum adenzin trifosfataz tayini | 33 |
| 5.6.7. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin tayini | 34 |
| 5.6.8. Tümör nekroz faktörü-alfa tayini | 34 |
| 5.6.9. İnterlökin- 1beta tayini | 34 |
| 5.6.10. Miyeloperoksidaz aktivite tayini | 34 |
| 5.6.11. Kaspaz- 3 tayini | 35 |
| 5.6.12. Transforme edici büyüme faktörü beta 1 tayini | 35 |
| 5.6.13. Hidroksiprolin tayini | 35 |
| 5.6.14. Histolojik incelemeler | 35 |
| 5.7. Maydanoz Antioksidan Aktivite Tayini | 36 |
| 5.7.1. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal giderme aktivite tayini | 36 |
| 5.7.2. N, N-dimetil-1, 4-fenilendiamin radikal giderme yöntemi | 37 |
| 5.7.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi | 37 |
| 5.8. İstatistik Yöntemi | 38 |
| 6. BULGULAR | 39 |
| 6.1. Serumda Yapılan Karaciğer Fonksiyonlarına Ait Sonuçlar | 39 |
| 6.2. Kemilüminesans Sonuçları | 41 |
| 6.3. Süperoksit Dismutaz Sonuçları | 43 |
| 6.4. Katalaz Sonuçları | 44 |

| | |
|--|-----------|
| 6.5. Glutasyon Sonuçları | 45 |
| 6.6. Malondialdehit Sonuçları | 46 |
| 6.7. Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz Sonuçları | 47 |
| 6.8. 8-hidroksi-2'-Deoksiguanozin Sonuçları | 48 |
| 6.9. Tümör Nekroz Faktörü- Alfa Sonuçları | 49 |
| 6.10. İnterlökin- 1beta Sonuçları | 50 |
| 6.11. Miyeloperoksidaz Aktivite Sonuçları | 51 |
| 6.12. Kaspaz-3 Sonuçları | 52 |
| 6.13. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 Sonuçları | 53 |
| 6.14. Hidroksiprolin Sonuçları | 54 |
| 6.15. Karaciğer Dokusuna Ait Histolojik Sonuçları | 55 |
| 6.16. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikal Giderme Aktivite Sonuçları | 57 |
| 6.17. N, N-dimetil-1, 4-fenilendiamin Radikal Giderme Yöntemi Sonuçları | 58 |
| 6.18. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi Sonuçları | 59 |
| 7. TARTIŞMA ve SONUÇ | 60 |
| 8. KAYNAKLAR | 68 |

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

| | |
|------------------|---|
| $^1\text{O}_2$ | : Singlet oksijen |
| 8-OHdG | : 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin |
| α | : Alfa |
| ABTS | : 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) |
| ALT | : Alanin Aminotransferaz |
| AST | : Aspartat Aminotransferaz |
| ATP | : Adenozin trifosfat |
| β | : Beta |
| BHT | : Butillenmiş hidroksi toluen |
| Cu^+ | : Bakır |
| Cu_2^+ | : Bakır oksit |
| CUPRAC | : Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi |
| DMPD | : N, N-dimetil-1, 4-fenilendiamin |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| DR | : Duküler reaksiyonu |
| DSÖ | : Dünya Sağlık Örgütü |
| ESM | : Ekstraselüler matriks |
| Fe^{+2} | : Ferröz iyonu |
| Fe^{+3} | : Ferrik iyonu |
| GSH | : Glutatyon |
| GSH-Px | : Glutatyon peroksidaz |
| GST | : Glutatyon S-Transferaz |
| H^+ | : Hidrojen |

| | |
|--|--|
| H ₂ O ₂ | : Hidrojen peroksit |
| HNO ₂ | : Nitroz asit |
| HOCl | : Hipokloroz asit |
| HOO• | : Hidroperoksil |
| HSH | : Hepatik stellat hücreleri |
| IL-1β | : İnterlökin- 1beta |
| iNOS | : Nitrik oksit sentaz |
| KAT | : Katalaz |
| KH | : Kupffer hücreleri |
| KKH | : Kronik karaciğer hastalıkları |
| KL | : Kemilüminesans |
| LDL | : Düşük yoğunluklu lipoprotein |
| LSEH | : Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri |
| MDA | : Malondialdehit |
| MMP | : Metaloproteinaz |
| MPO | : Miyeloperoksidaz |
| MYZ | : Maydanoz |
| Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz | : Sodyum/potasyum adenozin trifosfataz |
| N ₂ O ₃ | : Dinitrojen trioksit |
| N ₂ O ₄ | : Dinitrojen tetraoksit |
| NO | : Nitrik oksit |
| NO ⁻ | : Nitroksil anyonu |
| NO ⁺ | : Nitrosonium katyonu |
| NO• | : Nitrik oksit radikali |
| NO ₂ ⁻ | : Nitrit |

| | |
|-------------------------|---|
| NO_2^+ | : Nitronyum iyonu |
| NO_2^\bullet | : Azot dioksit |
| NO_3^- | : Nitrat |
| O_2 | : Oksijen |
| $\text{O}_2^{\bullet-}$ | : Süperoksit anyon radikali |
| O_3 | : Ozon |
| OH^\bullet | : Hidroksil radikali |
| ONOO^- | : Peroksinitrit |
| PDGF | : Trombosit türevli büyüme faktörü |
| PDGFR | : Trombosit türevli büyüme faktörü reseptörleri |
| RNT | : Reaktif azot türevleri |
| RO^\bullet | : Alkoksi radikali |
| RO_2^- | : Peroksil |
| ROONO | : Alkil peroksinitrit |
| ROT | : Reaktif oksijen türleri |
| SKB | : Safra kanalı bağlama |
| SOD | : Süperoksit dismutaz |
| SR | : Serbest radikal |
| TGF- β | : Transforme edici büyüme faktörü |
| TIMP | : Endojen doku metalloproteinaz inhibitörleri |
| TNF- α | : Tümör nekroz faktör alfa |

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Karaciğer fibrozu oluşumu

Şekil 2. Kolestaz nedenleri

Şekil 3. Safra kanalı bağlama yöntemi

Şekil 4. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki örneklerine ait (4a) aspartat aminotransferaz (AST), (4b) alanin aminotransferaz (ALT), (4c) direk bilirubin ve (4d) total bilirubin seviyeleri

Şekil 5. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki (5a) luminol ve (5b) lusigenin KL seviyeleri

Şekil 6. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki süperoksit dismutaz (SOD) seviyeleri

Şekil 7. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki katalaz (KAT) seviyeleri

Şekil 8. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki glutatyon (GSH) seviyeleri

Şekil 9. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki malondialdehit (MDA) seviyeleri

Şekil 10. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki Na^+ / K^+ -ATPaz aktivite seviyeleri

Şekil 11. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) aktivite seviyeleri

Şekil 12. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) aktivite seviyeleri

Şekil 13. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki interlökin- 1beta (IL-1 β) aktivite seviyeleri

Şekil 14. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki miyeloperoksidaz (MPO) aktivite seviyeleri

Şekil 15. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki kaspaz-3 aktivite seviyeleri

Şekil 16. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β) seviyeleri

Şekil 17. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki hidroksiprolin seviyeleri

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Kupffer hücrelerinden uyarılan mediyatörler

Tablo 2. Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri

Tablo 3. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları

Tablo 4. Enzimatik endojen antioksidanlar

Tablo 5. Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

Tablo 6. Vitamin eksojen antioksidanlar

Tablo 7. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

Tablo 8. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki serum aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), direk bilirubin ve total bilirubin seviyeleri

Tablo 9. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki luminol ve lusigenin KL seviyeleri

Tablo 10. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki SOD seviyeleri

Tablo 11. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki KAT seviyeleri

Tablo 12. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki GSH seviyeleri

Tablo 13. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki MDA seviyeleri

Tablo 14. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki Na⁺/K⁺ ATPaz seviyeleri

Tablo 15. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki 8-OHdG seviyeleri

Tablo 16. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra

kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki TNF- α seviyeleri

Tablo 17. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki IL-1 β seviyeleri

Tablo 18. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki kaspaz-3 seviyeleri

Tablo 19. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki TGF- β seviyeleri

Tablo 20. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki hidroksprolin seviyeleri

Tablo 21. Maydanoz ekstresi ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri

Tablo 22. Maydanoz ekstresi ve standartların DMPD radikal giderme aktiviteleri

Tablo 23. Maydanoz ekstresi ve standartların bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri

Safra kanalı bağlama yöntemi ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda Petroselinum Crispum (Maydanoz) ekstresinin olası koruyucu etkilerinin incelenmesi.

Öğrenci Adı: Seren EDE

Danışman Adı: Prof.Dr. Göksel ŞENER

Farmakoloji Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, maydanoz (MYZ) ekstresinin (Petroselinum Crispum) safra kanalı bağlama (SKB) modeli ile sıçanlarda meydana gelen oksidatif karaciğer hasarına karşı olası koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Spraque Dawley sıçanlar kontrol, SKB ve MYZ ile tedavi edilen SKB olarak üçe ayrılmıştır. Safra kanalı bağlama işlemi sonrası 28 gün boyunca sıçanlara maydanoz ekstresi 2 g/kg (0,5 ml) veya veya serum fizyolojik (SF) oral uygulanmıştır. Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek serum ve doku örnekleri alınmıştır. Serumda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), bilirubin, dokularda ise kemilüminesans, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon enzimleri, malondialdehit, miyeloperoksidaz, Na⁺/K⁺-ATPaz, 8-OHdG, kaspaz-3, TGF-β, hidroksprolin, TNF-α ve IL-1β seviyeleri ölçülmüştür. Dokular histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Maydanozun antioksidan aktivite tayini de yapılmıştır.

Bulgular: Serum fizyoloji ile tedavi edilen SKB grubunun ALT, AST, bilirubin, ve dokudaki oksidan hasar parametreleri kontrol grubuna göre artarken, antioksidan seviyeleri hasara bağlı olarak düşmüştür. Maydanoz ile tedavi ile grupta bu parametreler tersine çevrilmiştir. Histolojik sonuçlar biyokimyasal sonuçları desteklemiştir. Antioksidan aktivite ölçümleri sonucunda maydanozun antioksidan özelliğinin askorbik asit, BHT ve troloksa göre daha az olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışma maydanoz bitkisinin, karaciğer safra tıkanıklığına bağlı fibroz ve oksidatif hasardan korumada potansiyel bir terapötik olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Karaciğer, kolestaz, fibroz, oksidan hasar, maydanoz

Investigation of the possible effects of *Petroselinum crispum* (Parsley) extract against bile duct ligation-induced hepatic damage.

Student Name: Seren EDE

Advisor Name: Prof. Dr. Göksel ŞENER

Department of Pharmacology

2. SUMMARY

Aim: In this study, it was aimed to determine the possible protective effect of parsley (*Petroselinum Crispum*; PC) extract against bile duct (BDL) ligation induced oxidative liver damage in rats.

Materials and methods: Sprague Dawley rats were divided into control, BDL, and PC-treated BDL groups. The rats were orally administered PC extract 2g/kg (0,5 ml) or saline for 28 days after bile duct ligation. At the end of the experiment, the rats were decapitated and serum and tissue samples were taken. In serum samples aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), bilirubin, and in tissue samples chemiluminesce, superoxide dismutase, catalase, glutathione, malondialdehyde, myeloperoxidase, Na⁺/K⁺-ATPaz, 8-OHdG, caspase-3, TGF- β, hydroxyproline, TNF-α and IL-1β levels were measured. Furthermore, tissues were evaluated histopathologically. The antioxidant activity of PC extract has also been determined.

Results: While ALT, AST, bilirubin and tissue oxidant damage parameters of the BDL group treated with saline increased compared to the control group, antioxidant levels decreased due to the damage. These parameters were reversed in the group treated with PC extract. Histological results supported the biochemical results. As a result of the antioxidant activity measurements, it was found that the antioxidant property of parsley is less than ascorbic acid, BHT and trolox.

Conclusion: This study suggests that parsley may be a potential therapeutic in protecting the liver from fibrosis and oxidative damage due to bile duct obstruction. Further studies are needed on this subject.

Key words: Liver, cholestasis, fibrosis, oxidant damage, parsley

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Karaciğer fibrozu, karaciğerde meydana gelen hasara karşı ekstraselüler matriksin aşırı oluşumu ile karakterize olan yara iyileştirici bir yanıttır (Aydın ve Akçalı, 2018). Karaciğer fibrozu tedavi edilmezse, dünya çapında önemli morbidite ve mortalite nedeni olan siroza dönüşebilmektedir (Schuppan ve Afdhal, 2008). Karaciğer hasarında önemli rolü olan kolestaz, hepatositlerden salgılanan safra akışının fiziksel anlamda engellenmesi durumudur (Kolaric ve ark., 2019). Yapılmış çeşitli çalışmalara göre sıçanlarda ve insanlarda kolestaz sırasında oluşan oksidatif stresin, karaciğer hasarının patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Perez ve Briz, 2009). Karaciğer hasarının tedavisi için yapılan çalışmalar mevcut olsa da hala kesin bir tedavi bulunamamıştır (Singh, 2017).

Karaciğerde kolestaz ve fibroz oluşturmak için kullanılan ve deneysel bir model olan safra kanalı bağlama yöntemi, dünya çapında kullanılan ve kabul görmüş bir modeldir (Tag ve ark., 2015). Safra kanalının bağlanması kolestaza, oksidatif hasara, fibroza, siroza ve portal hipertansiyona yol açabilmektedir (Tag ve ark., 2015; Delire ve ark., 2015).

Maydanoz, 30-100 cm yüksekliğe kadar büyüyen Apiaceae familyasına ait şifalı bir bitkidir (Tang ve ark., 2015). Maydanozun kökeni Akdeniz Bölgesi olsa da tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Farzaei ve ark., 2013; Özsoy-Saçan ve ark., 2006). Maydanoz gıda, ilaç, parfüm, sabun ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır (Mahmood ve ark., 2014; Özsoy-Saçan ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar maydanozun hipoglisemik, diüretik, hipolipidemik, antimikrobiyal, antikoagülan ve hepatoprotektif aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Tang ve ark., 2015). Ayrıca maydanoz diabetes mellitus, cilt hastalıkları, ateş, ülser, romatizma, hipertansiyon ve gastrointestinal bozukluklar gibi rahatsızlıklarda da tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Ajebli ve Eddouks, 2019). Ancak maydanozun karaciğer hasarı üzerindeki iyileştirici olası etkisi daha önce araştırılmamıştır.

Bu nedenle bu çalışmada, safra kanalı bağlama yöntemi ile oluşturulan hasar sonucu karaciğerde meydana gelen oksidatif hasar, inflamasyon ve apoptoz üzerinde maydonuzun olası koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Karaciğer

Karaciğer, hepatositler, safra epitel hücreleri, hepatik stellat hücreleri, kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotelial hücreleri dahil olmak üzere farklı embriyolojik kökenli hücre tiplerinden oluşmaktadır (Trefts ve ark., 2017). Karaciğer yapısında bulunan hepatositler karaciğer hücrelerinin yaklaşık % 70 - %80'ini oluştururken geri kalanını ise parankimal olmayan hücreler oluşturmaktadır (Deng ve ark., 2018). Bu parankimal olmayan hücrelerin ise % 70'ini endotelial hücreler, % 20'sini Kupffer hücreleri ve % 10'unu ise hepatik stellat hücreler oluşturmaktadır (Kayadibi ve Sertoğlu, 2014).

Hepatositler, karaciğer parankiminde en bol bulunan hücrelerdir ve metabolik olarak aktif epitel hücrelerini temsil etmektedir (Manco ve ark., 2018). Safra epitel hücreleri, intrahepatik ve ekstrahepatik safra kanalını kaplayan ve safra üretimi ve homeostazına katkıda bulunan özelleşmiş hücrelerdir (Banales ve ark., 2019). Kupffer hücreleri, hepatik homeostaz için gerekli olan, karaciğerde yerleşik makrofajlardır (Sato ve ark., 2019). Stellat hücreleri ise inaktif ve aktif halde bulunabilen dinamik bir hücre popülasyonudur. Hareketsiz durumdayken A vitamini depolarken, aktif hale geldiğinde ise hasarlı karaciğerde kollajen birikimi ve organizasyonundan sorumludur (Trefts ve ark., 2017; Tsuchida ve Friedman, 2017). Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri (LSEH'ler), karaciğer sinüzoidlerinin duvarını oluşturan özelleşmiş endotel hücreleridir (Poisson ve ark., 2017). Bu hücreler sinüzoidal lümende fenestra elek plakalarını oluşturmaktadır. Bu organizasyon, plazma ve karaciğerin hücre tipleri arasındaki sınırlar içinde bulunan proteinlerin ve partiküllerin değişimi ve bazı bariyer fonksiyonlarının korunması için kritik bir rol oynamaktadır (Trefts ve ark., 2017).

Karaciğerin vücutta birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Karaciğer, vücut homeostazisinin korunması, kanın depolanması, plazma proteinlerinin sentezlenmesi ve kanın filtrasyonu gibi vasküler fonksiyonları vardır. Ayrıca karaciğer hücrelerinden biri olan Kupffer hücreleri sayesinde, bakteri ve gıda antijenlerinin sistemik dolaşıma erişimini engelleme ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi gibi savunma fonksiyonları büyüme sinyal yollarının endokrin kontrolü, makro besin metabolizmasının

düzenlenmesi, birçok ilaç dahil ksenobiyotik bileşiklerin metabolizması, enerji için aminoasitlerin işlenmesi, azotlu atığın atılması, safra yapımı ve sekresyonu gibi birçok fizyolojik süreçlerde kritik rol oynayan hayati bir organdır (Knell, 1980; Noyan, 2004; Aktümsek 2010; Trefts ve ark., 2017; Manco ve ark., 2018; Sadeghi ve ark., 2019).

4.2.Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Sınıflandırılması

Organik anyonların hepatik taşınmasını (alım, konjugasyon ve atılım) ölçen testler, serum enzim testleri, spesifik biyokimyasal testler, karaciğer biyopsisi ve radyografi prosedürlerini ölçen testler şeklinde sınıflandırılabilir (Cornelius, 1980).

Organik anyonların hepatik taşınmasını (alım, konjugasyon ve atılım) ölçen testler: Safra pigmentleri testi (serumda konjuge olan ve konjuge olmayan bilirubin, idrardaki safra pigmentleri, dışkı safra pigmentleri), yabancı boyalar (bromsülfoftalein testi, Rose-Bengal testi, indosiyanın yeşili testi) ve safra asitleri testi olarak 3 grupta incelenmektedir (Cornelius, 1980).

Serum enzim testleri; alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), arginaz, hepatik nekroz ölçümü için diğer enzimler (sorbitol dehidrogenaz, glutamat dehidrogenaz, ornitin karbamoil transferaz), γ -Glutamil transpeptidaz, alkalik fosfataz ve diğer enzim testleri (Serum TPN'ye bağlı izositrat dehidrogenaz, serum laktat dehidrogenaz) olarak sayılmaktadır (Cornelius, 1980).

Spesifik biyokimyasal testler; karbonhidrat metabolizma testleri (galaktoz tolerans ve fruktoz tolerans testleri), protein metabolizma testleri (serum albümin, serum globülin, amino asit tolerans ve flokülasyon testleri), kan ürik asit testi, kan amonyak testi ve lipid metabolizma testleri olarak 5 grupta incelenmektedir (Cornelius, 1980).

Karaciğer biyopsisi ve radyografi prosedürlerini ölçen testler; karaciğer biyopsisi ve laparoskopi muayenesi ve radyografik işlemler olarak 2'ye ayrılmaktadır (Cornelius, 1980).

Aminotrasferazlar AST ve ALT olarak ikiye ayrılmaktadır. Hepatoselüler hasar ve zorunlu olarak hücre ölümü sırasında bu enzimler dolaşıma salınmaktadır. Bu nedenle hepatoselüler hasarın önemli bir göstergesi olarak rol oynamaktadır (Limdi ve Hyde, 2003; Lehmann-Werman ve ark., 2018). AST oksaloasetik asit, ALT ise piruvik asit

üretmek için amino gruplarının aspartik asit veya alaninden ketoglutarik aside transferini katalize ederek glukoneogeneze katılmaktadır (Shibata ve ark., 2019).

Aspartat aminotransferaz (AST), sitozolik ve mitokondriyal izoenzimlerde bulunmaktadır (Rabkin ve ark., 1984). Aynı zamanda karaciğerde, kalp kası iskelet kasında, böbreklerde, beyinde, pankreasta, akciğerlerde, lökositlerde ve kırmızı kan hücrelerinde bulunmaktadır (Giannini ve ark., 2005; Chhavi, 2014). Karaciğer için daha az duyarlı ve spesifiktir (Gwaltney-Brant ark., 2016). Bir sitozolik enzim olan ALT ise, karaciğerde en yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır ve daha çok karaciğere özgüdür (Limdi ve Hyde, 2003).

Bilirubin, retiküloendotelyal sistemdeki kırmızı kan hücrelerin (hem bileşeni) parçalanmasından oluşmaktadır (Memon ve ark., 2016). Konjuge olmayan bilirubin, albümine gevşek bir şekilde bağlanarak karaciğere taşınmaktadır (Sisson, 1978). Konjuge olmayan bilirubin suda çözünmediğinden idrarla atılamaz ancak, konjuge bilirubin suda çözünür ve idrarla atılabilir. (Beckingham ve Ryder, 2001). Karaciğerde, bilirubin glukoronide konjuge olmakta ve ardından sırasıyla safra ve barsağa salgılanmaktadır, buna ek olarak barsak florası ise bilirubini ürobilinojene parçalamakta ve bunların bir kısmı yeniden emilmekte veya böbrek yoluyla, idrarla, ya da karaciğer tarafından gastrointestinal sisteme atılmaktadır (Hamoud ve ark., 2018). Serum bilirubin normalde üretim ve hepatobiliyer atılım arasındaki dengeyi yansıtan konjuge olmayan bir formda bulunmaktadır (Limdi ve Hyde, 2003).

Konjuge hiperbilirubinemi karakteristik olarak parankimal karaciğer hastalığında ve safra tıkanıklığında ortaya çıkmaktadır (Limdi ve Hyde, 2003). Viral hepatitte ise, hepatosellüler hasar, toksik veya iskemik karaciğer hasarında daha yüksek seviyelerde serum konjuge bilirubin şeklinde görülmektedir. Akut viral hepatitte hiperbilirubinemi, hepatositlerin histolojik hasarın derecesi ve hastalığın uzamış seyri ile doğru orantılıdır (Gowda ve ark., 2009).

4.3.Karaciğer Hücreleri

4.3.1. Hepatositler

Hepatositler; ara metabolizmayı düzenleyen, dolaşım proteinlerini ve safra asidine bağlı safra akışını üreten, elektrolit homeostazisini ve karaciğerdeki detoksifikasyon süreçlerini kontrol eden merkezi bir düzenleyicidir (Malhi ve ark., 2010; Luangmonkong ve ark., 2018). Hepatosit apoptozu, tüm karaciğer hastalığı etiyojilerinde önemli bir başlangıç noktasıdır. (Roehlen ve ark., 2020). Hasarlı hepatositler reaktif oksijen türleri (ROT) ve fibrojenik mediatörleri salıverir (Bataller ve Brenner, 2005), hepatik stellat hücrelerinin aktivasyonunu indükler ve karaciğer miyofibroblastlarının fibrojenik etkilerini uyarır (Canbay ve ark., 2004). Hepatositlerin apoptozu, karaciğer hasarında yaygın bir olaydır; doku iltihabı, fibrojeniz ve siroz gelişimine katkıda bulunur (Zhou ve ark., 2014).

Hepatositler mitokondri bakımından zengin parankimal hücrelerdir. Reaktif oksijen türleri mitokondrilerin elektron taşıma zincirleri başta olmak üzere protein katlanması ve sitokrom P450 sistemleri tarafından detoksifikasyon sırasında endoplazmik retikulum ve peroksizomlarda üretilmektedir (Luangmonkong ve ark., 2018; Lin ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmaya göre, hepatositlerin apoptozu ve nekrozunu indükleyen oksidatif değişikliklerin ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Guicciardi ve ark., 2013).

4.3.2. Endotel hücreleri

Karaciğerin yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle karaciğerde etkili bir damar sistemi gerekmektedir (Natarajan ve ark., 2017). Karaciğerin karmaşık kılcal ağı, vasküler endotel hücrelerden fenotip olarak farklı olup özel bir endotel hücre tipi olan karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri (LSEH'ler) ile kaplıdır (Shetty ve ark., 2018). Karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerin endoteliumunda bazal membran olmayıp, açık fenestrasyonlar gibi özelleşmiş morfoloji ile karakterizedir (Baiocchi ve ark., 2019). Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri üzerindeki fenestrasyonların çapı ve sıklığındaki değişiklikler; çeşitli karaciğer yaralanmaları, toksinler ve hastalıklarla ilişkilidir; bununla beraber genel karaciğer fonksiyon kaybı üzerinde etkileri bulunmaktadır (Cogger ve ark., 2020). Ayrıca, karakteristik olarak yüksek bir süpürme

işlevine sahip olan LSEH'ler organlarda bakteriyel taksis hareketi, lökosit adezyonu ve viral klerens yoluyla bağışıklık düzenlemesinde aktif rol oynamakta olup aynı zamanda değişen intrahepatik kan akışına ve basıncına aktif olarak cevap vererek karaciğer kılcal damarlarının hemodinamiğini korumaktadır. Ayrıca, LSEH'ler ve hepatositler arasındaki parakrin sinyaller, parankimin fonksiyonunda çok önemlidir ve bu hücreler karaciğer fibrozunun ilerlemesinde erken düzenleyiciler olarak kabul edilmektedir (Natarajan ve ark., 2017).

Oksidatif stres, oksidatif hasarı ve endotel fonksiyon bozukluğunu indükleyerek karaciğer fibrozunun gelişimi ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynamaktadır (Ruart ve ark., 2019). Nitrik oksit (NO) ve reaktif nitrojen türleri (RNT); hücre büyümesi ve doku rejenerasyonunun uyarılması, vasküler fonksiyonların kontrolü ve hücre ölümünün uyarılmasında görev almaktadır (Mijatović ve ark., 2020). Hücre içi NO kaynağı, NOS ile temsil edilmektedir (Förstermann ve Sessa, 2011). Bununla birlikte, endotelial NOS (eNOS) yapısal olarak aktiftir ve esas olarak NO'nun vasküler üzerindeki yararlı etkilerine aracılık ederken, indüklenebilir NO (iNOS) strese tepki olarak sentez edilir (Brenner ve ark., 2013). Endotelial nitrik oksit sentazda aktivite kaybı ve endotelin-1'in aşırı ekspresyonu gibi çeşitli değişiklikler fibroza katkıda bulunurken aynı zamanda karaciğerde portal hipertansiyona aracılık etmektedir (Natarajan ve ark., 2017).

4.3.3. Kupffer hücreleri

Kupffer hücreleri (KH), sinüzoidlerin duvarlarında bulunan yerleşik makrofajlardır (Luyendyk ve ark., 2010; Bogdanos ve ark., 2015). Aynı zamanda dokuda yerleşik olarak en fazla makrofaj popülasyonunu oluştururlar (Alabraba ve Oo, 2016). Kupffer hücreleri, ortamdaki aldıkları sinyallere bağlı olarak proinflamatuvar makrofajlar (M1), yara iyileştirici ve immünsüpresif (düzenleyici makrofajlar) makrofajlar (M2) olarak iki alt gruba ayrılır (Sato ve ark., 2016) (Tablo 7). Bu alt gruplar farklı düzenleyiciler tarafından indüklenirken farklı belirteçler ve fonksiyonel aktivite sergiler. Proinflamatuvar makrofajlar gibi pro-inflamatuvar sitokinler de tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) ve interlökin (IL-6 ve IL-1)'ler ile karakterize edilirken; M2'ler ise anti-inflamatuvar interlökinler (IL-4, IL-1)'i ifade eder (Keisaku ve ark., 2016; Koyama ve

Brenner, 2017; Roehlen ve ark., 2020). Karaciğerde meydana gelen iltihaplanma, pro-inflamatuar M1 Kupffer hücrelerinin ve antiinflamatuar M2 Kupffer hücrelerinin dengesi ile düzenlenir (Wan ve ark., 2014). Hepatosit hasarına yanıt olarak Kupffer hücreleri TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi pro-inflamatuar sitokinler ile iltihaba ve karaciğer hasarına yol açan TGF- β hepatik stellat hücreleri ve ROT'u aktive ederek fibrojenezini indüklemektedir (Reeves ve Friedman, 2020). Ayrıca hepatik makrofajlar, matriks degradasyonunda yer alarak karaciğer hasarı ve fibrozun çözülmesini destekleyen MMP-9, MMP-12 ve MMP-13 gibi çeşitli matriks metaloproteinazları (MMP) ekspresyon etmektedir (Tacke ve Zimmermann, 2014).

Tablo 1. Kupffer hücresinden uyarılan mediyatörler (Sato ve ark., 2016' dan değiştirilerek kullanılmıştır)

| Mediyatörler | Mediyatörler tarafından tetiklenen patofizyolojik olaylar |
|----------------------|---|
| M1 Kupffer hücreleri | |
| TNF- α | İnflamasyon ve apoptoz |
| IL-1 | İnflamatuvar yanıtlar, hepatik steatoz ve fibroz |
| IL-6 | İnflamasyon, hücre proliferasyonu ve karsinogenez |
| M2 Kupffer hücreleri | |
| IL-4 | Yara onarımı, karaciğer rejenerasyonu ve anti-inflamatuar yanıtlar |
| IL-10 | Anti-inflamatuar yanıtlar, fibroz, bakteri temizleme, M1 makrofajlarının apoptozu |
| IL-13 | Anti-inflamatuar yanıtlar ve fibroz |
| TGF- β | Fibroz |

Tümör nekrozis faktör alfa; proliferasyonu, inflamatuvar sitokinlerin üretimini ve hücre ölümü gibi hücrel tepkileri indükleyen bir pleiotropik sitokindir (Kalliolas ve Ivashkiv, 2016). Karaciğerde TNF- α , viral hepatit, alkolik karaciğer hastalığı, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve iskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisinde rol oynar

(Malhi ve Gores, 2008; Liu, 2009). Tümör nekrozis faktör alfa'nın karaciğerde sadece hücre ölümünün bir tetikleyicisi olarak değil aynı zamanda hepatosit proliferasyonunu ve karaciğer rejenerasyonunu tetikleyebilmesi gibi iki görevi de vardır (Schwabe ve ark., 2006).

Transforme edici büyüme faktörleri (TGF-1 β , TGF-2 β , ve TGF-3 β), hücre çoğalması, farklılaşması, apoptoz, adezyon ve göçün düzenlenmesinde yer alan çok işlevli bir sitokin ailesidir ve bu nedenle birçok hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır (Poniatowski ve ark., 2015; Morikawa ve ark., 2016). Transforme edici büyüme faktör beta 1 ise fibroz gelişiminde en önemli profibrojenik sitokin olarak kabul edilmektedir (Verrecchia ve ark., 2007). Yapılan araştırmalar ROT'un TGF- β 'nin fibrojenik aktivitesinde merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (Liu ve Desai, 2015). Transforme edici büyüme faktör, endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar gibi çok sayıda fagositik olmayan hücrelerde ROT üretimini artırmaktadır (Liu ve Gaston Pravia, 2010). İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (Nox) enzimleri, elektronları indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'lardan moleküler oksijene taşımak ve ROT oluşturmakla görevli bir protein ailesidir (Tarafdar ve ark., 2018). Transforme edici büyüme faktör beta 1'in ROT üretiminin uyarılması için gerekli olan Nox 4'ü aktive ettiği bilinmektedir (Liu ve Gaston Pravia, 2010).

Herrera ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada TGF- β 'nin sıçan hepatosit mitokondrilerinde ROT üretimini artırdığı gösterilmiştir (Herrera ve ark., 2004). Sıçan hepatositlerinde yapılan çalışmaya göre mitokondriyal ve mikrozomal enzimlerinin (sitokrom P450) ROT'u TGF-1 β aracılığı ile arttığı gözlemlenmiştir (Albright ve ark., 2003). Aynı zamanda Kayanoki ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada ise TGF-1 β 'nin antioksidan enzim ifadesini baskıladığı da gösterilmiştir (Kayanoki ve ark., 1994).

4.3.4. Hepatik stellat hücreleri

Hepatik stellat hücreler (HSH) fibroblastların ve perisitlerin özelliklerini koruyan, karaciğerin yaklaşık on beşte bir parankimal olmayan ve toplam yerleşik hücrelerin ise % 15'ini içeren yerleşik mezankimal hücreleridir (Higashi ve ark., 2017). Hepatik stellat hücreler karaciğer sinüzoidlerinin çevrelediği hepatositler ve endotel hücreler

arasındaki Disse denilen boşlukta bulunmaktadır (Pellicoro ve ark., 2014). Normal şartlarda; karaciğerde bulunan, yıldız benzeri morfolojisi ve yüksek sayıda sitoplazmik lipid damlacıkları ile karakterizedir ve bölünerek çoğalamayan perisinüzoidal olan bu hücrelerin ana işlevi A vitaminini ve diğer retinoidleri depolamaktır (Senoo ve ark., 2017). Aynı zamanda HSH, ana miyofibroblastların progenitör hücleri olduğu için fibrojenik yanıtta anahtar rol oynamaktadır (Zhou ve ark., 2014; Roehlen ve ark., 2020).

Karaciğer hasarı sonucu aktive haline gelen HSH, çoğalabilen ve kasılma gösteren bir miyofibroblast fenotipine dönüşebilmektedir (Khomich ve ark., 2019). Bu işlem sırasında, aktif olan HSH'nin yıldız şekilli morfolojileri ve lipid damlacıkları aşamalı olarak kaybolurken; aynı zamanda yüksek miktarlarda ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenler -kollajen (I, III ve IV), fibronketin, laminin ve proteoglikanlar- ve pro-inflamatuar sitokinler üretilmektedir (Senoo ve ark., 2017; Friedman, 2008). Hepatik stellat hücreler; MMP ve MMP-inhibitörleri (Doğal doku inhibitörleri: TIMP'ler) salgılayarak ESM'deki dinamik hareketin hızını kontrol etmektedir (Lurie ve ark., 2015). Ancak karaciğer fibrozu sırasında MMP'lerin TIMP'leri baskılaması ESM sentezini engeller ve nihai olarak ESM yapısında dengesizliğe yol açar (Janel ve Noll, 2014). Ayrıca ileri fibrozda yüksek sayıda HSH ve miyofibroblastların kontraktilitesi hepatik sinüzoidlerin daralmasına neden olur; bu nedenle kan akışı ve besin alışverişi etkilenecek karaciğer fonksiyon bozukluklarına katkıda bulunur (Roehlen ve ark., 2020).

Hepatik stellat hücrelerin aktivasyonu, başlangıç ve devamlılık olarak iki ana basamaktan oluşmaktadır (Lee ve Friedman, 2011). Hepatosit yaralanmasından hemen sonra başlayan ilk basamak, HSH'nin, endotel hücrelerin, Kupffer hücrelerin ve trombositlerin tetiklenerek aktive olmasıdır (Bonnardel ve ark., 2019). Aktive olan HSH, kollajen I protein ifadesindeki artışın temel bileşeni olarak kabul edilmektedir (Yang ve ark., 2014). Bununla birlikte TGF- β ; kollajen I protein ifadesini desteklerken, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ise HSH'lerin yaralanma bölgesine göçünü desteklemekte rol oynamaktadır (Chen ve ark., 2019). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, HSH'lerin bölünmesini ve çoğalmasını destekleyen bir büyüme faktörüdür (Shuhei Yoshida, 2014). Erken yaralanmalarda ise HSH'ler üzerinde aktive edici etkiye sahip olan sinüzoidal endotel hücreleri tarafından da

fibronektin üretimi teşvik edilmektedir (Marrone ve ark., 2016). Bunlara ek olarak, Kupffer hücrelerinin aktivasyonu, hücre dışı ortamda TGF- β ve ROT salgılanmasıyla HSH aktivasyonunu kolaylaştırmaktadır (Yanguas ve ark., 2016; Aydın ve Akçalı, 2018).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü normal şartlarda trombositler tarafından üretilmektedir; ancak karaciğer hasarı sırasında, Kupffer hücreleri trombositlerin intrahepatik alımına aracılık etmektedir (Ying ve ark., 2017). Ayrıca PDGF'ler; Kupffer hücreleri, endotel hücreleri ve aktive edilmiş HSH'leri sentezinin indüklenmesinde rol alabilmektedir. Trombosit türevli büyüme faktörü reseptörleri (PDGFR) ise HSH'lerin membranında sentez edilebilirken ve otokrin mekanizma yoluyla HSH'lerin aktivasyonunu uyarabilmektedir (Roehlen ve ark., 2020).

Hepatik stellat hücrelerin aktivasyonu sürdürülebilmesi için gerekli olan ikinci basamak ise HSH'lerin daha miyofibroblastik bir fenotipe sahip olmasıdır; bu onların daha da bölünebilir hücreler haline gelmesi demektir. Bu da ESM proteinlerinin üretiminin artmasına, anjiyogeneze ve bağışıklık yanıtının artmasına yol açmaktadır (Yanguas ve ark., 2016).

Kupffer hücreleri tarafından üretilen TGF- β , HSH'nin ana aktivatörü olarak kabul edilmesine rağmen; reaktif oksijen türleri de bu sürece önemli katkı sağlamaktadır (Luangmonkong ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada, karaciğer hasarı oluşturan sıçanlarda ROT'un HSH'lerin aktivasyonunda katkısı olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2001). Karaciğer kanseri üzerine yapılan bir başka çalışmada da ROT'un HSH'lerin aktivasyonunda kilit rol oynadığı görülmüştür (Ghatak ve ark., 2011).

4.3.5. Safra epitel hücreleri

Safra epitel hücreleri karaciğerin ikinci en fazla bulunan epitel hücre topluluğu ve safra kanallarının lümenini kaplayan hücrelerdir (Trefts ve ark., 2017). Karaciğer hasarı veya kronik karaciğer hastalıklarında hepatositlerin yenilenmesi ve bölünmesi tehlikeye girdiğinde, safra epitel hücreleri, duktuler reaksiyona (DR) neden olan önemli morfolojik, moleküler ve fonksiyonel değişikliklere uğrayabilmektedir (Trefts ve ark., 2017). Duktuler reaksiyon, karaciğer yaralanmalarının neden olduğu reaktif safra kanallarının çoğalması ile karakterizedir. Duktuler reaksiyon, genellikle ve

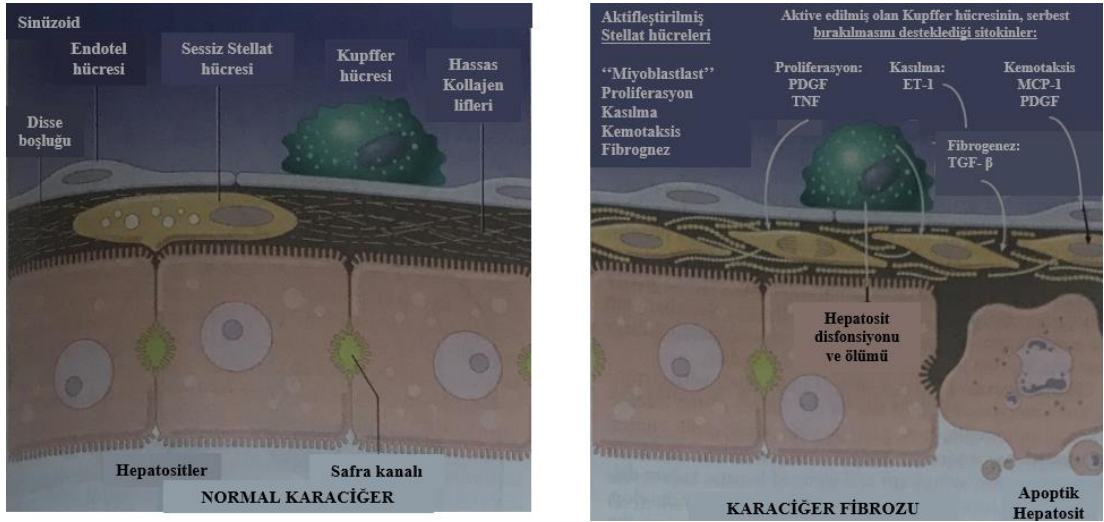
sadece safra kanalı hücrelerin çoğalması ile değil, aynı zamanda da portal bölgelerde inflamatuar hücrelerin girişi ve birikimi gibi karaciğerdeki diğer reaksiyonlarla da ilişkilidir (Sato ve ark., 2019).

4.4. Karaciğer Fibrozu

Kronik karaciğer hastalıkları (KKH) dünya çapında morbidite ve mortaliteye neden olan önemli sağlık sorunlarından biridir (Şen ve ark., 2016). Diğer önemli morbidite nedenlerinden farklı olarak, KKH'nin oranı gün geçtikçe azalmak yerine artmaktadır (Farrar ve ark., 2015). Kronik karaciğer hastalığı; viral enfeksiyon, toksine mağruz kalma, alkol bağımlılığı, metabolik hastalıklar, kolestatik ve safra bozuklukları dahil olmak üzere çok çeşitli etiyojilere cevap olarak gelişmektedir (Weiskirchen ve ark., 2018). Karaciğer fibrozu ise tüm KKH'lerin ortak bir sonucudur (Han ve ark., 2012; Janel ve Noll, 2014; Farrar ve ark., 2015). Karaciğer fibrozu tedavi edilmezse ise hastalığın ileriki aşaması olan siroza yani karaciğer yetmezliğine ve nihai olarak ölüme yol açabilmektedir (Farrar ve ark., 2015; Tsukada ve ark., 2006). Ayrıca karaciğer fibrozu; kronik portal hipertansiyon, bilyer siroz, hidropik dekompanseasyon ve kanama olaylarının yanı sıra hepatik ensefalopatinin de dahil olduğu klinik komplikasyonlarının da ana nedenidir. Sonuç olarak karaciğer sirozu şu anda dünyadaki en yaygın on birinci ve orta Avrupa'daki yetişkinlerde en sık görülen dördüncü ölüm nedenini oluşturmaktadır (Roehlen ve ark., 2020).

Karaciğer fibrozu, çok çeşitli kronik uyaranlara karşı yara iyileştirici yanıt olarak gelişen, ESM'in sentez ve yıkılmasındaki dengesizliğin sonucu olarak kabul edilen dinamik bir süreçtir (Tsukada ve ark., 2006; Xu R ve ark., 2012). Genellikle hepatosit hasar ile başlayan karaciğer fibrozu, inflamatuar hücrelerin ve trombositlerin toplanmasına, Kupffer hücrelerinin aktivasyonuna ve daha sonra sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salıverilmesi ile devam eder (Dulundu ve ark., 2007; İşeri ve ark., 2008). Karaciğer fibrozunun ana basamağını ise hepatik stellat hücrelerinin aktivasyonu ve dengesiz kolajen sentezinin başlaması oluşturur (Shin ve ark., 2017).

Karaciğer fibroz oluşumu Şekil 1’de gösterildiği gibidir:



Şekil 1. Karaciğer fibroz oluşumu (Kumar ve ark., 2009)

Karaciğerde, süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) çeşitli fizyolojik süreçlerde sürekli olarak üretilir ve redoks durumundaki değişiklikler karaciğer fibrozun gelişiminde ayrılmaz bir parçasını oluşturur (Luangmonkong ve ark., 2018). Kronik karaciğer hastalıkları, hastalığın nedenine bakılmaksızın, neredeyse her zaman artan oksidatif stres ile karakterizedir. Nitekim çeşitli hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar da karaciğer hastalıklarının ROT sonucu oluşan hasara ve lipid peroksidasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir (Cichoż-Lach ve Michalak, 2014).

4.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller (SR), dış orbitallerinde eşlenmemiş bir ya da daha fazla elektrona sahip olan moleküller, atomlar ya da iyonlardır (Cheeseman ve Slater, 1993; Di Meo ve Venditti, 2020). Serbest radikaller elektron alarak veya kaybederek bileşik oluşturabilirler (Delibaş ve Özcankaya, 1995). Bu da bir çok SR reaktif ve kararsız olmasına neden olmaktadır (Lobove ark., 2010). Serbest radikaller eşleşmemiş elektrona sahip oldukları için diğer moleküllerle de kolaylıkla reaksiyona girebilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Serbest radikaller, hem endojen kaynaklı insan vücudundaki normal temel metabolik süreçlerden (mitokondri, peroksizomlar, endoplazmik retikulum, fagositik hücreler gibi) hem de eksojen kaynaklı çevre kirliliği, X-ışınları, radyasyon, ozon, parasetamol, sigara kullanımı, ağır metaller, geçiş metalleri (demir, bakır), pestisitler ve endüstriyel kimyasallara maruz kalma gibi enzimatik ya da enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkabilmektedir (Lobo ve ark., 2010; Phaniendra ve ark., 2015).

Serbest radikaller; nükleik asit, lipit ve proteinler gibi çeşitli önemli biyolojik molekül sınıflarını olumsuz yönde etkileyebilmekte ve böylece oksidatif stresin artışına neden olarak redoks tepkimelerine yol açabilmektedir (Espinosa-Diez ve ark., 2015). Serbest radikallerin indüklemesiyle oksidatif stresin neden olduğu diyabetes mellitus, nörodejeneratif bozukluklar (Parkinson hastalığı-PD, Alzheimer hastalığı-AD ve Multipl skleroz-MS), kardiyovasküler hastalıklar (ateroskleroz ve hipertansiyon), solunum hastalıkları (astım), katarakt gelişimi, romatoid artrit, ülserif kolit gibi çeşitli hastalıklarla beraber çeşitli kanserlerde (kolorektal, prostat, meme, akciğer, mesane kanserleri) rol oynadığı bildirilmiş ve aynı zamanda oksidatif stresin yaşlanma sürecinde hızlandırıcı bir etkisi olduğu da bilinmektedir (Phaniendra ve ark., 2015; Pisoschi ve ark., 2016).

Serbest reaktif oksijen türleri ve RNT olarak iki türe ayrılmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016). Serbest radikallerin bazıları reaktifken bazıları ise katıldığı bazı reaksiyonlar sonucunda reaktife dönüşmektedir. Reaktif oksijen türleri ve RNT organizmada hem faydalı hem de toksik bileşikler olarak çift yönlü rol oynamaktadır (Phaniendra ve ark., 2015).

ROT ve RNT türleri Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri (Ekinci ve Sağdıç, 2008)

| Reaktif Oksijen Türleri (ROT) | |
|--------------------------------------|----------------------------|
| Radikaller | Radikal olmayanlar |
| Süperoksit $O_2^{\bullet-}$ | Hidrojen peroksit H_2O_2 |
| Hidroksil OH^{\bullet} | Hipokloroz asit $HOCl$ |
| Peroksil RO_2^{\bullet} | Ozon O_3 |
| Alkoksil RO^{\bullet} | Singlet oksijen 1O_2 |
| Hidroperoksil HOO^{\bullet} | Peroksinitrit $ONOO^-$ |

| Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) | |
|---------------------------------------|------------------------------|
| Radikaller | Radikal olmayanlar |
| Nitrik oksit NO^{\bullet} | Nitrosil NO^+ |
| Azot dioksit NO_2^{\bullet} | Nitrikoksit NO^- |
| | Nitroz asit HNO_2 |
| | Dinitrojen trioksit N_3O_3 |
| | Nitronyum iyonu NO^{2+} |
| | Peroksinitrit $ONOO^-$ |
| | Alkil peroksinitrit $ROONO$ |

Yaşam için vazgeçilmez bir element olan oksijen (O_2), belirli durumlarda insan vücudu üzerinde zararlı etki de gösterebilmektedir (Lobo ve ark., 2010). Oksijen yaşam için zorunludur; ancak solunum ile alınan oksijenin % 5’inden fazlası organizmada ROT’a dönüşmektedir (Valavanidis ve ark., 2013; Davies ve ark., 2017).

Serbest radikaller orta ve düşük konsantrasyonlarda; patojenik mikroorganizmalara karşı savunma da (bağışıklık fonksiyonu), hücre homeostazisinin korunmasında, redoks regülasyonu, hücrel sinyal yolu, nekroz, apoptoz, proteaz aktivitelerinin düzenlenmesi, ve mitojenik yanıtta rol oynamaktadır (Phaniendra ve ark., 2015; Zuo ve ark., 2015; Hussain ve ark., 2016; Luangmonkong ve ark., 2018). Ancak yüksek

konsantrasyonlarda ROT ve RNT üretimi antioksidan savunma kapasitesini aşmakta ve antioksidanlar serbest radikalleri nötralize edememektedir. Bunun sonucunda serbest radikaller normal redoks dengesini bozmakta ve oksidatif strese neden olmaktadır (Zuo ve ark., 2015; Mello ve ark., 2016; Luangmonkong ve ark., 2018). Bu koruyucu mekanizmadaki dengesizlik sonucu aşırı serbest radikaller; DNA, proteinler ve lipitler gibi hücrel makromoleküllerin hasar görmesine neden olmaktadır (Hussain ve ark., 2016).

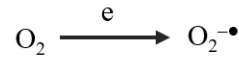
Serbest oksijen radikalleri, membran lipitlerini etkileyerek lipit peroksidasyonunu başlatmaktadır (Ayala ve ark., 2014). Lipit peroksidasyonu, radikaller ile membran üzerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile başlayan ve oto katalitik zincir reaksiyonları ile devam eden reaksiyon sürecidir ve bu reaksiyonlar sonucunda organizmada birçok hasar oluşmaktadır (Lobo ve ark., 2010). Bu reaksiyon süreci sonucunda malondihaldehid (MDA) gibi birçok aldehit ürünü oluşmaktadır (Barrera ve ark., 2018). Malondihaldehid en önemli lipit peroksidasyon ürünüdür ve hücre membran proteinlerinin çapraz bağlanması, membrana bağlı reseptör ve membran enzimlerinin aktivitesini ortadan kaldırarak; membranda bulunan proteinlerde hasar meydana getirmektedir (Eken, 2017; Süleyman ve ark., 2018).

Membranın önemli bir bileşeni olan proteinler, reaktif oksijen türleri için olası bir hedef olabilmektedir. Özellikle hidroksil radikali (OH[•]), alkoksi radikali (RO[•]) ve nitrojen reaktif radikalleri protein hasarına neden olmaktadır (Collin, 2019). Proteinler içerdikleri aminoasit içeriğine göre serbest radikallerden etkilenme dereceleri değişmektedir. Protein hasarı, proteinlerde enzimatik aktivite kaybına, membran potansiyelinin oluşumunun engellenmesine ve hücrel proteinlerin seviyesi ve tiplerindeki değişikliklere neden olmaktadır (Kohen ve Nyska, 2002; Eken, 2017; Süleyman ve ark., 2018).

Serbest radikaller DNA üzerinde büyük ölçüde oksidatif strese neden olmaktadır (Gafer-Gvili ve ark., 2013). Serbest radikallerin DNA ile etkileşimi, pürin ve pirimidin bazlarının oksidasyonuna neden olmaktadır (Cadet ve Wagner, 2013). Oksitlenmiş bazlar arasında 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) promutajenik potansiyeli en yüksek olan baz hasar ürünüdür ve aynı zamanda oksidatif DNA hasarının önemli göstergesidir (Atmaca ve Aksoy, 2009; Akkaya ve ark., 2017).

Serbest radikallerin hepsi aynı derecede toksik değildir. En reaktif ve dolayısıyla en zarar veren oksijen bazlı serbest radikal hidroksil radikali iken, en zararlı azot bazlı serbest radikal ise peroksinitrit anyonudur (Cichoż-Lach ve Michalak, 2014).

Süperoksit anyon radikali, aerobik organizmalarda oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşan ve metabolizmada en çok karşılaşılan ana oksijen radikali olarak bilinmektedir (Gökhan, 2007; Özcan ve ark., 2015).



Hücrenin çoğunlukla mitokondirisinde üretilen bu radikal, ATP'nin ana kaynağı olan elektron taşıma sisteminde enerji dönüşümü esnasında az bir miktar elektron kaçağı nedeniyle oksijenin süperoksit anyon radikaline dönüşmesi sonucunda endojen olarak oluşmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).



Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda süperoksit anyon radikali oluşabilmektedir (Özcan ve ark; 2015).



Süperoksit anyon radikali diğer radikallere göre daha az reaktiftir. Ancak süperoksit anyon radikalini temizlemede rol alan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2)'e indirgenmektedir (Collin, 2019). Böylece süperoksit radikali hidrojen peroksit kaynağı haline gelmiş olmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).



Süperoksit anyon radikalinin nitrik oksit (NO^{\bullet}) ile birleşmesi ile peroksinitrit (ONOO^-) olarak adlandırılan reaktif bir oksijen türüne dönüşmektedir (Pacher ve ark., 2007). ONOO^- ise metabolize edilerek nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-)'a dönüşmektedir. Ayrıca

ONOO⁻, OH[•], azot dioksit (NO₂[•]), nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik etki gösteren ürünlere dönüşebilmektedir (İnaç, 2009).

Süperoksit anyon radikalinin SOD enzimi ile indirgenmesiyle oluşan H₂O₂ aslında bir radikal olmamasına rağmen biyokimyasallarla reaksiyona girerek diğer reaktif oksijen türlerine göre daha fazla zarar verebilmektedir (Kohen ve Nyska, 2002).

Hidrojen peroksit, nötrofillerin içlerinde bulunan miyeloperoksidaz (MPO) enzimi aracılığı ile hipokloröz (HOCl)'e dönüşebildiği gibi Fe⁺² gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek OH[•] radikalinin oluşumuna neden olmaktadır (Kettle ve Winterbourn, 1997). Hidrojen peroksit aynı zamanda katalaz (KAT) veya glutatyon peroksidaz (GSH-Px) olarak adlandırılan antioksidanlar tarafından toksik olmayan ürünlere de dönüşmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Hidroksil radikali, hidroksit iyonun nötr formudur ve oldukça reaktif bir serbest radikaldir (Bedwell ve ark., 1989). DNA, proteinler, lipitler ve karbonhidratlar dahil olmak üzere hem organik hem inorganik makromoleküllerle kuvvetli reaksiyona girebilirler ve diğer ROT'lara göre hücrelere çok daha ciddi zararlar verebilirler. Ayrıca yarılanma ömrü kısa olan bir radikaldir (Mokudai ve ark., 2012). Serumda demir transferin ve seruloplazmin olarak depolanan bakır gibi geçiş metallerinin H₂O₂ ile fenton reaksiyonuna girmesi ve son olarak süperoksit anyon radikalinin varlığı ile Haber-Weiss reaksiyonu sonucu OH[•] oluşmaktadır (Das ve ark., 2014). Aynı zamanda suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da OH[•] oluşmaktadır (Tablo 3) (İnaç, 2009; Phaniendra ve ark., 2015).

Tablo 3. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları

| | |
|--------------------------------|--|
| Fenton Reaksiyonu | |
| $Fe^{+2} + H_2O_2$ | $\xrightarrow{\hspace{1cm}} Fe^{+3} + OH^{\bullet} + OH^{-}$ |
| Haber- Weiss Reaksiyonu | |
| $O_2^{\bullet-} + H_2O_2$ | $\xrightarrow{H^+} O_2 + H_2O + OH^{\bullet}$ |

İndüklenebilir nitrik oksit sentazın ürettiği NO inflamasyonun birincil kaynağı olduğu düşünülmektedir (Zamora ve ark., 2000). Karsinogenez ve oksidatif stres sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (Beevi ve ark., 2004). Nitrik oksit, iNOS enzimi yoluyla inflamasyonun uyarılması ile makrofajlar tarafından oluşturulmaktadır. Oluşan NO,

peroksinitrit üretmek için mitokondriden türetilmiş $O_2^{\bullet-}$ ile birleşerek NO'nun biyoyararlanımını azaltır (Wei ve ark., 2019).

4.6. Antioksidan Savunma Sistemi

Antioksidanlar, SR'lere bir elektron vererek onları nötröle eden ve SR'lerin hasar kapasitesini azaltan kararlı moleküllerdir (Lobo ve ark., 2010).

Antioksidanlar, serbest radikalleri tutma ya da zayıf moleküller oluşturacak şekilde dönüştürmeleri ile toplayıcı etki; özellikle vitamin ve flavonoid formundaki antioksidanların serbest radikallere bir hidrojen molekülü ekleyerek etkilerini sınırlama ya da reaksiyonları sonlandırarak zararsız hale getirerek bastırıcı etki; serbest radikallerin zincirlerini kırarak zincir kırıcı etki; serbest radikallerin oluşturdukları hasarları onararak onarıcı etki; oksidasyon reaksiyonlarını sonlandırarak hücredeki kinazların kayıplarını önleyici etki; enzim olan antioksidanlar ile enzim olmayan antioksidanların sentezini artırarak enzimatik etki gibi çeşitli mekanizmalar üzerinden etkilerini göstermektedirler (Konukoğlu, 1997; Aydemir ve Sarı, 2009).

Antioksidanlar endojen antioksidanlar ve eksojen antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Antioksidan grupları Tablo 4, 5, 6 ve 7'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Enzimatik endojen antioksidanlar

| Enzimatik Endojen Antioksidanlar | Reaksiyon |
|---|---|
| Süperoksit Dismutaz (SOD) | <p>Süperoksit anyon radikalinin ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene indirgenmesinde rol oynamaktadır (Younus, 2018).</p> $2 O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$ |
| Katalaz | <p>Hidrojen peroksiti (H_2O_2), su ve oksijene dönüştürülmesinde rol oynamaktadır (Mahaseth ve ark., 2017).</p> $2 H_2O_2 \xrightarrow{Katalaz} 2 H_2O + O_2$ |
| Glutasyon Peroksidaz (GSH-PX) | <p>H_2O_2 veya organik hidroperoksitlerin suya veya karşılık gelen alkollere GSH kullanılarak indirgenmesini katalize etmektedir (Margis ve ark., 2008).</p> $2 GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GSHPx} GSSG + 2 H_2O$ |
| Glutasyon Redüktaz | <p>Okside edilmiş glutasyonu (GSSG) indirgeniş forma (GSH) geri dönüştüren önemli bir enzim olarak rol oynamaktadır (Couto ve ark., 2016).</p> $GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{Glutasyon Redüktaz}} 2 GSH + NADP^+$ |
| Glutasyon S-Transferaz (GST) | <p>Toksik organik hidroperoksitleri temizleyen GSH'a bağlı peroksidaz reaksiyonlarını katalize ederek oksidatif hasara karşı önemli rol oynamaktadır (Kim ve ark., 2017; Liang ve ark., 2018).</p> |
| Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz | <p>Mitokondriyal solunum zincirinde bulunan sitokrom oksidaz $O_2^{\bullet-}$'nin detoksifikasyonunda rol oynamaktadır (Aydemir ve Sarı, 2009).</p> |

Tablo 5. Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

| Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar | Reaksiyon |
|---|--|
| Melatonin | Lipid özelliğinden dolayı bir çok hücreye kolayca girebilen melatonin, doğrudan serbest radikallerin detoksifikasyonunu sağlayan, dolaylı olarak ise pro-oksidan enzim aktivitesini bastıran ve aynı zamanda Fenton/Haber-Weiss reaksiyonlarında yer alan geçiş metalleri ile şelasyon oluşturan bir antioksidandır. Bu sayede hidroksil radikali oluşumunu azaltarak oksidatif stresin de azalmasına neden olur (Reiter ve ark., 2016). |
| Glikoz | Serbest radikallerin aşırı üretimini önlemektedir (Semenza ve ark., 2017). |
| Glutasyon (GSH) | Temel bir antioksidan olan GSH, serbest radikalleri süpürerek oksidan-antioksidan dengesini korumakta rol oynamaktadır (Konukoğlu ve Akçay, 1995). Glutasyon, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda hayati öneme sahip bir antioksidandır. Aynı zamanda redoks sinyalinde önemli bir belirleyicisidir ve hücre proliferasyonunu, apoptozu, bağışıklık fonksiyonunu ve fibrojenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Lu, 2013). |
| Laktoferrin | Uygun pH değerinde demire bağlanarak ROT üretiminin baskılanmasına neden olmaktadır (Hao ve ark., 2019). |
| Transferrin | Demir iyonlarına bağlanarak serbest radikal oluşumunu önleyen bir proteindir (Kibel ve ark., 2008). |
| Seruloplazmin | Bakır taşınmasında, organik aminlerin oksidasyonunda, demir (II) oksidasyonunda ve hücrel demir seviyelerinin düzenlenmesinde ve radikalini süpürülmesinde rol oynamaktadır (Healy ve Tipton, 2007). |
| Ürik Asit | Peroksinitrit, hidroksil ve demir içeren serbest radikaller gibi önemli ve tehlikeli pro-oksidanları nötralize edebilen ve plazmada en seçici olarak bilinen antioksidanlardan biridir (Roumeliotis ve ark., 2019). |
| Albumin | Proteinlere ve metallere bağlananan bir antioksidandır. Demire bağlanarak Fenton reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikalini önlemektedir (Roche ve ark., 2008). |
| Bilirubin | Peroksil radikalini süpürücüsü olarak görev yapmaktadır (Stocker ve ark., 1987). |

Tablo 6. Vitamin eksojen antioksidanlar

| Vitamin Eksojen Antioksidanlar | Reaksiyon |
|--|--|
| Vitamin E (α-tokoferol) | Peroksil radikallerini temizleyen ve çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu sonlandıran, yağda çözünen büyük bir antioksidandır. E vitamini varlığında, peroksil radikalleri lipit hidroperoksit yerine α - tokoferol ile reaksiyona girer, peroksil radikal üretiminin zincir reaksiyonu durdurulur ve yağ asitlerinin hücre zarında daha fazla oksidasyon üretmesini engeller (Lee ve Han, 2018). |
| β- karoten | Lipit peroksidasyonuna ve oksidatif strese karşı süpürücü etkisiyle antioksidan olarak görev almaktadır (Hira ve ark., 2019). |
| Vitamin C (askorbikasıit) | Reaktif oksijen türlerini süpüren ve aynı zamanda önemli hücresel ve membran antioksidanların (GSH ve E vitamini) yenilenmesine yardımcı olan suda çözünen bir antioksidandır (Carr ve Maggini, 2017). |
| Koenzim Q (ubikinon) | Mitokondriyal iç zarda hem önemli bir elektron taşıyıcısı hem de önemli bir antioksidan olarak görev almaktadır. İndirgenmiş form olan ubikinol, doğrudan zincir kırıcı antioksidan olarak hareket ederken dolaylı olarak da E Vitaminini geri dönüştürerek lipit peroksidasyonunu azaltmaktadır (James ve ark., 2004). |

Tablo 7. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

| İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar | Reaksiyon |
|--|--|
| Allopurinol, oksipurinol, pterin aldehit, tungsten | Ksantin oksidaz reaksiyonunu engelleyerek, süperoksit anyon radikali ve hidroksil radikelinin oluşumunu engellemekte rol oynamaktadır (Aydemir ve Sarı, 2009; Alem ve ark., 2018). |
| Adenozin, lokal anastezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvarlar | İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, oksidaz aktivitelerini inhibe etmekte rol oynamaktadır (Godfraind ve ark., 2005; Aydemir ve Sarı, 2009). |
| Trolox-C | Vitamin E'nin analogudur. E vitaminine benzer antioksidan olarak görev almaktadır (Abudu ve ark., 2006). |
| Ebselen, asetilsistein | Glutasyon peroksidaza benzer şekilde ROT türlerinin indirgenmesini katalize etmektedir (Adil ve ark., 2018; Azad ve Tomar, 2014). |
| Mannitol | Serbest radikeller için süpürücü antioksidan özelliği göstermektedir (Andre ve Villain, 2017). |
| Desferroksamin | Serbest demiri bağlayarak hidroksil radikalinin oluşmasını engellemektedir (Holden ve Nair, 2019). |
| Demir şelatörleri | Serbest demiri bağlayarak Fenton reaksiyonunu ve bu reaksiyon sonucu oluşan hidroksil radikali oluşumunu engellemekte rol oynamaktadır (Carocci ve ark., 2018). |

4.7.Oksidatif Stres Biyobelirteci Olarak Kullanılan Parametreler

Lipid peroksidasyonu için; MDA, LDL, ileri lipid oksidasyon ürünleri, 4-hidroksinonenal, okside LDL antikorları, akrolein ölçümü yapılmaktadır (Czerska ve ark., 2015).

Protein oksidasyonu için; tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS), ileri oksidasyon protein ürünleri, ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) ölçümü yapılmaktadır (Czerska ve ark., 2015).

Karbonhidrat oksidasyonu için; karbonil ve 3-nitrotirozin ölçümü yapılmaktadır (Czerska ve ark., 2015).

Nükleik asit oksidasyonu için; reaktif aldehitler, azaltılmış şeker (askorbat, riboz vb.) ve 8-OHdG ölçümü yapılmaktadır (Czerska ve ark., 2015).

Antioksidanlar için; GSH-Px, glutatyon redüktaz, glutatyon S-tansferaz, redükte GSH, SOD, katalaz aktivitesi ölçümü yapılmaktadır (Marrocco ve ark., 2017).

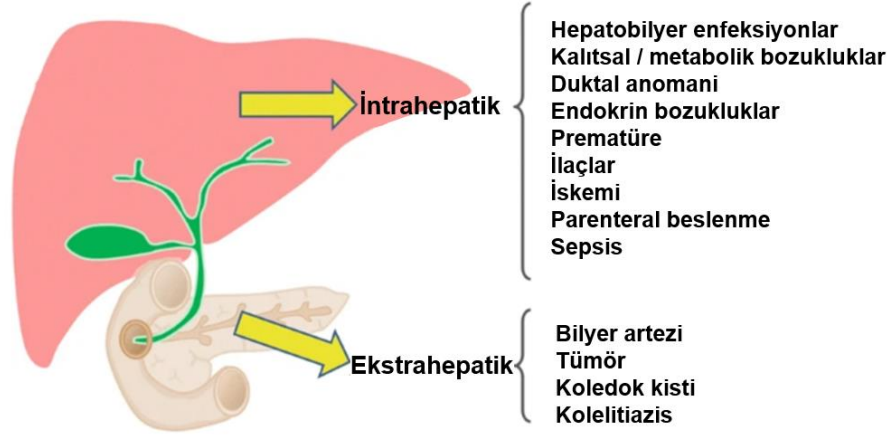
Vitamin antioksidanlar için; Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E ve β -karoten ölçümü yapılmaktadır (Jansen ve Ruskovska, 2015).

4.8.Kolestaz

Safra asitleri, hepatositler içinde kolesterolden sentezlenen hem hidrofilik hem de hidrofobik olan amfipatik moleküllerdir (Chiang, 2013). Bu bileşikler sentez sonrası safraya salgılanmakta ve sindirime katıldıkları proksimal ince barsak lümenine girmektedir (Dawson, 2011). Safra asitleri terminal ileumda yeniden emilmekte ve portal damardan etkili bir şekilde hepatositlere geri taşınmaktadır, bu da enterohepatik dolaşım olarak adlandırılan fizyolojik bir süreci oluşturmaktadır (Malhi ve ark., 2010).

Kolestaz, safra yollarının tıkanmasının bir sonucudur (Woolbright ve ark., 2020). İntrahepatik ve ekstrahepatik kolestaz olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (Panqueva, 2014). Ekstrahepatik kolestaz, ortak safra kanalını veya porta hepatisin yakınındaki ana safra kanallarını içeren mekanik tıkanıklıktan kaynaklanırken, intrahepatik kolestaz ise hepatosit veya karaciğer içindeki mikroskopik safra kanallarındaki bir kusurdan kaynaklanmaktadır (Meyer ve Chiapella, 1985). Safra içeriğinin birikmesi sonucu karaciğer ve kanda yüksek seviyelerde bilirubin ve safra tuzlarının oluşmasının yanı sıra düzensiz lipit metabolizmasına da sebep olmaktadır. Bu nedenle de hastalar genellikle hiperbilirubineminin bir sonucu olarak sarılık göstermektedir (Chen ve ark., 2018).

Kolestazın oluşum nedenleri Şekil 2’de özetlenerek gösterilmiştir.



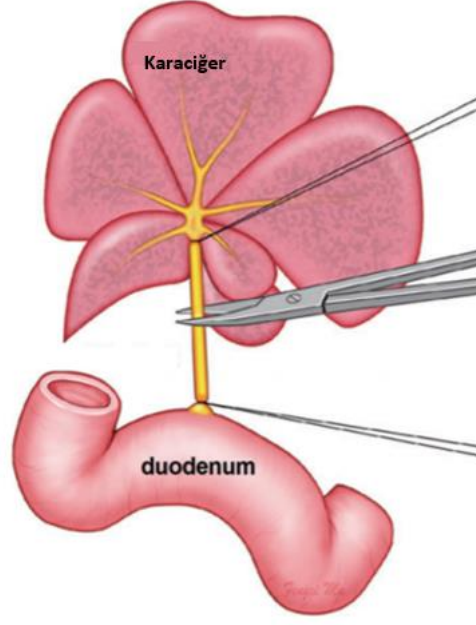
Şekil 2. Kolestazın oluşum nedenleri (Chen ve ark., 2018)

Karaciğerde safra asitlerinin birikmesinin, kolestaz sırasında karaciğer hasarının önemli bir faktörü olduğu, bunun sonucunda da karaciğer fibrozuna ve siroza yol açabileceği düşünülmektedir (Jüngst ve ark., 2013). Sitotoksik inflamatuvar moleküller kolestaz sırasında birikmekte ve karaciğer hasarını yayabilmektedir (Woolbright ve ark., 2020). Ayrıca kolestatik koşullarda hepatositler, hepatosit hasarını tetikleyen toksik safra asidi konsantrasyonuna maruz kalmaktadır. Bu nedenle, etiopatogenezinden bağımsız olarak herhangi bir kolestatik süreç, safra asidi toksisitesine bağlı ikincil bir yaralanma süreci ile ilişkili olabilmektedir (Malhi ve ark., 2010).

4.9.Safra Kanalı Bağlama Yöntemi

Safra kanalı bağlama (SKB), safra kanalının çift ligasyonuna dayanan safra fibrozu ve kolestatik yaralanmayı indükleyen en yaygın ve hızlı olan cerrahi tabanlı bir modeldir (Aydın ve Akçalı, 2018; Janel ve Noll, 2014; Lee ve ark., 2011). Bu model ilk defa sıçanlarda oluşturulmuş ve daha sonra farelere uygulanmıştır (Yanguas ve ark., 2016). Kemirgenlerde safra kanalı bağlama yönteminin protokolü otuz yıldan fazladır kullanılmaktadır. Safra kanalı bağlama protokolü basittir, cerrahi prosedür nispeten hızlı bir şekilde uygulanabilmektedir. Hayvanların hayatta kalma oranları ise % 95'ten yüksektir (Tag ve ark., 2015). Bu protokol bir midventral laparotomi ve duodenumun üstünde ortak safra kanalının izolasyonunun ardından safra kanalının çift ligasyonu ve

ligatürler arasında diseksiyon gerektirir, böylece bir obstrüktif kolestaz modeli oluşturulur (Mariotti ve ark., 2018, Şekil 3). Safra kanalının tıkanması, safra epitel hücreleri tarafından biliyer basınç, hafif inflamasyon ve sitokin sekresyonunda artışlara neden olur ve böylece kolestaz oluşturulmuş olur (Yanguas ve ark., 2016).



Şekil 3. Safra kanalı bağlama yöntemi (Yang ve ark., 2015)

Safra kanalı bağlama yöntemi, etiyolojik ve patolojik olarak insan safra fibrozuna benzeyen bir tür karaciğer fibrozuna neden olmaktadır (Zhong ve ark., 2003). Hepatositlerin hasar görmesi stellat hücrelerin aktifleşmesi ile sonuçlanırken, matriks üretimi üzerinde de doğrudan uyarıcı etkiye sahip olabilir ve ayrıca lipid peroksidlerin üretimine yol açabilir ki bu da antioksidan seviyesinde düşüşe neden olur (Gedik ve ark., 2004; Serviddio ve ark., 2004).

Karaciğer hasarını belirlemek için kullanılan parametreler arasında serum ALT, AST, total bilirubin kullanılmaktadır (Lehmann-Werman ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmaya göre, safra kanalı bağlanan sıçanlarda karaciğer hasarı ve oksidatif stres arasındaki ilişkiye bakılmış ve sonuç olarak lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA' nın karaciğer dokusunda arttığı gözlemlenmiştir (Sadeghi ve ark., 2019). Yapılan bir başka çalışmada da karaciğer hasarı oluşturulan safra kanalı bağlanan sıçanların MDA seviyesi yüksek bulunmuşken, aynı zamanda ALT ve total bilirubin seviyeleri de oldukça yüksek bulunmuştur (Parola ve ark., 1996).

4.10. Maydanoz

Dünyada yaklaşık olarak 1 000 000 bitki türünün bulunduğu düşünülmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı ise günden güne artış göstermektedir. Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)' nün yaptığı araştırmada, dünya çapında tıbbi amaçlar için kullanılan yaklaşık 21 000 bitki listelenmiştir. Tıbbi amaçlı kullanılan bu bitkilerin 150 tane türü ticari amaçla yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve ilgi artmıştır. Kullanılan birçok geleneksel ilaç; şifalı bitkiler, mineraller ve organik maddelerden elde edilmektedir (Baytop, 1999; Joseph ve Jini, 2011; Zohary ve Hopf, 2000).

Maydanoz (*Petroselinum crispum*), Apiaceae familyasına ait özel kokulu, parlak yeşil, tüsüz, binal bir bitkidir (Awe ve Banjoko, 2013; Baytop, 1999). Maydanoz yemeklerde, salatalarda ve soslarda uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmasıyla beraber aynı zamanda ilaç, parfüm, sabun ve krem imalatında da kullanılmaktadır (Mahmood ve ark., 2014; Özsoy-Saçan ve ark., 2006).

Maydanoz, uçucu yağlar (apiol, limonen ve öjenol), flavonoidler (luteolin, apigenin, glikozitler ve kuersetin), kumarin, flavonitler, askorbik asit, tokoferol, tanenler, steroller, A ve K vitaminleri, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi çeşitli antioksidanlar bakımından zengindir; ayrıca flavonoid, karotenoid ve askorbik asit içeriği nedeniyle güçlü bir antioksidan, antihepatotoksik, antimikrobiyal, antikoagulan, antinflamatuar ve antihiperlipidemik gibi tıbbi özellikte göstermektedir (Farzaei ve ark., 2013; Mahmood ve ark., 2014; Vora ve ark., 2009; Akıncı ve ark., 2017).

Maydanoz, hipertansiyon, hiperlipidemi, hepatotoksik, diyabet, kalp hastalığı, böbrek hastalığı, egzama, burun kanaması, böbrek taşları, ağız kokusu, anemi, hiperürisemi, kabızlık, ağrı, kellik, idrar yolu hastalıkları, kulak ağrısı, obezite, sıvı tutulması ve idrar yolu enfeksiyonları gibi rahatsızlıklar üzerinde faydası olduğu bilinmektedir. Maydanozun sıvı tutulmasını engellemekteki rolü ise böbrekteki sodyum/potasyum adenozin trifosfataz (Na^+/K^+ -ATPaz) pompasını inhibe ederek diürezisi artırmak böylece potasyum emilimini artırırken aynı zamanda sodyum ve su atılımına katkı sağlamaktır (Awe ve Banjoko, 2013).

Maydanoz (*Petroselinum crispum*) ile daha önce yapılmış in vivo çalışmalarda bitkinin metanol ekstresinin, süperoksit anyon radikalini uzaklaştırıcı bir etkisi olduğu görülmüştür (Uyar ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışma da ise streptozotosin etkisi ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda maydanoz ekstraktının karaciğer dokusu üzerine etkisi araştırılmış, maydanoz verilen grupta karaciğer lipid peroksidasyonu seviyesinde düşüş, GSH seviyelerinde ise artış meydana gelmiştir (Özsoy-Saçan ve ark., 2006). Maydanoz ile yapılan başka çalışmalarda; hepatoselüler karsinoma hücrelerine (HepG2) karşı antikanser etkisi, diyabetli sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada ise hepatoprotektif etkisi gösterilmiştir (Farshori ve ark., 2014; Bolkent ve ark., 2004). *Petroselinum crispum* ekstresinden yapılan bir çalışmada da *P. crispum*'un antioksidan özelliğinin, DNA hasarına karşı koruma ve kanser hücrelerinin çoğalmasını ve metastazını engellediği kanıtlanmıştır (Tag ve ark., 2015).

Bu çalışmada, deney hayvanlarında safra kanalı ligasyonu modeli ile oluşturulan karaciğer hasarı maydanoz ekstresi kullanılarak, hasar üzerindeki potansiyel koruyucu veya önleyici etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Hayvanlar

Çalışmamızda deney hayvanları ile ilgili tüm prosedürler, NIH kılavuzuna (NIH Yayınları No. 8023, revize 1978) uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmamızda 200-300 gram ağırlığında dişi Norvecigus Sprague Dawley türü sıçan (n= 24) kullanıldı. Çalışma boyunca kullanılan sıçanlar poliakrilik malzeme (60x40x40 cm) ile yapılan kafeslerde her kafeste 4 adet olacak şekilde barındırıldı. Çalışmada kullanılmış olan hayvanlar, 22 ± 2 ° C sabit sıcaklık % 50 ± 5 nemli ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda tutulup, hayvanların standart pellet yemi ve suya serbest erişimine izin verildi. Bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun onayı (13/01/2020, Karar No: 04.2020.mar, Ek 1) alınarak yapılmıştır.

5.2. Maydanoz Ekstresinin Hazırlanması

Çalışmada kullandığımız maydanoz ekstresini, İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalından alınmıştır.

Lokal marketten alınan maydanoz distile su ile yıkandıktan sonra oda temperaturünde gölgede kurutulan 50 gr kurutulmuş maydanoz yaprağı 500 ml distile su ilave edilerek 30 dakika geri soğutucu altında kaynatıldı. Açığa çıkan ekstrakt süzüldü. Süzülen maydanoz ekstratının suyu liyofilizatörde uçurulup elde edilen toz halindeki maydanoz ekstresi -20°C de saklandı.

5.3. Safra Kanalı Bağlama Yöntemi

Anestezi sonrası (ketamin 100mg/kg ve ksilazin 10 mg/kg) orta hat kesisi ile karın bölgesi açıldı. Criado ve ark tekniğine uygun olarak karaciğer lobları ile duodenumun arasından yerleşmiş olan safra kanalı gözlendi ve çevre dokulardan temizlendi. Ortaya çıkarılan safra kanalına birincisi hepatik kanalın birleşiminin altında ikincisi ise pankreatik kanalın girişinin üzerine olacak şekilde tıkanma oluşturmak amacıyla iki yerden 4,0 ipek ile düğüm atıldı ve bu iki düğüm arasındaki bağlantıya kesi işlemi

yapıldı. Son olarak cilt ve cilt altı birbirinden bağımsız olarak devamlı sütürlü kapatılıp, cerrahi işlem tamamlandı (Criado ve ark. 1997). Taklit operasyonlu sıçanlarda ise, karında bir kesi yapıldı ve daha sonra herhangi bir tedavi olmaksızın kapatıldı.

5.4. Gruplar ve Deney Protokolü:

Çalışmamızda her grupta 8 sıçan olacak şekilde randomize 3 grup oluşturuldu.

GRUP 1: Kontrol Grubu: Bu gruptaki 8 sıçana taklit operasyon gerçekleştirilerek sıçanlara 28 gün boyunca sadece oral yoldan 0,5 ml serum fizyolojik (SF) uygulaması yapıldı.

GRUP 2: Safra Kanalı Bağlı Grup (SKB): Bu gruptaki 8 sıçana safra kanalı bağlama işlemi gerçekleştirildi. Safra kanalı bağlanmış olan sıçanlara 28 gün boyunca oral yoldan 0,5 ml serum fizyolojik (SF) uygulandı.

GRUP 3: Maydanoz tedavili SKB Grubu (SKB+ MYZ): Bu gruptaki 8 sıçana safra kanalı bağlama işlemi gerçekleştirildi. Safra kanalı bağlanmış olan sıçanlara 28 gün boyunca oral yoldan % 0,9 luk serum fizyolojik (SF) içinde çözülmüş olan 2 g/kg (0,5 ml) maydanoz ekstresi uygulandı (Özsoy-Saçan ve ark., 2006).

Dekapitasyon yirmi sekizinci günün sonunda gerçekleştirildi. Dekapite olan sıçanların kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde ALT, AST, total bilirubin ve direkt bilirubin tayinleri yapıldı. Karaciğer dokularından alınan örneklerden ise IL-1 β , GSH, MDA, kemilüminesans (lusigenin, luminol), MPO, TGF- β , Na⁺/K⁺-ATPaz, 8-OHdg, TNF- α , Caspase-3, katalaz, SOD ve hidroksiprolin tayin edildi. Ayrıca karaciğer doku kesitleri ışık mikroskobu altında histolojik incelemeler yapıldı.

5.5. Serumda Yapılan İncelemeler

5.5.1. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST), total Bilirubin (TB) ve direkt Bilirubin(DB) tayini:

Safra kanalı bağlama kaynaklı karaciğer hasarını değerlendirmek için karaciğer enzimleri olan ALT, AST ve bilirubin ölçüldü (Limdi ve Hyde, 2003). Serum AST, ALT, DB ve TB spektrofotometrik yöntemlerle ticari kitler kullanılarak ölçüldü (BT Laboratory, Shanghai).

5.6. Dokuda Yapılan İncelemeler

5.6.1. Luminol ve lusigenin kemilüminesans tayini:

Safra kanalı bağlama kaynaklı karaciğer hasarında ROT rolünü değerlendirmek için radikal oluşumunun göstergesi olan luminol ve lusigenin kemilüminesansları (KL) ölçüldü. Lusigenin (bis-N metilakridiniumnitrat) ve luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4 ftalazindion) Sigma'dan (St Louis, MO, ABD) elde edildi. Ölçümler, Junior LB 9509 luminometre (EG&G Berthold, Almanya) kullanılarak oda sıcaklığında yapıldı. Örnekler PBSHEPES tamponu (20 mM HEPES, pH 7.2 içeren 0,5 M PBS) içeren şişelere konuldu. ROT, 0,2 mM'lik nihai bir konsantrasyon için, güçlendiriciler, lusigenin ($O_2^{\bullet-}$ radikali için seçici) ve luminol (OH^{\bullet} , H_2O_2 , $HOCl$ radikalleri için seçici) ilave edildikten sonra nicelleştirildi (Şener G., 2005). Sayımlar 1 dakikalık aralıklarla elde edildi ve sonuçlar 5 dakikalık bir sayım periyodu için eğri altındaki alan (EAA) olarak verildi. Sayımlar ıslak doku ağırlığı (rlu / mg doku) için düzeltildi.

5.6.2. Süperoksit dismutaz tayini:

Endojen antioksidan aktivisini belirlemek için SOD ölçüldü (Petridou ve ark., 2019). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde Superoxide Dismutase (SOD) düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Superoxide Dismutase (SOD) Elisa Kit, Catalogue NO: KTE62765, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.3. Katalaz tayini:

Antioksidan aktivitesini belirlemek için KAT ölçüldü (Bakala ve ark., 2012). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde Katalaz düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Catalase Elisa Kit, Catalogue NO: KTE100847, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.4. Glutasyon tayini:

Glutasyon, hücre içinde yaygın olan bir antioksidandır ve dokulardaki antioksidan aktivitesini belirlemek için ölçüldü (Desideri ve ark., 2019). Dokuladan buz içinde 150 mM KCl çözeltisi ile % 10'luk homojenat hazırlandı. GSH, Ellman reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Beutler 1975).

5.6.5. Malondialdehit tayini:

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA ölçüldü (Alaca ve ark., 2017). Glutasyon için Ika Werk homojenizatöründe buz üzerinde 150 mM KCl çözeltisi ile % 10'luk hazırlanan homojenat kullanıldı. MDA tayini için Buege yöntemi (Buege ve Aust 1978) kullanılarak belirlendi.

5.6.6. Sodyum/potasyum adenozin trifosfataz tayini:

Membranda sodyum ve potasyum dengesini sağlayan Na^+/K^+ -ATPaz enzimi dokudaki membran hasarını belirlemek için ölçüldü (Zhu ve ark., 2014). Dokular % 0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde Na^+/K^+ -ATPaz düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Na^+/K^+ -ATPase Elisa Kit, Catalogue NO: KTE101085, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.7. 8-hidroksi-2 '-Deoksiguanozin tayini:

Oksidatif DNA hasarı göstergesi olarak 8-OHdG düzeyleri ticari kit yardımıyla tespit edildi (Arabaci Tamer S., 2018). Örneklerden önce DNA izolasyonu yapıldı (İnvitrogen K182001) ve DNA örneklerinde kit yardımıyla 8-OHdG düzeyleri (Cell Biolabs STA-325) belirlendi.

5.6.8. Tümör nekroz faktörü-alfa tayini:

İnflamasyonda rol oynayan pro-inflamatuar sitokin olan TNF- α doku hasarının göstergesi olarak ölçüldü (Çayakar, 2018). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde TNF- α düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) Elisa Kit, Catalogue NO: KET9007, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.9. İnterlökin-1beta tayini:

İnterlökin-1beta kronik karaciğer hastalığında inflamasyonda anahtar rol oynayan pro-inflamatuar bir sitokindir (Meier ve ark., 2019). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde interlökin-1 β düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Interleukin 1 β Elisa Kit, Catalogue NO: KET9001, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.10. Miyeloperoksidaz aktivitesi tayini:

Nötrofiller ve makrofajların fagositik etkisinde rol oynayan aktif bir enzim olan MPO doku hasarının göstergesi olarak ölçüldü (Alaca ve ark., 2017; Bekheet ve ark., 2009). Karaciğer dokusu 50 mM K₂HPO₄ (pH: 6) ile homojenize edilen % 10'luk homojenat kullanıldı. Dokuya ait MPO aktivite tayini Hillegas (Hillegas ve ark.1990) yöntemine uygun olarak belirlendi.

5.6.11. Kaspaz-3 tayini:

Hücre apoptozu sırasında görev alan Kaspaz-3 enzimi, apoptozun belirleyicisi olarak ölçüldü (Zhang ve ark., 2018). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde kaspaz-3 düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Abbkine Rat Caspase-3 Elisa Kit, Catalogue NO: KTE100992, China) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.12. Transforme edici büyüme faktörü beta 1 tayini:

Fibrogenezde anahtar rol oynayan TGF- β fibrozun göstergesi olarak ölçüldü (Iwasaki ve ark., 2019). Dokular %0,9 NaCl ile homojenize edilerek, 1500xg 4 °C de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz toplandı ve örneklerde TGF- β düzeyleri ELISA yöntemiyle ticari kit (Bioassay Technology Laboratory, Rat Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) Elisa Kit, Catalogue NO: E0778Ra, Shanghai) kullanılarak üretici firmanın prosedürüne uygun olarak yapıldı.

5.6.13. Hidroksiprolin tayini:

Hidroksiprolin kollajen miktarının belirteci olarak ölçüldü (Işık ve ark., 1995). Dokular KCL tamponu ile homojenleştirildi ve 1500xg 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant, ticari bir kit (BT Laboratuvarı) kullanılarak hidroksiprolin analizi için kullanıldı. Toplam 40 mL'lik üst faz, Elisa plakasında 10 mL'lik antikorlar ve 50 mL'lik streptavidin-HRP ile karıştırıldı. Daha sonra plaka 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra plaka tamponla yıkandı. Her oyuğa 50 mL kromojen substrat ilave edildi ve oda sıcaklığında 30 dakika daha inkübe edildikten sonra absorbans, Elisa okuyucu kullanılarak 450 nm'de ölçüldü (Şen ve ark., 2016).

5.6.14. Histolojik incelemeler

Işık mikroskobu: Karaciğerden alınan numuneler % 10'luk formaldehit ile sabitlenerek mikroskop incelemelerinde kullanıldı, dereceli olarak alkol konsantrasyonu artırıldı. Toluene ile temizlendi ve parafine gömüldü. Doku kesitleri (5

µm) genel morfoloji incelemeleri için hematoksilin ve eozin (H&E) ile ve fibrozun belirlenmesi için de Gomori'nin tek basamaklı trikromu ile boyandı. Ardından bir fotomikroskop (Olympus BX51)'un dijital kamerası (Olympus, Tokyo, Japonya) ile incelendi ve fotoğraflandı. Deney gruplarının her birinde, histopatolojik incelemeler için her hayvandan bir kesit ve kesitin her birinde en az beş benzer bölge gözlemlendi.

5.7.Maydanoz Antioksidan Aktivite Tayini

5.7.1. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal giderme aktivite tayini

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) deneyi, antioksidanların dayanıklı bir katyon radikali olan ABTS radikalini giderme aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanır. Maydanoz ekstresinin ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri Arnao ve ark.'larının 2001 yılında kullandıkları metoda göre tayin edildi.

7.4 mM ABTS ve 2,6 mM K₂S₂O₈ çözeltilerinden eşit hacimde (1'er mL) karıştırıldıktan sonra 12-16 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Bu süre sonunda ABTS radikal katyonu elde edilmiş oldu. Bu karışımdan 1 mL alındı. Üzerine 60 mL metanol ilave edildi. Bu şekilde hazırlanan ABTS radikal katyonu çözeltisinin 734 nm'de spektrofotometrede metanole karşı absorbansı $0,7 \pm 0,02$ olmalıdır. Her deney için bu çözelti taze olarak hazırlandı. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2,85 mL alındı. Üzerine 150 µL maydanoz ekstresi ya da standart konuldu. 2 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. Spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okundu. Standart olarak Troloks, butillenmiş hidroksi toluen (BHT), askorbik asit, kontrol olarak da ekstre yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanıldı. Örnek ve standartların ABTS radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrol absorbans değeri

A₁ = Örnek veya standardın absorbans değeri

Antioksidan aktivite, başlangıçtaki derişiminin % 50 azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC₅₀ (etkin derişim) değeri ile verilir.

5.7.2. N, N-dimetil-1, 4-fenilendiamin radikal giderme yöntemi

N,N-dimetil-1,4-fenilendiamin (DMPD) radikal giderme aktivitesi Fogliano ve ark.'nın 1999 yılında geliştirdikleri yöntemle göre tayin edildi. Bu yöntemin esası, asidik pH ve uygun bir oksidan çözelti varlığında DMPD'in kararlı ve renkli bir radikal katyonu (DMPD^{•+}) oluşturmasına dayanır. Oluşan bu radikal katyonu ise 505 nm dalga boyunda maksimum absorban değerine sahiptir. Antioksidan madde, DMPD radikal katyonuna bir H atomu transfer ederek bu rengi giderir ve çözeltide bir renksizleşme meydana gelir. Rengin açılması antioksidan konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bu reaksiyon hızla gerçekleşir ve stabildir, antioksidatif etkinliğin bir göstergesidir.

209 mg DMPD, 10 mL deiyonize suda çözüldü. Bu çözeltiden 1 mL alınarak 0,1 M Na-asetat tamponu (pH: 5,30) ile 100 mL'ye tamamlandı. Deiyonize su ile hazırlanmış 0,05 M FeCl₃ çözeltisinden 0,2 mL ilave edilmesiyle renkli DMPD radikal katyonu elde edildi. Bu karışım stabilitesini en fazla 12 saate kadar koruduğundan taze olarak hazırlandı. Karışımın 1 mL'si 0,5 mL maydanoz ekstresi ya da standartla karıştırıldı ve oda sıcaklığında 10 dakika boyunca bekletildi. Kontrol tüpünde örnek yerine destile su kullanıldı. Bu sürenin sonunda tüplerin absorban değerleri 505 nm'de okundu. Standart olarak Troloks ve askorbik asit kullanıldı. DMPD radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

$$\text{DMPD radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrol absorban değeri

A₁ = Örnek veya standardın absorban değeri

5.7.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) yöntemi, Cu²⁺ redüksiyon kapasitesine dayalı bir toplam antioksidan kapasite ölçüm yöntemidir. Bu yöntem elektron transferine dayanan ve prooksidan kullanılmayan spektrofotometrik bir yöntemdir. Bu yöntemde, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neocuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), ortama antioksidan çözeltisi ilave edilmesi sonucunda 450 nm'de maksimum absorban veren bakır(I)-

neokuproin (Cu(I)-Nc) kelat kompleksine indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasitesi hesaplanmaktadır (Apak ve diğ., 2004, 2006).

Günlük olarak 10 mM Cu (II) klorür (CuCl₂) çözeltisi 1 M amonyum asetat tampon çözeltisi (pH: 7,0) hazırlandı. Mutlak etanol kullanılarak 7,5 mM Nc çözeltisi günlük olarak hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan maydanoz ekstresi ve standart bileşiklerden 0,25 mL alındı. Üzerine 0,25 mL CuCl₂ çözeltisi, 0,25 mL neokuproin çözeltisi ve 0,25 mL amonyum asetat tamponu konuldu. Daha sonra tüplere toplam hacim 2 mL olacak şekilde 1 mL destile su eklendi ve iyice karıştırıldı. Tüpler oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak 30 dakika bekletildikten sonra, 450 nm'deki absorbans değerleri reaktif körüne karşı okundu. Reaksiyon karışımının artan absorbansı artan indirgeme yeteneğini gösterir. Maydanoz ekstresinin ve standartların Cu²⁺-Cu⁺ indirgeyici güç eğrileri, konsantrasyon ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri arasında çizildi. Standart olarak BHT ve askorbik asid kullanıldı.

5.8. İstatistik Yöntemi

İstatistiksel analiz GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Tüm veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. Veri grupları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı ve p<0,05 değerleri anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

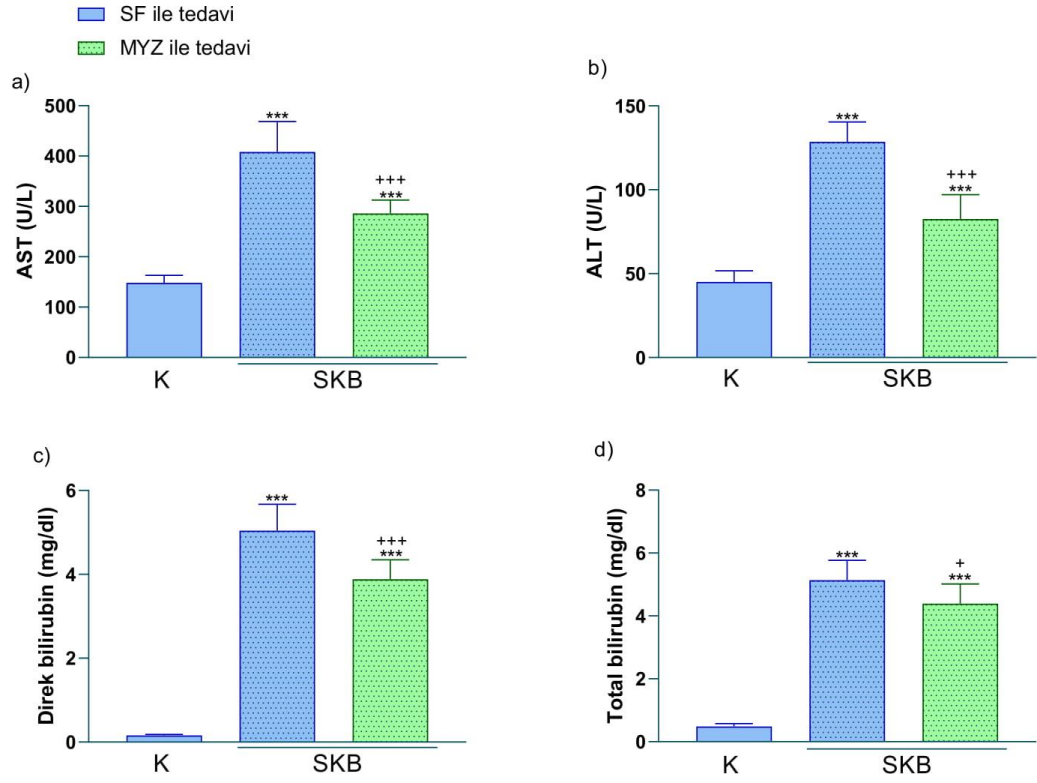
6.1. Serumda Yapılan Karaciğer Fonksiyonlarına Ait Sonuçlar

Safra kanalı bağlı olan grubun ALT, AST, direkt bilirubin ve total bilirubin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p<0,001$) olarak yükselirken maydanoz ile tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,05-0,001$) olarak azalmıştır ancak kontrol grubuna göre düzeyler anlamlı ($p<0,001$) olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 4).

Tablo 8. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki serum aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), direkt bilirubin ve total bilirubin seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|-------------------------------|--------------|------------------|-----------------------|
| AST (U/L) | 148,0 ± 15,1 | 408,0 ± 60,7 *** | 286,1 ± 26,7 ***, +++ |
| ALT (U/L) | 45,1 ± 6,5 | 128,6 ± 11,8 *** | 82,5 ± 14,57 ***, +++ |
| Direk Bilirubin (mg/dl) | 0,16 ± 0,03 | 5,0 ± 0,63*** | 3,9 ± 0,47 ***, +++ |
| Total Bilirubin (mg/dl) | 0,48 ± 0,09 | 5,13 ± 0,64 *** | 4,39 ± 0,63 ***, + |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, +++ $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 4. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki örneklerine ait (Şekil 4a) aspartat aminotransferaz (AST), (Şekil 4b) alanin aminotransferaz (ALT), (Şekil 4c) direk bilirubin ve (Şekil 4d) total bilirubin seviyeleri

***p<0,001 kontrol grubuna göre, + p<0,05, +++p<0,001 SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

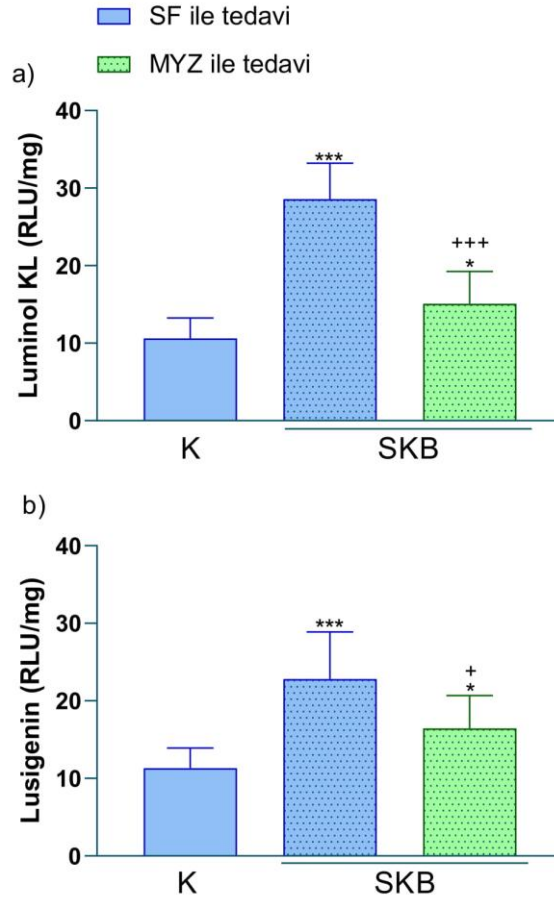
6.2. Kemilüminesans Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grubun luminol ve lusigenin KL düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı ($p < 0,001$) olarak yükseldiği görülmüştür. Buna karşılık maydanoz ile tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise bu düzeyler anlamlı ($p < 0,05-0,001$) olarak azalmıştır ancak kontrol grubuna göre bu düzeyler hala anlamlı ($p < 0,05$) olarak yüksekti (Tablo 9, Şekil 5).

Tablo 9. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki luminol ve lusigenin KL seviyeleri (Grup başına n:8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Luminol KL (RLU/mg) | 10,6 ± 2,64 | 28,6 ± 4,65 *** | 15 ± 4,17 *,+++ |
| Lusigenin (RLU/mg) | 11,3 ± 2,61 | 22.8 ± 6,05 *** | 16,5 ± 4,25 *,+ |

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, + $p < 0,05$, +++ $p < 0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 5. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki (Şekil 5a) luminol ve (Şekil 5b) lusigenin KL seviyeleri

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, + $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

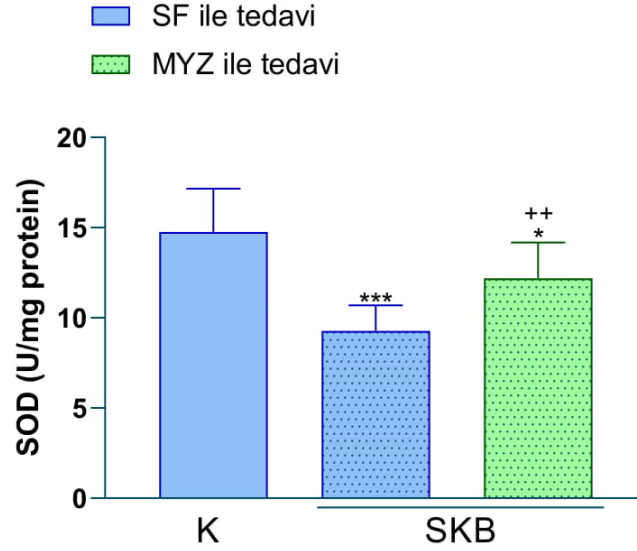
6.3. Süperoksit Dismutaz Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde anlamlı ($p<0,001$) bir azalma görülmüştür. Buna karşılık maydanoz ile tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,01$) bir artış olmuştur, ancak kontrol grubuna göre düzeyler hala düşüktü ($p<0,05$) (Tablo 10, Şekil 6).

Tablo 10. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki SOD seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|--------------------|-------------|----------------|-----------------|
| SOD (U/mg protein) | 14,8 ± 2,40 | 9,3 ± 1,42 *** | 12,2 ± 1,99 *++ |

*** $p<0,001$, * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, ++ $p<0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 6. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki süperoksit dismutaz (SOD) seviyeleri

* $p<0,05$, *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, ++ $p<0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

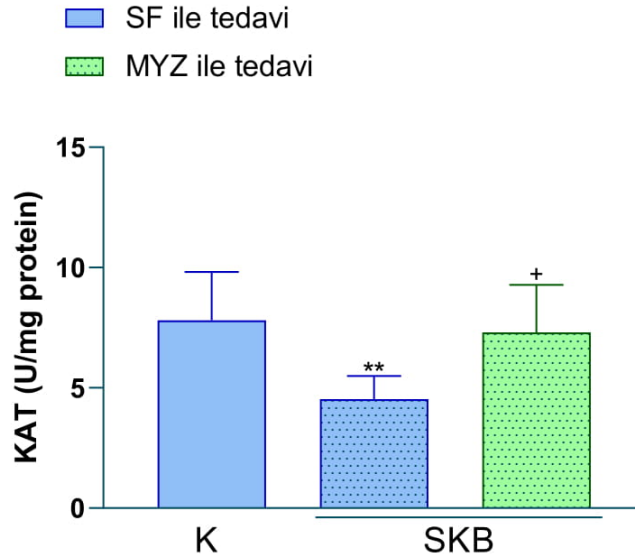
6.4. Katalaz Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KAT düzeyinde anlamlı ($p<0,01$) bir azalma görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,05$) bir artış bulunmuştur ve bu düzeyler kontrol grubuna yakın değerlerdir (Tablo 11, Şekil 7).

Tablo 11. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki KAT seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|--------------------|----------------|---------------------|--------------------|
| KAT (U/mg protein) | $7,8 \pm 2,01$ | $4,5 \pm 0,96^{**}$ | $7,3 \pm 0,98^{+}$ |

** $p<0,01$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 7. Kontrol (K), Safra kanalı bağlama (SKB), Maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki katalaz (KAT) seviyeleri

** $p<0,01$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

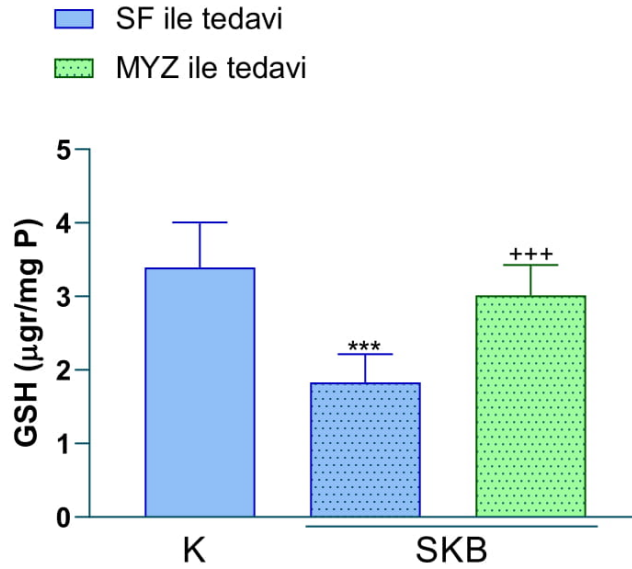
6.5. Glutasyon Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyinde anlamlı ($p<0,001$) bir azalma görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda GSH düzeylerinde anlamlı ($p<0,001$) bir artış görülmüş ve bu değerler kontrol yakın oranda artmıştır (Tablo 12, Şekil 8).

Tablo 12. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki GSH seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|---|----------------|--------------------|---------------------|
| GSH ($\mu\text{gr}/\text{mg}$ protein) | $3,4 \pm 0,61$ | $1,8 \pm 0,38$ *** | $3,02 \pm 0,41$ *** |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 8. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki glutasyon (GSH) seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

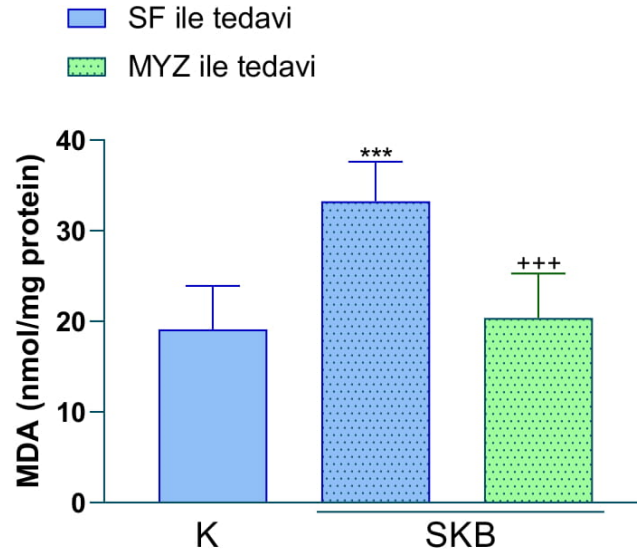
6.6. Malondialdehit Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında MDA düzeyinde anlamlı ($p<0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise MDA düzeyleri anlamlı ($p<0,001$) olarak azalmıştır, ancak kontrol grubuna göre düzey hala düşüktü (Tablo 13, Şekil 9).

Tablo 13. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki MDA seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|-----------------------|-------------|-----------------|-----------------|
| MDA (nmol/mg protein) | 19,1 ± 4,79 | 33,3 ± 4,37 *** | 20,4 ± 4,90 *** |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 9. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki malondialdehit (MDA) seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

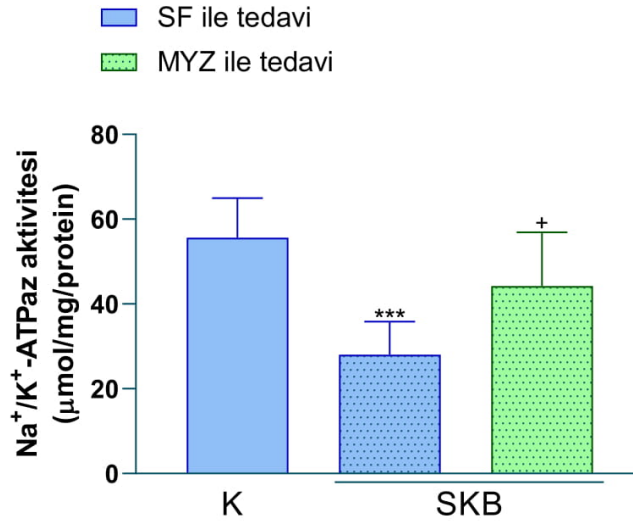
6.7. Sodyum/Potasyum Adenozin Trifosfataz Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Na^+/K^+ -ATPaz düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,001$) bir düşme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,05$) bir yükselme görülmüştür, ancak kontrol grubuna göre düzey hala düşüktü (Tablo 14, Şekil 10).

Tablo 14. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki Na^+/K^+ ATPaz seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|---|-----------------|---------------------|--------------------|
| Na^+ / K^+ -ATPaz aktivitesi ($\mu\text{mol}/\text{mg}/\text{protein}$) | $55,6 \pm 9,37$ | $28,1 \pm 7,76$ *** | $44,2 \pm 12,69$ + |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 10. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki Na^+ / K^+ -ATPaz aktivite seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

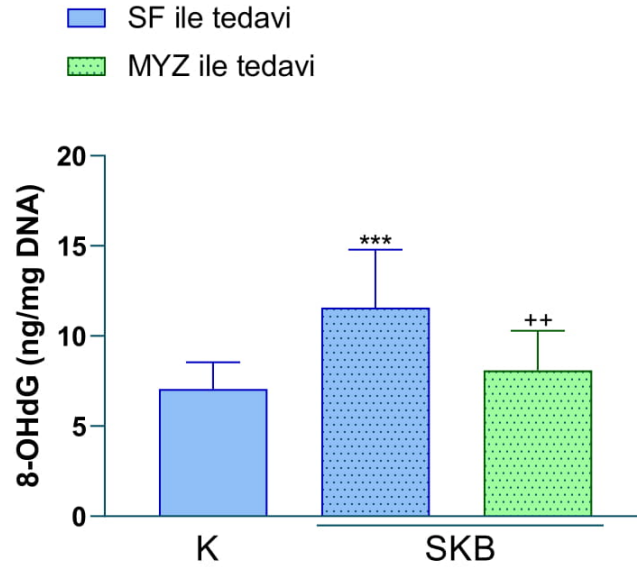
6.8. 8-hidroksi-2'-Deoksiguanozin Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 8-OHdG düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,01$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,01$) bir azalma görülmüştür (Tablo 15, Şekil 11).

Tablo 15. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki 8-OHdG seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|--------------------|------------|-----------------|---------------|
| 8-OHdG (ng/mg DNA) | 7,1 ± 1,48 | 11,6 ± 3,21 *** | 8,1 ± 2,20 ** |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, ** $p<0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 11. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) aktivite seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, ** $p<0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

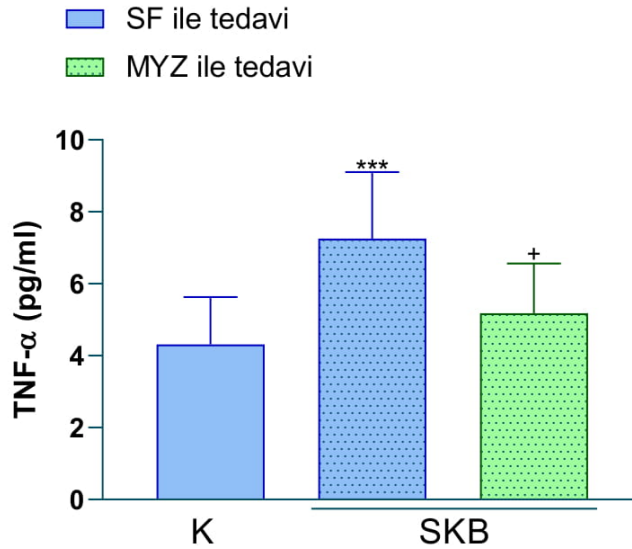
6.9. Tümör Nekroz Faktörü-Alfa Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında TNF- α düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p < 0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p < 0,05$) bir azalma görülmüştür (Tablo 16, Şekil 12).

Tablo 16. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki TNF- α seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|-----------------------|-----------------|--------------------|------------------|
| TNF- α (pg/ml) | 4,31 \pm 1,32 | 7,3 \pm 1,85 *** | 5,2 \pm 1,38 + |

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, + $p < 0,05$, SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 12. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) aktivite seviyeleri

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, + $p < 0,05$, SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

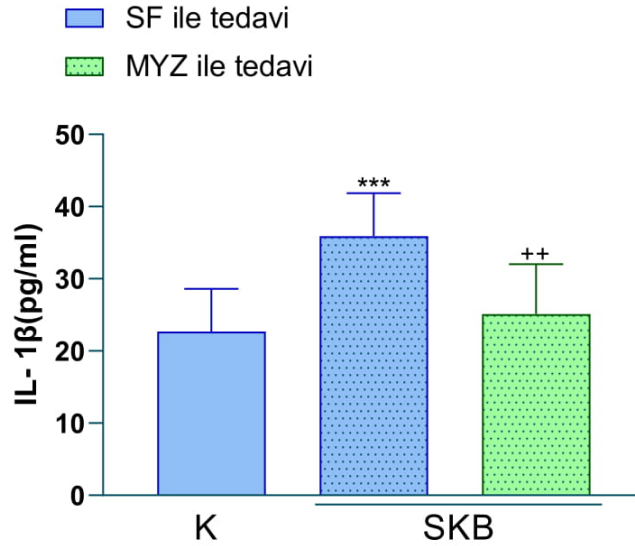
6.10. İnterlökin- 1beta Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında IL-1 β düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p < 0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p < 0,01$) bir azalma görülmüştür, ancak kontrol düzeyine göre hala yüksekti (Tablo 17, Şekil 13).

Tablo 17. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki IL-1 β seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|----------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| IL-1 β (pg/ml) | 22,7 \pm 5,91 | 35,9 \pm 5,93 *** | 25,1 \pm 6,92 ** |

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, ** $p < 0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 13. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki interlökin- 1beta (IL-1 β) aktivite seviyeleri

*** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre, ** $p < 0,01$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

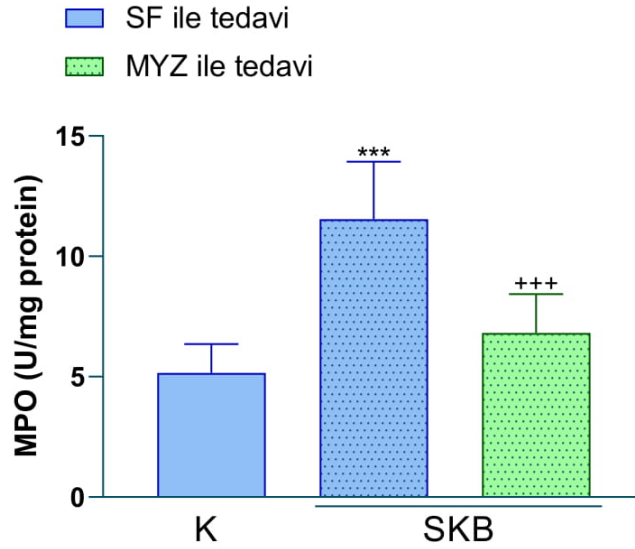
6.11. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında MPO düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,001$) bir azalma görülmüştür (Tablo 18, Şekil 14).

Tablo 18. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki miyeloperoksidaz seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|--------------------|-------------|-----------------|----------------|
| MPO (U/mg protein) | 5,15 ± 1,21 | 11,5 ± 2,40 *** | 6,8 ± 1,62 *** |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 14. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki miyeloperoksidaz (MPO) aktivite seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, *** $p<0,001$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

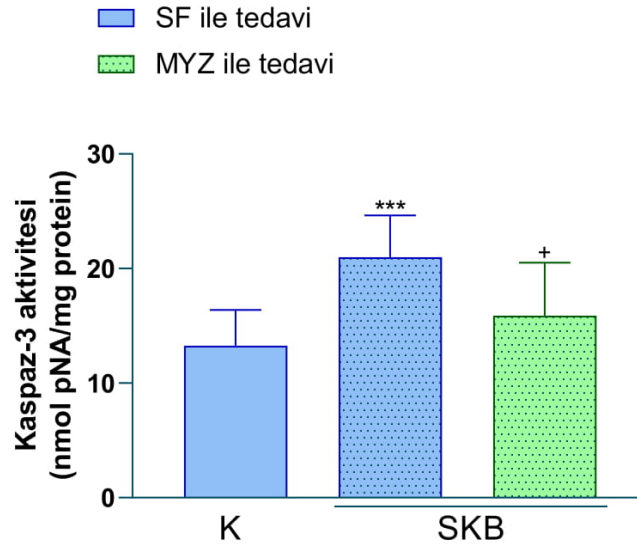
6.12. Kaspaz-3 Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Kaspaz-3 aktivitesi düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubunda ise anlamlı ($p<0,05$) bir azalma görülmüştür, ancak kontrol grubuna göre düzey hala yüksekti (Tablo 19, Şekil 15).

Tablo 19. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki TGF- β seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|--|-----------------|---------------------|-------------------|
| Kaspaz-3 aktivitesi (nmol pNA/mg protein) | 13,3 \pm 3,11 | 21,0 \pm 3,65 *** | 15,9 \pm 4,64 + |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 15. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki kaspaz-3 aktivite seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

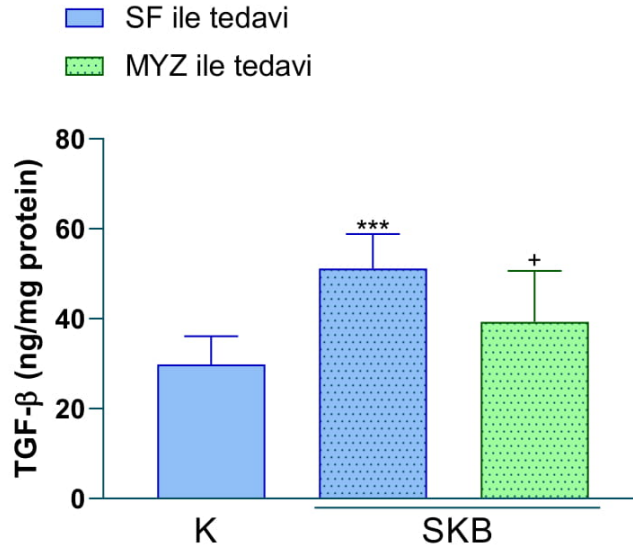
6.13.Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 Aktivitesi Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında TGF- β düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB + MYZ grubu ise anlamlı ($p<0,05$) bir azalma görülmüştür, ancak kontrol grubunun düzeyine göre hala yüksekti (Tablo 20, Şekil 16).

Tablo 20. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki TGF- β seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| TGF- β (ng/mg protein) | 29,8 \pm 6,28 | 51,2 \pm 7,69 *** | 39,3 \pm 11,37 + |

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.



Şekil 16. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β) seviyeleri

*** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

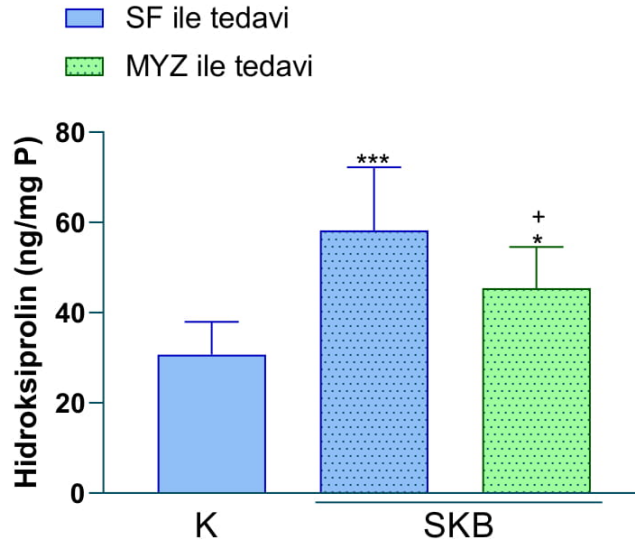
6.14. Hidroksiprolin Sonuçları

Safra kanalı bağlı olan grup ile kontrol karşılaştırıldığında hidroksiprolin düzeyinde karaciğer fibrozuna bağlı anlamlı ($p<0,001$) bir yükselme görülmüştür. Buna karşılık maydanozla tedavi edilen SKB (SKB + MYZ) grubu ise anlamlı ($p<0,05$) bir azalma görülmüştür, ancak kontrol grubunun düzeyine göre hala anlamlı olarak ($p<0,05$) yüksekti (Tablo 21, Şekil 17).

Tablo 21. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki hidroksiprolin seviyeleri (Grup başına n: 8)

| | K | SKB | SKB + MYZ |
|-----------------------------------|-------------|------------------|-----------------|
| Hidroksiprolin (ng/mg protein) | 30,7 ± 7,24 | 58,2 ± 14,05 *** | 45,4 ± 9,18 *,+ |

* $p<0,05$, *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

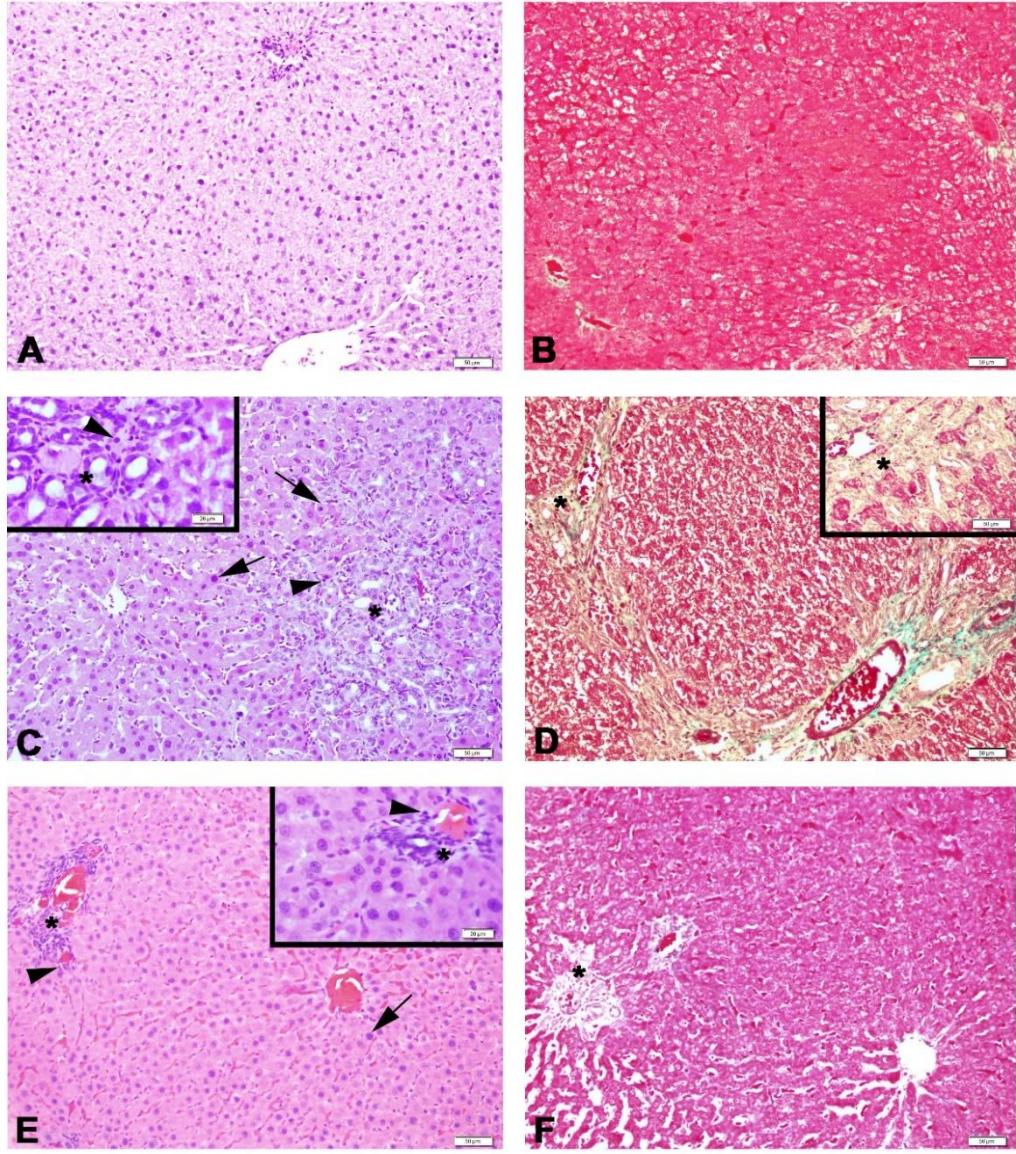


Şekil 17. Kontrol (K), safra kanalı bağlama (SKB), maydanoz ile tedavi edilen safra kanalı bağlama (SKB + MYZ) gruplarındaki hidroksiprolin seviyeleri

* $p<0,05$, *** $p<0,001$ kontrol grubuna göre, + $p<0,05$ SKB grubuna göre karşılaştırmalar.

6.15. Karaciğer Dokusuna Ait Histolojik Sonuçlar

Işık mikroskobu değerlendirilmelerinde, kontrol grubunda (Şekil 18 A, B) bozulmamış hepatositler, sinüzoidler ve portal yol ile karaciğer parankiminde düzenli bir morfoloji görülmüştür. Safra kanalı bağlı grupta ise düzensiz hepatik kordonlar, dejenere hepatositlerde ciddi artış, safra kanalı proliferasyonu ve portal yolda inflamatuvar hücre girişi gözlemlenmiştir. Fibroz, asinuslar etrafında hassas bantlar şeklinde belirgin olarak tayin edildi (Şekil 18 C, D). Buna karşılık safra kanalı bağlı ve maydanoz ile tedavisi grubunda (SKB + MYZ), hepatik kordonlarda hafif düzensizlik ile dejenere hepatositlerin sayısında azalmaya, safra kanalı proliferasyonunda azalmaya, asinuslar çevresinde orta derecede fibrozis oluşumuna ve portal yol içinde hafif inflamatuvar hücre girişine neden olmuştur (Şekil 18 E, F).



Şekil 18. Deney gruplarının temsili ışık mikrografları

Kontrol grubunda (A, B) hepatositler, sinüzoidler ve portal yollar ile normal karaciğer parankimi görülmektedir. SKB grubunda (C, D) hepatik kordlarda düzensizlik, dejenere hepatosit sayısında artış (ok), asini çevresinde hassas bantlar şeklinde fibroz ve portal yol içinde safra kanalı proliferasyonu (*), parankimde inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı) görüldü. Safra kanalı bağlanarak maydanozla tedavi edilen (SKB + MYZ) grubun (E, F) hepatik kordlarda hafif düzensizlik, dejenere hepatositlerde azalma (ok), asini çevresinde orta derecede fibroz ve safra kanalı proliferasyonunda azalma (*) görülmektedir.

A, C, E: H&E boyama; B, D, F: Gomori'nin tek adımlı trikrom boyama.

Orijinal büyütme: x200, ekler: x400

6.16. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikal Giderme Aktivite Sonuçları

Ekstre ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri Tablo 22 de verilmiştir. Ekstre ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri konsantrasyon artışı ile artmaktadır. Düşük IC₅₀ değeri yüksek ABTS aktivitesini göstermektedir. Ekstre ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri askorbik asit> BHT> Troloks> maydanoz ekstresi şeklinde azalmaktadır (Tablo 22).

Tablo 22. Maydanoz ekstresi ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri

| Ekstre ve standartlar | Konsantrasyon (mg/mL) | ABTS Radikal Giderme Aktivitesi (%)* | IC ₅₀ (mg/mL)* |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| Maydanoz ekstresi | 1 | 70,01 ± 0,53 | 0,72 ± 0,01 |
| | 0,5 | 31,71 ± 0,35 | |
| | 0,1 | 11,06 ± 0,46 | |
| | 0,05 | 4,23 ± 0,46 | |
| | 0,01 | 1,63 ± 0,23 | |
| Troloks | 0,1 | 97,43 ± 0,45 | 0,044 ± 0,001 |
| | 0,05 | 73,55 ± 2,98 | |
| | 0,025 | 36,73 ± 0,34 | |
| | 0,01 | 8,08 ± 0,26 | |
| | 0,005 | 2,76 ± 0,6 | |
| BHT | 0,25 | 98,53 ± 0,26 | 0,043 ± 0,003 |
| | 0,1 | 88,34 ± 3,62 | |
| | 0,05 | 68,78 ± 3,70 | |
| | 0,025 | 47,11 ± 3,27 | |
| | 0,01 | 10,74 ± 1,03 | |
| Askorbik Asit | 0,1 | 98,54 ± 0,20 | 0,039 ± 0,001 |
| | 0,05 | 76,83 ± 1,05 | |
| | 0,025 | 46,18 ± 6,78 | |
| | 0,01 | 16,50 ± 2,13 | |
| | 0,005 | 5,12 ± 0,13 | |

6.17.N, N-dimetil-1, 4-fenilendiamin Radikal Giderme Yöntemi Sonuçları

Ekstre ve standartların DMPD radikal giderme aktiviteleri Tablo 23 de verilmiştir. Ekstre ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri konsantrasyon artışı ile artmaktadır. Düşük IC₅₀ değeri yüksek ABTS aktivitesini göstermektedir. Ekstre ve standartların DMPD radikal giderme aktiviteleri askorbik asit> Troloks> maydanoz ekstresi şeklinde azalmaktadır (Tablo 23).

Tablo 23. Maydanoz ekstresi ve standartların DMPD radikal giderme aktiviteleri

| Ekstre ve standartlar | Konsantrasyon (mg/mL) | DMPD radikal giderme aktivitesi (%) [*] | IC ₅₀ (mg/mL) [*] |
|-----------------------|-----------------------|--|---------------------------------------|
| Maydanoz ekstresi | 1 | 68,00 ± 0,77 | 0,64 ± 0,01 |
| | 0,5 | 52,43 ± 0,66 | |
| | 0,1 | 13,11 ± 0,57 | |
| | 0,05 | 9,85 ± 0,41 | |
| | 0,01 | 2,66 ± 0,41 | |
| Troloks | 0,5 | 43,67 ± 1,46 | 0,056 ± 0,02 |
| | 0,25 | 37,08 ± 0,80 | |
| | 0,1 | 29,20 ± 0,73 | |
| | 0,05 | 20,28 ± 0,48 | |
| | 0,025 | 16,80 ± 1,11 | |
| Askorbik Asit | 0,1 | 99,73 ± 0,09 | 0,024 ± 0,001 |
| | 0,05 | 88,58 ± 0,28 | |
| | 0,025 | 54,91 ± 0,82 | |
| | 0,01 | 51,44 ± 0,24 | |
| | 0,005 | 6,69 ± 0,99 | |

6.18. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi Sonuçları

Standartların absorbans değerlerinin ekstreden daha yüksek değerde olduğu bulunmuştur (Tablo 24). Ekstre ve standartların bakır iyonlarını indirgeme gücü askorbik asit > BHT > maydanoz ekstresi şeklinde azalmaktadır (Tablo 24).

Tablo 24. Maydanoz ekstresi ve standartların bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri

| Ekstre ve standartlar | Konsantrasyon (mg/mL) | Absorbans* |
|------------------------------|------------------------------|-------------------|
| Maydanoz ekstresi | 1 | 0,297 ± 0,014 |
| | 0,5 | 0,125 ± 0,001 |
| | 0,1 | 0,034 ± 0,001 |
| | 0,05 | 0,023 ± 0,001 |
| | 0,01 | 0,015 ± 0,001 |
| BHT | 1 | 0,376 ± 0,025 |
| | 0,5 | 0,220 ± 0,005 |
| | 0,25 | 0,130 ± 0,002 |
| | 0,1 | 0,097 ± 0,002 |
| | 0,05 | 0,075 ± 0,003 |
| Askorbik Asit | 0,25 | 1,273 ± 0,025 |
| | 0,1 | 0,479 ± 0,004 |
| | 0,05 | 0,320 ± 0,007 |
| | 0,025 | 0,117 ± 0,002 |
| | 0,01 | 0,088 ± 0,002 |

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Karaciğer fibrozu, karaciğer hasarını takiben ekstrasellüler matriksin (ESM) birikimi ile karakterize geri dönüşümlü bir yara iyileştirici yanıttır (Hernandez-Gea ve Friedman, 2011). Ancak tedavi edilmediği durumda yaşamı tehdit eden siroza yol açmaktadır (Zhangdi ve ark., 2019). Safra kanalı bağlama yöntemi ise, insanlarda etyolojik ve patojenik olarak safra fibrozuna benzeyen bir tür karaciğer fibrozuna neden olmaktadır (Şener ve ark., 2005). Karaciğer fibrozunu engellemek, durdurmak ve geri çevirmek için birçok deneysel çalışma yapılmış olsa da henüz klinik kullanım için etkili bir tedavi bulunmamaktadır (Tahan ve ark., 2007). Literatürde anti-fibrojenik ajanların kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Aynı zamanda geleneksel tıpta kimyasal anti-fibrotik ilaçlar yerine daha az toksik riske neden olduğu için doğal ürünler de kullanılmaktadır. Ancak anti-fibrotik hem ilaçlar hem de geleneksel ilaçlarla terapötik girişimler hala deneysel aşamadadır (Gedik ve ark., 2005). Biz de yaptığımız çalışmada, safra kanalı ligasyonu ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda Maydanoz (*Petroselinum crispum*) ekstresinin karaciğer hasarı üzerindeki olası koruyucu ve önleyici etkilerini incelemeyi amaçladık.

Alanin aminotransferaz ve AST, karaciğerde glukoneogenezde yer alan aminotransferazlardır. Aspartat aminotransferaz, hepatositlerin hem sitosol hem de mitokondrilerinde bulunurken, ALT sadece sitozolde bulunmaktadır. Bu enzimler hepatositik hasarda kan içine sızmaktadır. Alanin aminotransferaz ve AST ilaçlar, toksinler (alkol dahil), virüsler, iskemi, otoimmün karaciğer hasarı gibi metabolik nedenlerden dolayı karaciğer parankimini etkileyen çeşitli koşullarda artabilmektedirler (Agrawal ve ark., 2016). Kolestik karaciğer hastalığının önemli göstergesi olan bilirubin, hemoglobinin son yıkım ürünüdür ve serumda %30 direkt, %70 indirekt yapıda bulunmaktadır. Safra yolu tıkanıklığında direkt bilirubin düzeyi artar (Özdemir, 2009). Balon çiçeğinin karaciğer hasarı üzerine olası etkilerinin incelendiği bir çalışmada safra kanalı bağlama yapılan hayvanların ALT, AST ve bilirubin seviyelerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiğini gözlemlenmiştir (Lim ve ark., 2013). Safra kanalı bağlama yöntemi ile karaciğer hasarı oluşturulan başka bir çalışmada da SKB grubunun ALT, AST ve bilirubin seviyeleri,

kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır (Şener ve ark., 2006). Aynı zamanda Yada ve ark.'larının yaptıkları çalışmada da aynı şekilde SKB grubunun ALT, AST ve bilirubin seviyeleri, kontrol grubunun seviyelerine göre yüksek olduğu görülmüştür (Yada ve ark., 2016). Maydanoz ekstresinin diyabetik sıçanların karaciğer üzerine etkileri ile ilgili yapılan bir çalışmada maydanoz ile tedavi yapılan grubun ALT seviyesinin, hasta olan gruba göre düştüğü görülmüştür (Bolkent ve ark., 2004). Başka bir çalışmada da maydanoz ile tedavi edilen grubun ALT ve AST seviyeleri, model gruba göre düşüş gösterdiği görülmüştür (Nair ve ark., 2015). Yapılan başka bir çalışmada ise maydanoz ekstresi verilen sıçanlarda bilirubin seviyesine bakılmış ve model grubakıyasla maydanoz ekstresi verilen sıçanların bilirubin seviyesinde düşüş gözlemlenmiştir (Al-Howiriny ve ark., 2003). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde SKB grubunun ALT, AST ve bilirubin seviyeleri, kontrol grubunun seviyelerine göre yüksek olduğunu görülmüşken, maydanoz ile tedavi edilen grubun seviyelerinin ise SKB grubuna göre düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Kemilüminesans ölçümü yöntemi, serbest radikallerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Lusigenin süperoksit radikalinin ($O_2^{\bullet-}$), luminolün ise hidroksil radikali (OH^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipoklorik asidin ($HOCl$) göstergesidir (Atalay ve ark., 2018). Şener ve ark.'larını SKB ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda karaciğer luminol ve lusigenin seviyelerinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Şener ve ark., 2005; Şen ve ark., 2016). Melatoninin karaciğer hasarı üzerine olası etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise SKB grubunun luminol ve lusigenin seviyeleri, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Tahan ve ark., 2010). Bizim çalışmamızın sonucunda da SKB grubunun luminol ve lusigenin seviyeleri, kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür. Ancak maydanoz tedavisi uygulanan sıçanlarda luminol ve lusigenin seviyeleri SKB grubuna göre düşüş göstermiştir.

Süperoksit dismutaz, $O_2^{\bullet-}$ radikalinin H_2O_2 ve oksijene dönüşmesinde rol oynayan antioksidan bir enzimdir (Marcelino ve ark., 2017). Katalaz ise peroksizomlarda bulunur ve H_2O_2 'yi oksijen ve suya indirgemekte rol oynayan antioksidan bir enzimdir (Shin ve ark., 2018). Glutatyon; H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} radikalini indirgemedi rol oynayarak hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan önemli bir hücrel antioksidandır (Ross, 1988). Karaciğer hasarı sonucunda antioksidan enzimlerin aktivitesi azalır. Vücuttaki

oksidasyon-antioksidan dengesi bozulur ve bunun sonucunda oksidatif hasar meydana gelir (Qiao ve ark., 2019). Semizotunun SKB yöntemi ile karaciğer hasarı üzerine olası etkisinin araştırıldığı bir çalışmada SKB grubunun SOD, GSH ve KAT seviyelerinin, kontrol grubuna göre düşük olduğu bulunmuştur (Ali ve ark., 2011). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada da SKB grubunda GSH'da azalma bildirilmiştir (Dulundu ve ark., 2007). Diğer yandan diyabetli sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada maydanoz ile tedavi uygulanarak karaciğer dokusu incelenmiş ve maydanoz tedavisi verilen grubun GSH düzeylerinde diyabetli gruba göre artış bulunmuştur (Özsoy-Saçan ve ark., 2006). Maydanozun antioksidan özelliği ile ilgili yapılan başka bir çalışmada da karaciğer dokusu incelenmiş ve maydanoz ile tedavi edilen grubun GSH seviyesinde yükselme görülmüştür (Kolarovic ve ark., 2010). Maydanozun içeriğinde bulunan flavonoidlerin SOD düzeylerini, model gruba göre arttırdığı gösterilmiştir (Farzaei ve ark., 2013; Jian ve ark., 2018). Flavonoidler, hem maydanoz hem de yaban mersininde bulunan bileşiklerdir. Sıçanlarda yapılan bir karaciğer çalışmasında yaban mersini suyu tedavi amacıyla kullanılmış ve hasta gruptaki sıçanların GSH ve SOD seviyelerinde artış gözlenmiştir (Farzaei ve ark., 2013; Ren ve ark., 2019). Yapılan başka bir çalışmada da yine flavonoid bakımından zengin olan semizotunun karaciğer hasarının tedavi edici özelliğine bakılmış ve hasta olan sıçanların SOD, ve KAT seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir (Abd ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda da SKB grubunun SOD, GSH ve KAT seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlenirken, SKB + MYZ grubunun seviyeleri, SKB grubuna göre artış göstermiştir.

Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA, karaciğer hasarı sonucu serbest radikallerde artışa bağlı olarak yükselir (Ballı ve ark., 2009). Karaciğer hasarı üzerine yapılan çalışmalarda Kim ve ark. ve Donepudi ve ark.'ları SKB grubunun MDA seviyesini, kontrol grubunun seviyesine göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir. (Donepudi ve ark., 2012; Kim ve ark., 2013). Streptozosin (STZ) ile indüklenen bir diyabet modelinde sıçanların karaciğer doku MDA düzeylerine bakıldığında maydanoz ekstresi ile tedavi edilen grubun MDA seviyesinin, hasta olan grubun seviyesine göre düşüş gösterdiğini bildirilmiştir (Sobhy ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda da SKB grubuna ait MDA seviyesi, kontrol grubunun seviyesine göre yüksek bulunmuşken, SKB+ maydanoz grubunun MDA seviyesi, SKB grubuna göre düşük bulunmuştur.

Sodyum/potasyum adenozin trifosfataz, tüm hücre zarlarında sodyum ve potasyum dengesini sağlayarak hepatosit yapısı ve fizyolojisinde önemli rol oynayan önemli bir membran enzimidir (Atalay ve ark., 2018). Özel hücre fonksiyonlarında yer alan çeşitli metabolitlerin membranda taşınması için enerji gerekmektedir. Bu enerji ise plazma membranı boyunca Na^+ 'nın hücre içine girmesi ve K^+ 'nın da hücre dışına çıkması sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle Na^+/K^+ -ATPaz enziminin disfonksiyonu sonucu ciddi sonuçlar oluşabilmektedir. Ayrıca Na^+/K^+ -ATPaz enziminin serbest radikal kaynaklı membran hasarının iyi bir hedefi olduğu bilinmektedir (Kocak-Toker ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda safra kanalı bağlamasının Na^+/K^+ -ATPaz seviyesini azalttığı gösterilmiştir (Muriel ve ark., 1994; Muriel, 1995). Literatürde maydanoz tedavisinin Na^+/K^+ -ATPaz üzerine etkisi hakkında bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte içerdiği A vitamini ve flavonoidler bakımından maydanoza benzeyen çemenotu ile yapılan bir çalışmada çemenotu ile karaciğerin Na^+/K^+ -ATPaz seviyesinin arttığı görülmüştür (Thirunavukkarasu ve ark., 2003; Ouzir ve ark., 2016). Biz de yaptığımız çalışmada da SKB grubunun Na^+/K^+ -ATPaz seviyesinin, kontrol grubuna göre düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte maydanoz tedavisinin Na^+/K^+ -ATPaz düzeyinde SKB grubuna göre belirgin artmaya olduğu görülmüştür. Bu yükselişin nedeni olarak maydanozun antioksidan özelliği sonucu membran hasarını azalttığını düşünmekteyiz.

Serbest radikaller DNA' daki bazlarda hasara neden olurlar. Bunun sonucunda da DNA sentezi sırasında nükleotitler yanlış okunur ve yanlış yerleştirilir. Hasar görmüş olan bu bazlar arasında da en hassas ve en çok görüleni olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) oksidatif hasar belirteci olarak kullanılmaktadır (Atmaca ve Aksoy, 2009; Li ve ark., 2016). Karaciğer hasarının tedavisi ile ilgili yapılan çalışmalarda safra kanalı bağlanan hayvanlarda 8-OHdG seviyesinin, kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır (Huang ve ark., 2003; Maeda ve ark., 2008; Matono ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada maydanoz gibi flavonoid içeren Sho-Saiko-to isimli bitkisel karışım kullanılarak karaciğer hasarı üzerine etkisi incelenmiş ve model grubun 8-OHdG düzeylerinde düşüşe neden olduğu görülmüştür (Shimizu, 2000; Shiota ve ark., 2002; Farzaei ve ark., 2013). Bizim yaptığımız çalışmada da sonucun önceki çalışmalarla uyumlu olarak safra kanalı bağlamasının 8-OHdG düzeylerinde artışa neden olduğu saptanmıştır ancak maydanoz tedavisi alan sıçanlarda 8-OHdG

seviyesinde düşüş olduğu gözlenmiştir.

Tümör nekroz faktör alfa savunma sisteminde önemli bir rol oynayan pro-inflamatuar sitokindir (Lopetuso ve ark., 2018). Karaciğerdeki hasar sonucunda TNF- α seviyesinde artma görülmektedir (Tao ve ark., 2017). Nar kabuğunun karaciğer hasarı üzerine olası etkisi üzerine yapılan bir çalışmada SKB'li grubun TNF- α seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülmüştür (Toklu ve ark., 2007). Sheen ve ark.'larının yaptıkları çalışmada TNF- α seviyelerinin, SKB grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur (Sheen ve ark., 2016). Hiperürisemik farelerde yapılan bir çalışmada maydanoz ile tedavi edilen grubun TNF- α seviyesi model gruba göre düştüğü görülmüştür (Soliman ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla uyumlu olarak SKB grubunun TNF- α seviyesi kontrol grubunun seviyesine göre yüksek olarak bulunmuş olup SKB + MYZ grubunun TNF- α seviyesi ise, SKB grubuna düşük bulunmuştur.

İnterlökin 1 beta karaciğer fibrozunda inflamasyonun sürdürülmesinde önemli rol oynayan proinfalamatuar sitokindir (Luan ve Ju, 2018). Erdostein tedavisinin karaciğer hasarı üzerine olası etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada SKB grubunun IL-1 β seviyesinin, kontrol grubunun seviyesine göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (Şener ve ark., 2007). Ayrıca karaciğer hasarı üzerine yapılan başka bir çalışmada da SKB grubunun IL- 1 β seviyesi kontrol grubunun seviyesine göre yüksek olarak tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2017). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada maydanozla tedavi edilen grubun IL-1 β seviyesi, model gruba göre düşüş göstermiştir (Soliman ve ark., 2020). Bizim yaptığımız çalışmada da bulunan bu sonuçlara uygun olarak SKB grubunun IL-1 β seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca SKB +MYZ grubunun IL-1 β seviyesi, SKB grubuna göre düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Miyeloperoksidaz, ROT da rol oynayarak dokuda inflamasyon oluşumuna katkıda bulunan bir enzimdir (Rensen ve ark., 2009). İşeri ve ark.'ın safra kanalı bağlanan sıçanlarda karaciğer hasarı üzerine Ghrelin'in olası etkisi üzerine yaptıkları çalışmada SKB li sıçanların MPO seviyesinin kontrol grubunun seviyesine göre yükseldiğini gözlenmiştir (İşeri ve ark., 2008). Yapılan başka bir çalışmada da safra kanalının bağlanmasının MPO düzeyini, arttırdığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada karaciğer

hasarında kullanılan ve maydanoz gibi flavonoid içeren deve dikeninin karaciğer fibrozunu azalttığı görülmüştür (Alaca ve ark., 2017). Bizim yaptığımız çalışmada da SKB grubuna ait MPO seviyelerinin, kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür. Diğer yandan maydanoz tedavisinin artan MPO düzeyinde düşüşe neden olduğu saptanmıştır. Bu durum maydanoz tedavisinin dokuya olan nötrofil göçünü azaltarak dokudaki inflamasyonu azalttığını göstermektedir.

Doku homeostazını dengelemek için doku ölümü ve üretimi önemlidir. Apoptoz, bu dengeyi sağlamak için programlanmış hücre ölümüdür. Kaspazlar ise apoptozun ilk aşamasında aktive olan enzim ailesidir. Yapılan çalışmalar da oksidatif hasar ve ROT'un apoptoza yol açtığı ve hücrenin oksidanlara maruz alması sonucunda ise apoptozda görev alan kaspazları aktive ettiği görülmüştür. Bu nedenle, kaspaz aktivitesi ölçümü ile oksidatif stres kaynaklı apoptozu gözlemek mümkündür (Adakul ve ark., 2019). Safra kanalı bağlanarak karaciğer hasarı oluşturan Sheen ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada SKB grubunun Kaspaz-3 aktivitesinin seviyesi kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür (Sheen ve ark., 2016). Diğer bir çalışmada da aynı şekilde SKB grubunun Kaspaz-3 seviyesi, kontrol grubunun seviyesine göre yüksek bulunmuştur (Lee ve ark., 2007). İçerisinde maydanozda da olduğu gibi flavonoid bulunduran enginarla yapılan bir çalışmada engarın kaspaz-3 seviyesinin düşürdüğünü gözlemlemişlerdir (Wang ve ark., 2003; Çolak ve ark., 2016). Bizim yaptığımız çalışmada da diğer çalışmalarla uyumlu olarak SKB grubunun Kaspaz-3 seviyesini kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca maydanozla tedavi sonucunda kaspaz-3 seviyesinin SKB grubuna göre belirgin bir azalma görülmüştür.

Transforme edici büyüme faktörü beta, karaciğerin fizyolojisinde ve patolojisinde önemli rolü olan bir düzenleyicidir ve karaciğerin hasarına, iltahaplanmasına ve fibrozuna katkıda bulunur (Fabregat ve ark., 2016). Şen ve arkadaşlarının Mersin ekstresinin karaciğer hasarı üzerine olası etkilerini inceledikleri bir çalışmada SKB grubunun TGF- β düzeylerinde kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır (Şen ve ark., 2016). Yapılan başka çalışmalarda da TGF- β düzeyinin, kontrol grubuna göre SKB grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür (Du ve ark., 2012; Asakawa ve ark., 2012; Sharawy ve ark., 2018). Literatürde maydanoz kullanımının karaciğer TGF- β düzeyleri üzerindeki etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Enginar,

maydanoz gibi flavonoid içeren bir bitkidir. Enginar ile yapılan bir karaciğer çalışmasında enginarın model grubuta bulunan sıçanların TGF- β seviyelerinde düşürdüğü anlaşılmıştır (Wang ve ark., 2003; Farzaei ve ark., 2013; Abdel-Hamid ve ark., 2016; Çolak ve ark., 2016). Bizim yaptığımız çalışmada da TGF- β seviyesi SKB grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca maydanoz ile tedavi edilen hasta grubunda TGF- β seviyesinde düşüş görülmüştür.

Aktive olan hepatik stellat hücreleri miyoblastlara dönüşür bu da hidroksiprolin konsantrasyonunu arttıran birçok kollajen lifinin üretilmesine neden olur. Artan kollajen lifleri karaciğerin düzgün çalışmasını engeller ve karaciğerin fibroze gitmesine neden olur. Bu nedenle hidroksiprolin'nin karaciğer dokusundaki konsantrasyonu, karaciğer hasarının derecesini değerlendirmek için kullanılan bir belirteçtir (Farzaei ve ark., 2013; Çolak ve ark., 2016; Wang ve ark., 2019). Safra kanalı bağlanmış olan sıçan modelinde Rifaksim'in karaciğer fibrozu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da SKB grubunun hidroksiprolin seviyesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Shin ve ark., 2017). Ayrıca hidroksiprolin artışı bildiren Nan ve ark. ve Lee ve ark'nın çalışmaları da, bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak SKB grubunun seviyesi yüksek bulunmuştur. (Nan ve ark., 2002; Lee ve ark., 2007). Maydanoz ve yaban mersini flavonoid bakımından zengin bitkilerdir. Bu nedenle yaban mersini ile karaciğer hasarı üzerine yapılan bir çalışmada yaban mersinin hasta olan grubun hidroksiprolin seviyeni düşürdüğü saptanmıştır (Farzaei ve ark., 2013; Bingül ve ark., 2016). Aynı zamanda bizim çalışmamızda da maydanoz ile tedavi edilen hasta grubun (SKB + MYZ) hidroksiprolin seviyeleri, hasta olan (SKB) grubunun değerlerine göre düşüş göstermiştir.

Yaptığımız histolojik gözlemlerin sonucu ile Eshraghi ve ark.'ların (Eshraghi ve ark., 2010) yaptığı çalışmanın sonucu benzerlik göstermiş ve SKB grubunun karaciğerinde belirgin bir hasar gözlemlenmiştir. Aynı zamanda maydanoz ile tedavi edilen grubun karaciğerindeki hasar hasta gruba göre iyileşme göstermiştir.

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ve DMDP testleri, meyve ve sebze ekstraktlarının serbest radikal süpürücü antioksidan aktivitelerini ölçmek için kullanılmaktadır (Chen ve ark., 2008; Ak ve Gülçin, 2008). Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi ise elektron transferine dayalı antioksidan kapasitesi

ölçme yöntemidir (Yıldız ve ark., 2008). Yaptığımız antioksidan aktivite ölçümleri sonucunda maydanozun askorbik asit, BHT ve troloksa göre daha az antioksidan özellik gösterdiği bulunmuştur. Buna rağmen maydanozun karaciğer hasarı üzerine etkisini incelemek için yapılan biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlara göre ise maydanoz karaciğer hasarını tam olarak tedavi edemese de iyileşmesinde önemli katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmanın sonucunda maydanozun safra kanalı bağlama yöntemi ile oluşturulan karaciğer hasarına ve fibroza karşı olası koruyucu etkisi olduğu görülmüştür. Maydanoz ekstresinin bu koruyucu etkisi, antioksidan ve antihepatotoksik etkileriyle açıklanabilir. Bu nedenle maydanozun ileride klinik çalışmalarla desteklenmesiyle karaciğer hasarı ve fibrozun tedavisinde umut verici bir rolü olabileceği düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

Abd El-Azime AS, Hussein EM, Ashry OM. Synergistic effect of aqueous purslane (*Portulaca oleracea* L.) extract and fish oil on radiation-induced damage in rats. *Int J Radiat Biol.* 2014; 90(12): 1184-90.

Abdel-Hamid NM, Wahid A, Nazmy MH, Eisa MAM. Synergistic effects of jerusalem artichoke in combination with pegylated interferon alfa-2a and ribavirin against hepatic fibrosis in rats. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17(4): 1979-85.

Abenavoli L, Izzo AA, Milić N, Cicala C, Santini A, Capasso R. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytother Res.* 2018; 32(11): 2202-2213.

Abudu N, Miller JJ, Levinson SS. Fibrinogen is a co-antioxidant that supplements the vitamin E analog trolox in a model system. *Free Radic Res.* 2006; 40(3): 321-31.

Adakul BA, Ertaş B, Çevikelli ZA, Özybeli D, Ercan F, Kandemir C, Çevik Ö, Şener TE, Şener G. The effects of riboflavin on ischemia/reperfusion induced renal injury: Role on caspase-3 expression. *J Res Pharm* 2019; 23(3): 379-386.

Adil M, Amin SS, Mohtashim M. N-acetylcysteine in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2018; 84(6): 652-659.

Agrawal S, Dhiman RK, Limdi JK. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J.* 2016; 92(1086): 223-34.

Ajebli M, Eddouks M. Antihypertensive activity of *Petroselinum crispum* through inhibition of vascular calcium channels in rats. *J Ethnopharmacol.* 2019; 242: 112039.

Ak T, Gülçin I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem Biol Interact.* 2008; 174(1): 27-37.

Akıncı A, Eşrefoğlu M, Taşlıdere E, Ateş B. *Petroselinum Crispum* is effective in reducing stress-induced gastric oxidative damage. *Balkan Med J.* 2017; 34(1): 53-59.

Akkaya Ç, Yavuzer SS, Yavuzer H, Erkol G, Bozluolcay M, Dinçer Y. DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione redox status in patients with Alzheimer's disease treated with and without memantine. *J Neurol Sci.* 2017; 378: 158-

162.

Aktümsek A. Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi. 5. Basım, Nobel Yayın ve Dağıtım Tic. Ltd. Şti. Ankara, 2010; s: 555.

Alabraba E, Oo YH. Kupffer cells in immunity. Encyclopedia of Immunobiology. 2016; 1: 293-301.

Alaca N, Özbeyli D, Uslu S, Şahin HH, Yiğittürk G, Kurtel H, Öktem G, Çağlayan Yeğen B. Treatment with milk thistle extract (*Silybum marianum*), ursodeoxycholic acid, or their combination attenuates cholestatic liver injury in rats: Role of the hepatic stem cells. Turk J Gastroenterol. 2017; 28(6): 476-484.

Albright CD, Salganik RI, Craciunescu CN, Mar MH, Zeisel SH. Mitochondrial and microsomal derived reactive oxygen species mediate apoptosis induced by transforming growth factor-beta1 in immortalized rat hepatocytes. J. Cell. Biochem. 2003; 89: 254-261.

Alem MM. Allopurinol and endothelial function: A systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. Cardiovasc Ther. 2018; 36(4): e12432.

Al-Howiriny TA, Al-Sohaibani MO, El-Tahir KH, Rafatullah S. Preliminary evaluation of the anti-inflammatory and anti-hepatotoxic activities of 'Parsley' *Petroselinum crispum* in rats. Journal of Natural Remedies. 2003; 3(1): 54-62.

Ali SI, Said MM, Hassan EK. Prophylactic and curative effects of purslane on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in albino rats. Ann Hepatol. 2011; 10(3): 340-6.

Andre P, Villain F. Free radical scavenging properties of mannitol and its role as a constituent of hyaluronic acid fillers: a literature review. Int J Cosmet Sci. 2017; 39(4): 355-360.

Arabaci Tamer S, Yildirim A, Köroğlu MK, Çevik Ö, Ercan F, Yeğen BÇ. Nesfatin-1 ameliorates testicular injury and supports gonadal function in rats induced with testis torsion. Peptides. 2018; 107: 1-9.

Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry. 2001; 73(2): 239-244.

Asakawa T, Yagi M, Tanaka Y, Asagiri K, Kobayashi H, Egami H, Tanikawa K, Kage

M. The herbal medicine Inchinko-to reduces hepatic fibrosis in cholestatic rats. *Pediatr Surg Int.* 2012; 28(4): 379-84.

Atalay S, Soylu B, Aykaç A, Ögünç AV, Çetinel Ş, Özkan N, Erzik C, Şehirli AÖ. Protective effects of St. John's wort in the hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Turk J Surg.* 2018; 34(3): 198-204.

Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Derg.* 2009; 20 (2): 79-83.

Awe EO, Banjoko SO. Biochemical and haematological assessment of toxic effects of the leaf ethanol extract of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex A.W. Hill (Parsley) in rats. *BMC Complement Altern Med.* 2013; 13: 75.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014; 2014: 360438.

Aydemir B, Sarı EK. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Vet J.* 2009; 2(2): 56-60.

Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *Turk J Gastroenterol.* 2018; 29(1): 14-21.

Azad GK, Tomar RS. Ebselen, a promising antioxidant drug: mechanisms of action and targets of biological pathways. *Mol Biol Rep.* 2014; 41(8): 4865-79.

Baiocchi A, Del Nonno F, Taibi C, Visco-Comandini U, D'Offizi G, Piacentini M, Falasca L. Liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) modifications in patients with chronic hepatitis C. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 8760.

Bakala H, Hamelin M, Mary J, Borot-Laloi C, Friguet B. Catalase, a target of glycation damage in rat liver mitochondria with aging. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822(10): 1527-34.

Ballı E, Mazmancı B, Mazmancı MA, Ünyayar A, Akarsubaşı İ, Çömelekoğlu Ü. Deltametrinin karaciğerde oluşturduğu lipid peroksidasyonunda *Funalia trogii*'nin koruyucu rolü. *Mersin Univ Sağlık Bilimleri Derg.* 2009; 2(1): 23-9.

Banales JM, Huebert RC, Karlsen T, Strazzabosco M, LaRusso NF, Gores GJ. Cholangiocyte pathobiology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019; 16(5): 269-281.

- Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F. Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders. *Antioxidants* (Basel). 2018; 7(8): 102.
- Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005; 115(2): 209-18.
- Baytop T. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul; 1999, s: 290.
- Beckingham IJ, Ryder SD. ABC of diseases of liver, pancreas, and biliary system. Investigation of liver and biliary disease. *BMJ*. 2001; 322(7277): 33-6.
- Bedwell S, Dean RT, Jessup W. The action of defined oxygen-centred free radicals on human low-density lipoprotein. *Biochem J*. 1989; 262(3): 707-12.
- Beevi SS, Rasheed AM, Geetha A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2004; 34(7): 379-85.
- Bekheet IW, Madkour M, Abdel Ghaffar N, Nosseir MMF, Moussa MM, Ibraheim RA, Ateya ME. The role of myeloperoxidase in hepatitis C virus infection and associated liver cirrhosis. *TOTMJ*. 2009; 2: 1-7.
- Beutler E. Reduced Glutathione (GSH). In: Bergmeyer HV, Eds, *Red Blood Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. 2nd ed. New York: Grune & Stratton, 1975; p: 112-114.
- Bingül İ, Başaran-Küçükgergin C, Aydın AF, Soluk-Tekkeşin M, Olgaç V, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. Blueberry treatment attenuated cirrhotic and preneoplastic lesions and oxidative stress in the liver of diethylnitrosamine-treated rats. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2016; 29(3): 426-37.
- Bogdanos D, Leung PSC, Gershwin ME. Liver and the biliary tract. *Mucosal Immunology* 4th ed. USA: Academic press. 2015; 2: 1695-1717.
- Bolkent S, Yanardağ R, Özsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) on the liver of diabetic rats: a morphological and biochemical study. *Phytother Res*. 2004; 18(12): 996-9.
- Bonnardel J, T’Jonck W, Gaublomme D, Browaeys R, Scott CL, Martens L, Vanneste

B, De Prijck S, Nedospasov SA, Kremer A, Van Hamme E, Borghgraef P, Toussaint W, De Bleser P, Mannaerts I, Beschin A, van Grunsven LA, Lambrecht BN, Taghon T, Lippens S, Elewaut D, Saeys Y, Guilliams M. Stellate Cells, hepatocytes, and endothelial cells imprint the kupffer cell identity on monocytes colonizing the liver macrophage niche. *Immunity*. 2019; 51(4): 638-654.e9.

Brenner C, Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013; 59(3): 583-94.

Buege JA, Aust SD. Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978; 52(C): 302-310.

Cadet J, Wagner JR. DNA base damage by reactive oxygen species, oxidizing agents, and UV radiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5(2): a012559.

Canbay A, Friedman S, Gores GJ. 2004. Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. *Hepatology*. 2004; 39(2): 273-8.

Carocci A, Katalan A, Sinicropi MS, Genchi G. Oxidative stress and neurodegeneration: the involvement of iron. *Biometals*. 2018; 31(5): 715-735.

Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients*. 2017; 9(11): 1211.

Çayakar A. Nedir bu tümör nekrozis faktör alfa? *Turkiye Klinikleri J Intern Med*. 2018; 3(2): 67-76.

Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radicals chemistry. *Br Med Bull*. 1993; 49: 481-93.

Chen HL, Wu SH, Hsu SH, Liou BY, Chen HL, Chang MH. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. *J Biomed Sci*. 2018; 25(1): 75.

Chen XN, Fan JF, Yue X, Wu XR, Li LT. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). *J Food Sci*. 2008; 73(1): C24-8.

Chen Z, Jain A, Liu H, Zhao Z, Cheng K. Targeted drug delivery to hepatic stellate cells for the treatment of liver fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther*. 2019; 370(3): 695-702.

Chhavi N, Zutshi K, Singh NK, Awasthi A, Goel A. Serum liver enzyme pattern in

birth asphyxia associated liver injury. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2014; 17(3): 162-9.

Chiang JY. Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol.* 2013; 3(3): 1191-212.

Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative Stress as a Crucial Factor in Liver Diseases. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(25): 8082-91.

Cogger VC, Hunt NJ, Le Couteur DG. Fenestrations in the liver sinusoidal endothelial cell. In: Arias IM, Alter HJ, Boyer JL, Cohen DE, Shafritz DA, Thorgeirsson SS, Wolkoff AW, eds. *The liver: biology and pathobiology.* 6th ed. USA: Wiley & Sons Ltd. 2020, p: 435- 443.

Çolak E, Üstüner MC, Tekin N, Çolak E, Burukoğlu D, Değirmenci I, Güneş HV. The hepatocurative effects of *Cynara scolymus* L. leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injury in rats. *Springerplus.* 2016; 5: 216.

Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(10): 2407.

Cornelius CE. Liver function. In: Kaneko JJ. *Clinical biochemistry of domestic animals.* 3rd ed. California: Academic Press, 1980, p: 201- 57.

Criado M, Flores O, Ortiz MC. Elevated glomerular and blood mononuclear lymphocyte nitric oxide production in rats with chronic bile duct ligation: role on inducible nitric oxide synthase activation. *Hepatology.* 1997; 26: 268-76.

Czerska M, Mikołajewska K, Zieliński M, Gromadzińska J, Wąsowicz W. Today's oxidative stress markers. *Med Pr.* 2015; 66(3): 393-405.

Das TK, Wati MR, Fatima-Shad K. Oxidative stress gated by Fenton and Haber Weiss reactions and its association with alzheimer's disease. *Arch Neurosci.* 2014; 2(3): e20078.

Davies JMS, Cillard J, Friguet B, Cadenas E, Cadet J, Cayce R, Fishmann A, Liao D, Bulteau AL, Derbré F, Rébillard A, Burstein S, Hirsch E, Kloner RA, Jakowec M, Petzinger G, Sauce D, Sennlaub F, Limon I, Ursini F, Maiorino M, Economides C, Pike CJ, Cohen P, Salvayre AN, Halliday MR, Lundquist AJ, Jakowec NA, Mechta-Grigoriou F, Mericskay M, Mariani J, Li Z, Huang D, Grant E, Forman HJ, Finch CE,

- Sun PY, Pomatto LCD, Agbulut O, Warburton D, Neri C, Rouis M, Cillard P, Capeau J, Rosenbaum J, Davies KJA. The Oxygen Paradox, the French Paradox, and Age-Related Diseases. *Geroscience*. 2017; 39(5-6):499-550.
- Dawson PA. Role of the intestinal bile acid transporters in bile acid and drug disposition. *Handb Exp Pharmacol*. 2011; (201): 169-203.
- Delibaş N, Özçankaya R. Serbest Radikaller. *SDU Tıp Fakültesi Dergisi*. 1995; 2(3): 11-17.
- Delire B, Stärkel P, Leclercq I. Animal Models for Fibrotic Liver Diseases: What We Have, What We Need, and What Is under Development. *J Clin Transl Hepatol*. 2015; 3(1): 53-66.
- Deng X, Zhang X, Li W, Feng RX, Li L, Yi GR, Zhang XN, Yin C, Yu HY, Zhang JP, Lu B, Hui L, Xie WF. Chronic liver injury induces conversion of biliary epithelial cells into hepatocytes. *Cell Stem Cell*. 2018; 23(1): 114-122.e3.
- Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 23; 2020: 9829176.
- Donepudi AC, Aleksunes LM, Driscoll MV, Seeram NP, Slitt AL. The traditional ayurvedic medicine, *Eugenia jambolana* (Jamun fruit), decreases liver inflammation, injury and fibrosis during cholestasis. *Liver Int*. 2012; 32(4): 560-73.
- Du JX, Sun MY, Du GL, Li FH, Liu C, Mu YP, Chen GF, Long AH, Bian YQ, Liu J, Liu CH, Hu YY, Xu LM, Liu P. Ingredients of Huangqi decoction slow biliary fibrosis progression by inhibiting the activation of the transforming growth factor-beta signaling pathway. *BMC Complement Altern Med*. 2012; 12-33.
- Dulundu E, Özel Y, Topaloğlu U, Toklu H, Ercan F, Gedik N, Şener G. Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(6): 885-92.
- Eken A. Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2017; 160-9.
- Ekinci L, Sağdıç O. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyon. *Gıda*. 2008; 3 (5): 251-260.

- Ender Dulundu E, Özel Y, Topaloglu U, Toklu H, Ercan F, Gedik N, Şener G. Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22(6): 885-92.
- Eshraghi T, Eidi A, Mortazavi P, Asghari A, Tavangar SM. Melatonin ameliorates liver fibrosis induced by bile-duct ligation in rats. *Can J Surg*. 2010; 53(5): 313-8.
- Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sánchez-Pérez P, Cadenas S, Lamas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol*. 2015; 6: 183-197.
- Fabregat I, Moreno-Càceres J, Sánchez A, Dooley S, Dewidar B, Giannelli G, Ten Dijke P. TGF- β signalling and liver disease. *FEBS J*. 2016; 283(12): 2219-32.
- Farrar CT, DePeralta KD, Day H, Rietz AT, Wei L, Lauwers YG, Keill B, Subramaniam A, Sinskey JA, Tanabe KK, Fuchs CB, Caravan P. 3D molecular MR imaging of liver fibrosis and response to rapamycin therapy in a bile duct ligation rat model. *J Hepatol*. 2015; 63(3): 689-696.
- Farshori NN, Al-Sheddi ES, Al-Oqail MM, Musarrat J, Al-Khedhairi AA, Siddiqui MA. Cytotoxicity assessments of *Portulaca oleracea* and *Petroselinum sativum* seed extracts on human hepatocellular carcinoma cells (HepG2). *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15(16): 6633-8.
- Farzaei MH, Abbasabadi Z, Ardekani MR, Rahimi R, Farzaei F. Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. *J Tradit Chin Med*. 2013; 33(6): 815-26.
- Fogliano V, Verde V, Randazzo G, Ritieni A. Method for Measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J Agric. Food Chem*. 1999; 47(3): 1035-1040.
- Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012; 33(7): 829-37, 837a-837d.
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008; 88(1): 125-72.
- Gafter-Gvili A, Zingerman B, Rozen-Zvi B, Ori Y, Green H, Lubin I, Malachi T,

- Gafter U, Herman-Edelstein M. Oxidative stress-induced DNA damage and repair in human peripheral blood mononuclear cells: protective role of hemoglobin. *PLoS One*. 2013; 8(7): e68341.
- Gedik N, Kabasakal L, Sehirli O, Ercan F, Sirvanci S, Keyer-Uysal M, Şener G. Long-term Administration of Aqueous Garlic Extract (AGE) Alleviates Liver Fibrosis and Oxidative Damage Induced by Biliary Obstruction in Rats. *Life Sci*. 2005; 76(22):2593-606.
- Ghatak S, Biswas A, Dhali GK, Chowdhury A, Boyer JL, Santra A. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011; 251(1): 59-69.
- Giannini G, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*. 2005; 172(3): 367-79.
- Godfraind T. Antioxidant effects and the therapeutic mode of action of calcium channel blockers in hypertension and atherosclerosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2005; 360(1464): 2259-72.
- Gökhan BH. Balıklarda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. Fırat Üniveristesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Semineri, 2007, Elazığ (Danışman: Prof. Dr. N Sağlam).
- Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN, Kulkarni SS. A review on laboratory liver function tests. *Pan Afr Med J*. 2009; 3: 17.
- Guicciardi ME, Malhi H, Mott JL, Gores GJ. Apoptosis and necrosis in the liver. *Compr Physiol*. 2013; 3(2): 977-1010.
- Gwaltney-Brant SM. Nutraceuticals in hepatic diseases. In: Gupta RC eds. *Nutraceuticals Efficacy, Safety and Toxicity*. Amsterdam: Academic Press/ Elsevier; 2016 p: 87-99.
- Hamoud AR, Weaver L, Stec DE, Hinds TD Jr. Bilirubin in the liver-gut signaling axis. *Trends Endocrinol Metab*. 2018; 29(3): 140-150.
- Han JM, Kim HG, Choi MK, Lee JS, Park HJ, Wang JH, Lee JS, Son SW, Hwang SY, Son CG. Aqueous extract of *Artemisia iwayomogi* Kitamura attenuates cholestatic

liver fibrosis in a rat model of bile duct ligation. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50(10): 3505-13.

Hao L, Shan Q, Wei J, Ma F, Sun P. Lactoferrin: major physiological functions and applications. *Curr Protein Pept Sci.* 2019; 20(2): 139-144.

Healy J, Tipton K. Ceruloplasmin and what it might do. *J Neural Transm (Vienna).* 2007; 114(6): 777-81.

Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol .* 2011; 6:425-56.

Herrera B, Murillo MM, Alvarez-Barrientos A, Beltrán J, Fernández M, Fabregat I. Source of early reactive oxygen species in the apoptosis induced by transforming growth factor-beta in fetal rat hepatocytes. *Free Radic Biol Med.* 2004; 36(1): 16-26.

Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017; 121: 27-42.

Hillegas LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. Assesment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods,* 1990; 24: 285-295.

Hira S, Saleem U, Anwar F, Sohail MF, Raza Z, Ahmad B. β -Carotene: A natural compound improves cognitive impairment and oxidative stress in a mouse model of streptozotocin-induced alzheimer's disease. *Biomolecules.* 2019; 9(9): 441.

Holden P, Nair LS. Deferoxamine: An Angiogenic and Antioxidant Molecule for Tissue Regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2019; 25(6): 461-470.

Huang YT, Hsu YC, Chen CJ, Liu CT, Wei YH. Oxidative-stress-related changes in the livers of bile-duct-ligated rats. *J Biomed Sci.* 2003; 10(2): 170-8.

Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016:7432797.

İnaç TA. Safra kanalı bağlama yöntemi ile deneysel olarak siroz oluşturulan sıçanlarda karaciğerde gelişen hasara karşı çörek otu (*Nigella Sativa*) yağı'nın koruyucu etkilerinin incelenmesi. M.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans

Tezi, 2009, İstanbul (Danışman: G Şener).

İşeri SÖ, Şener G, Sağlam B, Ercan F, Gedik N, Yeğen BÇ .Ghrelın alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regul Pept.* 2008; 146(1-3): 73-9.

Işık B, Aktay G, Söylemezođlu T. Kadmiyum ve etanolün karaciğer hidroksiprolin düzeyine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi.* 1995; 22: 47-54.

Iwasaki J, Afify M, Bleilevens C, Klinge U, Weiskirchen R, Steitz J, Vogt M, Yagi S, Nagai K, Uemoto S, Tolba RH.

James AM, Smith RA, Murphy MP. Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial Coenzyme Q. *Arch Biochem Biophys.* 2004; 423(1): 47-56.

Janel N, Noll C. Protection and Reversal of Hepatic Fibrosis by Polyphenols. *Polyphenols in Human Health and Disease.* 2014; 1: 665-679.

Jansen E, Ruskovska T. Serum biomarkers of (anti)oxidant status for epidemiological studies. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(11): 27378-90.

Jian T, Ding X, Wu Y, Ren B, Li W, Lv H, Chen J. Hepatoprotective effect of loquat leaf flavonoids in PM 2.5 -induced non-alcoholic fatty liver disease via regulation of IRs-1/Akt and CYP2E1/JNK Pathways. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(10): 3005.

Joseph B, Jini D. Insight into the hypoglycaemic effect of traditional Indian herbs used in the treatment of diabetes. *Res J Med Plant.* 2011; 5(4): 352-76.

Jüngst C, Berg T, Cheng J, Green RM, Jia J, Mason AL, Lammert F. Intrahepatic cholestasis in common chronic liver diseases. *Eur J Clin Invest.* 2013; 43(10): 1069-83.

Kallioliás GD, Ivashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol.* 2016; 12(1): 49-62.

Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 2016; 4(1): 50-59.

Kayadibi H, Sertoğlu E. Karaciğer fibrozisinin invazif olmayan dolaylı biyokimyasal belirteçleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* 2014; 23(3): 427-42.

Kayanoki Y, Fujii J, Suzuki K, Kawata S, Matsuzawa Y, Taniguchi N. Suppression of antioxidative enzyme expression by transforming growth factor-beta 1 in rat

- hepatocytes. *J Biol Chem.* 1994; 269(22): 15488-92.
- Kettle AJ, Winterbourn CC. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox Rep.* 1997; (1): 3-15.
- Khomich O, Ivanov AV, Bartosch B. Metabolic hallmarks of hepatic stellate cells in liver fibrosis. *Cells.* 2019; 9(1): 24.
- Kibel A, Belovari T, Drenjancevic-Peric I. The role of transferrin in atherosclerosis. *Med Hypotheses.* 2008; 70(4): 793-7.
- Kim HG, Han JM, Lee HW, Lee JS, Son SW, Choi MK, Lee DS, Wang JH, Son CG. CGX, a multiple herbal drug, improves cholestatic liver fibrosis in a bile duct ligation-induced rat model. *J Ethnopharmacol.* 2013; 145(2): 653-62.
- Kim Y, Cha SJ, Choi HJ, Kim K. Omega class Glutathione S-Transferase: Antioxidant enzyme in pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 5049532.
- Knell AJ. Liver function and failure: the evolution of liver physiology. *J R Coll*
- Kocak-Toker N, Giris M, Tülübas F, Uysal M, Aykac-Toker G. Peroxynitrite induced decrease in Na⁺, K⁺-ATPase activity is restored by taurine. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(23): 3554-7.
- Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol Pathol.* 2002; 30(6): 620-50.
- Kolaric TO, Nincevic V, Smolic R, Smolic M, Wu GY. Mechanisms of hepatic cholestatic drug injury. *J Clin Transl Hepatol.* 2019 Mar 28; 7(1): 86-92.
- Kolarovic J, Popovic M, Zlinská J, Trivic S, Vojnovic M. Antioxidant activities of celery and parsley juices in rats treated with doxorubicin. *Molecules.* 2010; 15(9): 6193-204.
- Konukoğlu D, Akçay T. Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. *T Klin Tıp Bilimleri.* 1995; 15(4): 214-8.
- Konukoğlu D. Serbest radikaller ve önemleri. *Aile Hek Derg.* 1997; 1(4): 197-200.
- Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis. *J Clin Invest.* 2017; 127(1):

55-64.

Kummar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed. Philadelphia : Saunders/Elsevier; 2010, p: 834-7.

Lee GY, Han SN. The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*. 2018; 10(11): 1614.

Lee KS, Lee SJ, Park HJ, Chung JP, Han KH, Chon CY, Lee SI, Moon YM. Oxidative stress effect on the activation of hepatic stellate cells. *Yonsei Med J*. 2001; 42(1): 1-8.

Lee SW, Kim SH, Min SO, Kim KS. Ideal Experimental Rat Models for Liver Diseases. *Korean J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2011; 15(2): 67-77.

Lee TY, Chang HH, Chen JH, Hsueh ML, Kuo JJ. Herb medicine Yin-Chen-Hao-Tang ameliorates hepatic fibrosis in bile duct ligation rats. *J Ethnopharmacol*. 2007; 109(2): 318-24.

Lee TY, Chang HH, Wu MY, Lin HC. Yin-Chen-Hao-Tang ameliorates obstruction-induced hepatic apoptosis in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2007; 59(4): 583-90.

Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011; 25(2): 195-206.

Lehmann-Werman R, Magenheimer J, Moss J, Neiman D, Abraham O, Piyanzin S, Zemmour H, Fox I, Dor T, Grompe M, Landesberg G, Loza BL, Shaked A, Olthoff K, Glaser B, Shemer R, Dor Y. Monitoring liver damage using hepatocyte-specific methylation markers in cell-free circulating DNA. *JCI Insight*. 2018; 3(12): e120687.

Li P, Ramm GA, Macdonald GA. Value of the 8-oxodG/dG ratio in chronic liver inflammation of patients with hepatocellular carcinoma. *Redox Biol*. 2016; 8: 259-70.

Liang D, Gao F, Ni Z, Lin L, Deng Q, Tang Y, Wang X, Luo X, Xia H. Melatonin improves heat tolerance in kiwifruit seedlings through promoting antioxidant enzymatic activity and Glutathione S-Transferase transcription. *Molecules*. 2018; 23(3): 584.

Lim JH, Kim TW, Song IB, Park SJ, Kim MS, Cho ES, Jung JY, Son HY, Kim JW, Yun HI. Protective effect of the roots extract of *Platycodon grandiflorum* on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2013; 32(11): 1197-205.

Limdi JK, Hyde GM. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad Med J*.

2003; 79(932): 307-12.

Lin L, Zhou F, Shen S, Zhang T. Fighting liver fibrosis with naturally occurring antioxidants. *Planta Med.* 2018; 84(18): 1318-1333.

Liu Q. Role of cytokines in the pathophysiology of acute-on-chronic liver failure. *Blood Purif.* 2009; 28(4): 331-41.

Liu RM, Desai LP. Reciprocal regulation of TGF- β and reactive oxygen species: A perverse cycle for fibrosis. *Redox Biol.* 2015; 6: 565-577.

Liu RM, Gaston Pravia KA. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. *Free Radic Biol Med.* 2010; 48(1): 1-15.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010; 4(8): 118-126.

Lopetuso LR, Mocci G, Marzo M, D'Aversa F, Rapaccini GL, Guidi L, Armuzzi A, Gasbarrini A, Papa A. Harmful effects and potential benefits of anti-tumor necrosis factor (TNF)- α on the liver. *Int J Mol Sci.* 27; 19(8): 2199.

Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1830(5): 3143-53.

Luan J, Ju D. Inflammasome: A Double-Edged Sword in Liver Diseases. *Front Immunol.* 2018; 9: 2201.

Luangmonkong T, Suriguga S, Mutsaers HAM, Groothuis GMM, Olinga P, Boersema M. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2018; 175: 71-102.

Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R, Shteingart S, Lederkremer GZ. Non-invasive Diagnosis of Liver Fibrosis and Cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(41): 11567-83.

Luyendyk JP, Roth RA, Ganey PE. Inflammation and hepatotoxicity. *Comprehensive Toxicology* 2nd ed. AL, USA: Elsevier press. 2010; 9: 295-317.

Maeda K, Koda M, Matono T, Sugihara T, Yamamoto S, Ueki M, Murawaki Y, Yamashita N, Nishiyama S. Preventive effects of ME3738 on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rats. *Hepatol Res.* 2008; 38(7): 727-35.

Mahaseth T, Kuzminov A. Potentiation of Hydrogen Peroxide Toxicity: From Catalase Inhibition to Stable DNA-iron Complexes. *Mutat Res.* 2017; 773: 274-281.

- Mahmood S, Hussain S, Malik F. Critique of medicinal conspicuousness of Parsley(*Petroselinum crispum*): a culinary herb of Mediterranean region. *Pak J Pharm Sci.* 2014; 27(1): 193-202.
- Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology.* 2008; 134(6): 1641-54.
- Malhi H, Guicciardi ME, Gores GJ. Hepatocyte death: A clear and present Danger. *Physiol Rev.* 2010; 90(3):1165-94.
- Manco R, Leclercq IA, Clerboux LA. Liver regeneration: different sub-populations of parenchymal cells at play choreographed by an injury-specific microenvironment. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12): 4115.
- Marcelino P, Marinho HS, Campos MC, Neves AR, Real C, Fontes FS, Carvalho A, Feio G, Martins MBF, Corvo ML. Therapeutic activity of superoxide dismutase-containing enzymosomes on rat liver ischaemia-reperfusion injury followed by magnetic resonance microscopy. *Eur J Pharm Sci.* 2017; 109: 464-471.
- Margis R, Dunand C, Teixeira FK, Margis-Pinheiro M. Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. *FEBS J.* 2008; 275(15): 3959-70.
- Mariotti V, Strazzabosco M, Fabris L, Calvisi DF. Animal models of biliary injury and altered bile acid metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018; 1864(4): 1254-1261.
- Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 6501046.
- Marrone G, Shah VH, Gracia-Sancho J. Sinusoidal communication in liver fibrosis and regeneration. *J Hepatol.* 2016; 65(3): 608-17.
- Matono T, Koda M, Tokunaga S, Sugihara T, Ueki M, Murawaki Y. The effects of the selective mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone on hepatic fibrosis induced by bile duct ligation in rat. *Int J Mol Med.* 2010; 25(6): 875-82.
- Meier RPH, Meyer J, Montanari E, Lacotte S, Balaphas A, Muller YD, Clément S, Negro F, Toso C, Morel P, Buhler LH. Interleukin-1 Receptor Antagonist Modulates Liver Inflammation and Fibrosis in Mice in a Model-Dependent Manner. *Int J Mol*

Sci. 2019; 20(6): 1295.

Mello T, Zanieri F, Ceni E, Galli A. Oxidative Stress in the Healthy and Wounded Hepatocyte: A Cellular Organelles Perspective. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 8327410.

Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, Aleksunes LM. Inherited disorders of bilirubin clearance. *Pediatr Res*. 2016; 79(3): 378-86.

Meyer DJ, Chiapella AM. Cholestasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1985; 15(1): 215-27.

Mijatović S, Savić-Radojević A, Plješa-Ercegovac M, Simić T, Nicoletti F, Maksimović-Ivanić D. The double-faced role of nitric oxide and reactive oxygen species in solid tumors. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(5): 374.

Mokudai T, Nakamura K, Kanno T, Niwano Y. Presence of hydrogen peroxide, a source of hydroxyl radicals, in acid electrolyzed water. *PLoS One*. 2012; 7(9): e46392.

Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β family: Context-dependent roles in cell and tissue physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016; 8(5): a021873.

Muriel P, Suarez OR, Gonzalez P, Zuñiga L. Protective effect of S-adenosyl-l-methionine on liver damage induced by biliary obstruction in rats: a histological, ultrastructural and biochemical approach. *J Hepatol*. 1994; 21(1): 95-102.

Muriel P. Interferon-alpha preserves erythrocyte and hepatocyte ATPase activities from liver damage induced by prolonged bile duct ligation in the rat. *J Appl Toxicol*. 1995; 15(6): 449-53.

Nair VY, Balakrishanan N, Antony Santiago JV. *Petroselinum crispum* extract attenuates hepatic steatosis in rats fed with fructose enriched diet. *Bratisl Lek Listy*. 2015; 116(9): 547-53.

Nan JX, Park EJ, Kim YC, Ko G, Sohn DH. *Scutellaria baicalensis* inhibits liver fibrosis induced by bile duct ligation or carbon tetrachloride in rats. *J Pharm Pharmacol*. 2002; 54(4): 555-63.

Natarajan V, Harris EN, Kidambi S. SECs (Sinusoidal Endothelial Cells), Liver

- Microenvironment, and Fibrosis. *Biomed Res Int.* 2017; 2017: 4097205.
- Noyan A. Yaşamda Ve Hekimlikte Fizyoloji. 15. Basım, Meteksan Yayınları Anonim Şti. Ankara, 2004; s: 882-883.
- Ouzir M, El Bairi K, Amzazi S. Toxicological properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Food Chem Toxicol.* 2016; 96: 145-54.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *J Clin Exp Invest.* 2015; 6 (3): 331-336.
- Özdemir S. Rutin karaciğer testleri. *Nobel Med.* 2009; 5(2): 5-9.
- Özsoy-Saçan Ö, Yanardağ R, Orak H, Özgey Y, Yarat A, Tunalı T. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2006; 104(1-2): 175-81.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007; 87(1): 315-424.
- Parola M, Leonarduzzi G, Robino G, Albano E, Poli G, Dianzani MU. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free Radic Biol Med.* 1996; 20(3): 351-9.
- Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat Rev Immunol.* 2014; 14(3): 181-94.
- Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. *World J Gastroenterol.* 2009; 15(14): 1677-1689.
- Petridou AI, Zagora ET, Petridis P, Korres GS, Gazouli M, Xenelis I, Kyrodimos E, Kontothanasi G, Kaliora AC. The Effect of Antioxidant Supplementation in Patients with Tinnitus and Normal Hearing or Hearing Loss: A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Trial. *Nutrients.* 2019; 11(12): 3037.
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015; 30(1): 11-26.
- Pisoschi AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. Antioxidant Capacity Determination in

Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 9130976.

Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, Rautou PE. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017; 66(1): 212-227.

Poniatowski ŁA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D. Transforming growth factor Beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015: 137823.

Qiao JY, Li HW, Liu FG, Li YC, Tian S, Cao LH, Hu K, Wu XX, Miao MS. Effects of *Portulaca Oleracea* Extract on acute alcoholic liver injury of rats. *Molecules*. 2019; 24(16): 2887.

Rabkin SW, Desjardins P. Mitochondrial and cytoplasmic isoenzymes of aspartate aminotransferase in sera of patients after myocardial infarction. *Clin Chim Acta*. 1984;138(3): 245-57.

Reeves HL, Friedman SL. Activation of hepatic stellate cells--a key issue in liver fibrosis. *Front Biosci*. 2002; 7: d808-26.

Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an Antioxidant: Under Promises but Over Delivers. *J Pineal Res*. 2016; 61(3): 253-78.

Ren T , Zhu L , Shen Y , Mou Q , Lin T , Feng H . Protection of hepatocyte mitochondrial function by blueberry juice and probiotics via SIRT1 regulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Food Funct*. 2019; 10(3): 1540-1551.

Rensen SS, Slaats Y, Nijhuis J, Jans A, Bieghs V, Driessen A, Malle E, Greve JW, Buurman WA. Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol*. 2009; 175(4): 1473-82.

Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett*. 2008; 582(13): 1783-7.

Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives. *Cells*. 2020; 9(4): 875.

- Ross D. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Mechanisms of free-radical induced toxicity and glutathione-dependent protection. *Pharmacol Ther.* 1988; 37: 231-249.
- Roumeliotis S, Roumeliotis A, Dounousi E, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Dietary Antioxidant Supplements and Uric Acid in Chronic Kidney Disease: A Review. *Nutrients.* 2019; 11(8): 1911.
- RPL Panqueva. Approaches to pathological diagnosis of cholestatic diseases. *Rev Col Gastroenterol.* 2014; 29 (2): 183-92.
- Ruart M, Chavarria L, Campreciós G, Suárez-Herrera N, Montironi C, Guixé-Muntet S, Bosch J, Friedman. Impaired endothelial autophagy promotes liver fibrosis by aggravating the oxidative stress response during acute liver injury. *J Hepatol.* 2019; 70(3): 458-469.
- Sadeghi H, Jahanbazi F, Sadeghi H, Omidifar N, et al. Metformin attenuates oxidative stress and liver damage after bile duct ligation in rats. *Res Pharm Sci.* 2019; 14(2): 122–129.
- Sadeghi H, Jahanbazi F, Sadeghi H, Omidifar N, Alipoor B, Kokhdan EP, Mousavipoor SM, Mousavi-Fard SH, Doustimotlagh AH. Metformin attenuates oxidative stress and liver damage after bile duct ligation in rats. *Res Pharm Sci.* 2019; 14(2): 122-129.
- Sato K, Hall C, Glaser S, Francis H, Meng F, Alpini G. Pathogenesis of Kupffer cells in cholestatic liver injury. *Am J Pathol.* 2016; 186(9): 2238–2247.
- Sato K, Kennedy L, Liangpunsakul S, Kusumanchi P, Yang Z, Meng F, Glaser S, Francis H, Alpini G. Intercellular communication between hepatic cells in liver diseases. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(9): 2180.
- Sato K, Marzioni M, Meng F, Francis H, Glaser S, Alpini G. Ductular Reaction in Liver Diseases: Pathological Mechanisms and Translational Significances. *Hepatology.* 2019; 69(1): 420-430.
- Schuppan D Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2008 Mar 8; 371(9615): 838-851.
- Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver

injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006; 290(4): bG583-9.

Semenza GL. Hypoxia-inducible Factors: Coupling Glucose Metabolism and Redox Regulation With Induction of the Breast Cancer Stem Cell Phenotype. *EMBO J*. 2017; 36(3): 252-259.

Şen A, Özkan S, Recebova K, Cevik O, Ercan F, Kervancıoğlu Demirci E, Bitis L, Şener G. Effects of *Myrtus communis* extract treatment in bile duct ligated rats. *J Surg Res*. 2016; 205(2): 359-367.

Şener G, Kabasakal L, Şehirli Ö, Ercan F, Gedik N. 2-Mercaptoethane sulfonate (MESNA) protects against biliary obstruction-induced oxidative damage in rats. *Hepatol Res*. 2006; 35(2): 140-6.

Şener G, Kabasakal L, Yüksel M, Gedik N, Alican Y. Hepatic fibrosis in biliary-obstructed rats is prevented by *Ginkgo biloba* treatment. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(35): 5444-9.

Şener G, Şehirli AÖ, Toklu HZ, Yüksel M, Ercan F, Gedik N. Erdosteine treatment attenuates oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *Pediatr Surg Int*. 2007; 23(3): 233-41.

Şener G, Şehirli O, Çetinel S, Ercan F, Yüksel M, Gedik N, Yeğen BC. Amelioration of sepsis-induced hepatic and ileal injury in rats by the leukotriene receptor blocker montelukast. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005; 73(6): 453-62.

Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M. The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anat Sci Int*. 2017; 92(4): 387-455.

Serviddio G, Pereda J, Pallardo FV, Carretero J, Borrás C, Cutrin J, Vendemiale G, Poli G, Vina J, Sastre J. Ursodeoxycholic acid protects against secondary biliary cirrhosis in rats by preventing mitochondrial oxidative stress. *Hepatology*. 2004; 39, 711-720.

Sharawy MH, Abdel-Rahman N, Megahed N, El-Awady MS. Paclitaxel alleviates liver fibrosis induced by bile duct ligation in rats: Role of TGF- β 1, IL-10 and c-Myc. *Life Sci*. 2018; 211: 245-251.

- Sheen JM, Chen YC, Hsu MH, Tain YL, Huang YH, Tiao MM, Li SW, Huang LT. Melatonin alleviates liver apoptosis in bile duct ligation young rats. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(8): 1365.
- Shetty S, Lalor PF, Adams DH. Liver sinusoidal endothelial cells - gatekeepers of hepatic immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018; 15(9): 555-567.
- Shibata M, Nakajima K, Higuchi R, Iwane T, Sugiyama M, Nakamura T. High Concentration of Serum Aspartate Aminotransferase in Older Underweight People: Results of the Kanagawa Investigation of the Total Check-Up Data from the National Database-2 (KITCHEN-2). *J Clin Med*. 2019 Aug 22; 8(9): 1282.
- Shimizu I. Sho-saiko-to: Japanese herbal medicine for protection against hepatic fibrosis and carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 15 Suppl: D84-90.
- Shin SK, Cho HW, Song SE, Song DK. Catalase and nonalcoholic fatty liver disease. *Pflugers Arch*. 2018; 470(12): 1721-1737.
- Shin SK, Kwon OS, Lee JJ, Park YH, Choi CS, Jeong SH, Choi DJ, Kim YS, Kim JH. Effect of Rifaximin on hepatic fibrosis in Bile duct-ligated rat model. *Korean J Gastroenterol*. 2017; 70(5): 239-246.
- Shiota G, Maeta Y, Mukoyama T, Yanagidani A, Udagawa A, Oyama K, Yashima K, Kishimoto Y, Nakai Y, Miura T, Ito H, Murawaki Y, Kawasaki H. Effects of Sho-Saiko-to on hepatocarcinogenesis and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation. *Hepatology*. 2002; 35(5): 1125-33.
- Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(36): 6549-6570.
- Sisson TRC. Bilirubin Metabolism. In: Stave U, eds. *Perinatal Physiology*. Boston: Springer, 1978, p: 532-546.
- Sobhy HM, Taha N, El-Wahab Mandour A, Lebda M. Biochemical studies on the effect of parsley (*Petroselinum crispum*) in experimentally induced diabetic rats. *AJVS*. 2018; 57(1): 115-120.
- Soliman MM, Nassan MA, Aldahrani A, Althobaiti F, Mohamed WA. Molecular and Histopathological Study on the Ameliorative Impacts of *Petroselinum Crispum* and

Apium Graveolens against Experimental Hyperuricemia. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 9512.

Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.* 1987; 235(4792): 1043-6.

Süleyman H, Gül V, Erhan E. Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi.* 2018; 1(1): 1-4.

Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol.* 2014; 60(5): 1090-6.

Tag CG, Sauer-Lehnen S, Weiskirchen S, Borkham-Kamphorst E, Tolba RH, Tacke F, Weiskirchen R. Bile duct ligation in mice: induction of inflammatory liver injury and fibrosis by obstructive cholestasis. *J Vis Exp.* 2015; (96): 52438.

Tahan G, Akin H, Aydogan F, Ramadan SS, Yapicier O, Tarcin O, Uzun H, Tahan V, Zengin K. Melatonin ameliorates liver fibrosis induced by bile-duct ligation in rats. *Can J Surg.* 2010; 53(5): 313-8.

Tahan G, Tarçın O, Tahan V, Eren F, Gedik N, Sahan E, Biberoglu N, Güzel S, Bozbaş A, Tozun N, Yücel O. The effects of n-acetylcysteine on bile duct ligation induced liver fibrosis in rats. *Dig Dis Sci.* 2007; 52: 3348-54.

Tang ELH, Rajarajeswaran J, Fung S, Kanthimathi MS. Petroselinum crispum has antioxidant properties, protects against DNA damage and inhibits proliferation and migration of cancer cells. *J Sci Food Agric.* 2015; 95(13): 2763-71.

Tao Y, Wang M, Chen E, Tang H. Liver Regeneration: Analysis of the Main Relevant Signaling Molecules. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017: 4256352.

Tarafdar A, Pula G. The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(12): 3824.

Thirunavukkarasu V, Anuradha CV, Viswanathan P. Protective effect of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds in experimental ethanol toxicity. *Phytother Res.* 2003; 17(7): 737-43.

Toklu HZ, Dumlu MU, Şehirli Ö, Ercan F, Gedik N, Gökmen V, Şener G. Pomegranate peel extract prevents liver fibrosis in biliary-obstructed rats. *J Pharm Pharmacol.* 2007; 59(9): 1287-95.

- Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol*. 2017; 27(21): R1147-1151.
- Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(7): 397-411.
- Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta*. 2006; 364(1-2): 33-60.
- Uyar BB, Gezmen-Karadağ M, Şanlıer N, Günyel S. Toplumumuzda sıklıkla kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde miktarının saptanması. *GIDA*. 2013; 38 (1): 23-29.
- Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K, Loridas S. Pulmonary Oxidative Stress, Inflammation and Cancer: Respirable Particulate Matter, Fibrous Dusts and Ozone as Major Causes of Lung Carcinogenesis Through Reactive Oxygen Species Mechanisms. *Int J Environ Res Public Health*. 2013; 10(9): 3886-907.
- Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta and fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(22): 3056-62.
- Vora SR, Patil RB, Pillai MM. Protective effects of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex AW Hill leaf extract on D-galactose-induced oxidative stress in mouse brain. *Indian J Exp Biol*. 2009; 47(5): 338-42.
- Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, Bonnafous S, Louvet A, Lafdil F, Pecker F, Tran A, Gual P, Mallat A, Lotersztajn S, Pavoine C. M2 Kupffer Cells Promote M1 Kupffer cell apoptosis: A protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014; 59(1): 130-42.
- Wang M, Simon JE, Aviles IR, He K, Zheng QY, Tadmor Y. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.) *J Agric Food Chem*. 2003; 51(3): 601-8.
- Wang R, Song F, Li S, Wu B, Gu Y, Yuan Y. Salvianolic acid A attenuates CCl₄-induced liver fibrosis by regulating the PI3K/AKT/mTOR, Bcl-2/Bax and caspase-3/cleaved caspase-3 signaling pathways. *Drug Des Devel Ther*. 2019; 13: 1889-1900.
- Wang YY, Lin SY, Chen WY, Liao SL, Wu CC, Pan PH, Chou ST, Chen CJ. *Glechoma hederacea* extracts attenuate cholestatic liver injury in a bile duct-ligated rat

- model. *J Ethnopharmacol.* 2017; 204: 58-66.
- Wei J, Wang B, Wang H, Meng L, Zhao Q, Li X, Xin Y, Jiang X Radiation-Induced Normal Tissue Damage: Oxidative Stress and Epigenetic Mechanisms. *Oxid Med Cell Longev.* 2019; 2019: 3010342.
- Weiskirchen R, Weiskirchen S, Tacke F. Recent advances in understanding liver fibrosis: bridging basic science and individualized treatment concepts. Version 1. *F1000 Res.* 2018; 7: F1000 Faculty Rev-921.
- Woolbright BL. Inflammation: Cause or consequence of chronic cholestatic liver injury. *Food Chem Toxicol.* 2020; 137: 111133.
- Xu R, Zhang Z, Wang F. Liver fibrosis: Mechanisms of immune-mediated liver injury. *Cell Mol Immunol.* 2012; 9(4): 296-301.
- Yada K, Ishibashi H, Mori H, Morine Y, Zhu C, Feng R, Kono T, Shimada M. The Kampo medicine "Daikenchuto (TU-100)" prevents bacterial translocation and hepatic fibrosis in a rat model of biliary atresia. *Surgery.* 2016; 159(6): 1600-1611.
- Yang MC, Wang CJ, Liao PC, Yen CJ, Shan YS. Hepatic stellate cells secretes type I collagen to trigger epithelial mesenchymal transition of hepatoma cells. *Am J Cancer Res.* 2014; 4(6): 751-63.
- Yang Y, Chen B, Chen Y, Zu B, Yi B, Lu K. A comparison of two common bile duct ligation methods to establish hepatopulmonary syndrome animal models. *Lab Anim.* 2015; 49(1): 71-9.
- Yanguas SC, Cogliati B, Willebrords J, Maes M, Colle I, Bossche B, Oliveira CPMS, Andraus W, Alves VAF, Leclercq I, Vinken M. Experimental models of liver fibrosis. *Arch Toxicol.* 2016; 90(5): 1025-1048.
- Yıldız L, Başkan KS, Tütem E, Apak R. Combined HPLC-CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay of parsley, celery leaves, and nettle. *Talanta.* 2008; 77 (1): 304-13.
- Ying HZ, Chen Q, Zhang WY, Zhang HH, Ma Y, Zhang SZ, Fang J, Yu CH. PDGF signaling pathway in hepatic fibrosis pathogenesis and therapeutics (Review). *Mol Med Rep.* 2017; 16(6): 7879-7889.

Yoshida S, Ikenaga N, Liu SB, Peng ZW, Chung J, Sverdlov DY, Miyamoto M, Kim YO, Ogawa S, Arch RH, Schuppan D, Popov Y. Extrahepatic platelet-derived growth factor- β , delivered by platelets, promotes activation of hepatic stellate cells and biliary fibrosis in mice. *Gastroenterology*. 2014; 147(6): 1378-92.

Younus H. Therapeutic Potentials of Superoxide Dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018; 12(3): 88-93.

Zamora R, Vodovotz Y, Billiar TR. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol Med*. 2000; 6(5): 347-73.

Zhang C, Wang N, Xu Y, Tan HY, Li S, Feng Y. Molecular Mechanisms Involved in Oxidative Stress-Associated Liver Injury Induced by Chinese Herbal Medicine: An Experimental Evidence-Based Literature Review and Network Pharmacology Study. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(9): 2745.

Zhangdi HJ, Su SB, Wang F, Liang ZY, Yan YD, Qin SY, Jiang HX. Crosstalk network among multiple inflammatory mediators in liver fibrosis. *World J Gastroenterol*. 2019; 25(33): 4835-4849.

Zhong Z, Froh M, Lehnert M, Schoonhoven R, Yang L, Lind H, Lemasters JJ, Thurman RG. Polyphenols from *Camellia sinensis* attenuate experimental cholestasis-induced liver fibrosis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003; 285(5): G1004-13.

Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(23): 7312-24.

Zhu SY, Dong Y, Tu J, Zhou Y, Zhou XH, Xu B. *Silybum marianum* oil attenuates oxidative stress and ameliorates mitochondrial dysfunction in mice treated with D-galactose. *Pharmacogn Mag*. 2014; 10(Suppl 1): S92-9.

Zohary D, Hopf M. Domestication of plants in the old world. Oxford: Oxford University Press. 2000; 122.

Zuo L, Zhou T, Pannell BK, Ziegler AC, Best TM. Biological and physiological role of reactive oxygen species - the good, the bad and the ugly. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015; 214(3): 329-48.