

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Sıçanlarda CCl₄ ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında *Rheum Ribes L.* (Işkın), Kuersetin ve Resveratrol Tedavilerinin Sitoprotektif Etkisi

Cytoprotective Effect of *Rheum Ribes L.*, Quercetin And Resveratrol Treatments On CCl₄ Induced Liver Damage in Rats

Sevgi ÖZTAŞ^{1*}, Sema KAPTANOĞLU², Gökhan OTO³

¹ Hakkâri Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Hakkâri, TÜRKİYE.

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokul, Van, TÜRKİYE.

³ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D. Van, TÜRKİYE

* Sorumlu yazar: Sevgi ÖZTAŞ; E-mail: sevgiyukse@hakkari.edu.tr

ÖZET

Amaç: Karaciğer, fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarından dolayı toksik maddelere en fazla maruz kalan organlardan birisidir. Karaciğer hasarında serbest radikallerin rolü büyüktür ve antioksidan maddelerin koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Günümüzde akut ve kronik karaciğer hasarını önlemek amacıyla birçok farmakolojik ajan denenmektedir. Bu amaçla bu çalışmada CCl₄'ün sıçan karaciğerinde yaptığı akut karaciğer hasarında sitoprotektif etkileri bilinen resveratrol, kuersetin ve sitoprotektif etkilerinin araştırılması için *Rheum ribes L.* (ışkın) uygulandı.

Materyal ve Metot: Gruplarda CCl₄ (karbon tetraklorür) 1ml/kg/i.p. olarak zeytinyağında 1:1 oranında karıştırılıp 7. gün tek doz uygulanırken; resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes L.* kökü 100 mg/kg oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı. 1. grup: kontrol grubu olarak ayrıldı, 2. grup: çözücü %10'luk DMSO (dimetilsülfoksit) grubu, 3. grup: çözücü zeytinyağı grubu, 4. grup: CCl₄ grubu, 5. grup: *Rheum ribes L.* kökü su ekstraktı, 6. grup: resveratrol, 7. grup: kuersetin, 8. grup: CCl₄ + *Rheum ribes L.* kökü, 9. grup CCl₄ + resveratrol ve 10. grup: CCl₄ + kuersetin şeklinde oluşturuldu. 8. gün sıçanlar sakrifiye edilerek kan ve doku numuneleri alındı.

Bulgular: Histopatolojik bulgular incelendiğinde CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer hasarında resveratrol ve kuersetin sitoprotektif etkiler gösterirken; *Rheum ribes L.*'nin sitoprotektif etkisinin daha zayıf olduğu belirlendi. Biyokimyasal analiz sonuçlarına göre ise ALT ve AST enzim düzeyleri CCl₄ ve CCl₄ ile birlikte tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.001) artış gösterirken; sadece CCl₄ uygulanan gruba göre ise tedavi gruplarında anlamlı azalmalar (p<0.001) gösterdi.

Sonuç: Tedavi grupları (CCl₄ + *Rheum ribes L.*, CCl₄ + resveratrol, CCl₄ + kuersetin) arasında histopatolojik değerlendirmeler neticesinde resveratrolün daha etkili olduğu gözlemlenirken; biyokimyasal analizlerde ise *Rheum ribes L.*'nin daha koruyucu etkiler gösterdiği belirlendi.

Ahtar Kelimeler: CCl₄, Kuersetin, Resveratrol, *Rheum ribes L.*, Siroz.

ABSTRACT

Objective: The liver is one of the most exposed organs of toxic substances due to its physiological and biochemical functions. The role of free radicals in liver damage is great and is known to be a protective effect of antioxidant substances. Today, many pharmacological agents have been tried to prevent acute and chronic liver damage. For this purpose, in this study, to investigate the cytoprotective effects of resveratrol, quercetin and *Rheum ribes L.*, which are known to have cytoprotective effects in acute liver damage caused by CCl₄ in rat liver.

Material and Method: A single dose of CCl₄ was applied in groups 1 ml / kg / i.p. in olive oil and 1: 1 in 7 days; Resveratrol, quercetin and *Rheum ribes L.* roots were administered at 100 mg / kg for 7 days. 1st group control, 2nd group DMSO, 3rd group olive oil, 4th group CCl₄, 5th group *Rheum ribes L.* water extract, 6th group resveratrol, 7th group quercetin, 8th group CCl₄+ *Rheum ribes L.* 9th group CCl₄+ resveratrol, 10th group CCl₄+ quercetin. On 8th day the rats were sacrificed and blood and tissue samples were taken.

Results: When the histopathological findings are examined, resveratrol and quercetin show cytoprotective effects in liver damage caused by CCl₄; It was determined that the cytoprotective effect of *Rheum ribes L.*, was weaker. According to the results of biochemical analysis, ALT and AST enzyme levels increased significantly (p<0.001) in the treatment groups with CCl₄ and CCl₄ compared to the control group; showed significant reductions in the treatment groups (p<0.001) compared to the group in which only CCl₄ was administered.

Conclusion: While it was observed that resveratrol was more effective as a result of histopathological evaluations among the treatment groups (CCl₄ + *Rheum ribes L.*, CCl₄ +resveratrol, CCl₄ +quercetin); In biochemical analyzes, it was determined that *Rheum ribes L.*, showed more protective effects.

Keywords: CCl₄, Quercetin, Resveratrol, *Rheum ribes L.*, Cirrhosis.

Atf Yapmak İçin: Öztaş S, Kaptanoğlu S, Oto G. Sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında *Rheum ribes L.* (Işkın), kuersetin ve resveratrol tedavilerinin sitoprotektif etkisi. *Van Sag Bil Derg* 2022, 15(1) 60-68.

<https://doi.org/10.52976/van-saglik.1034045>.

Geliş Zamanı: 08/12/2021

Kabul Zamanı: 01/02/2022

Basilama Zamanı: 30/04/2022

GİRİŞ

Karaciğer, fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarından dolayı toksik maddelere en fazla maruz kalan organlardan birisidir. Bu sebeple karaciğer bozuklukları çeşitli ve ciddi olabilecek sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Kumar ve ark., 2005).

Deneyisel karaciğer hasarı oluşturmada birçok toksik ajan kullanılmaktadır. Uygulanan yöntemlere göre karaciğerde akut veya kronik hasarlar oluşabilir. Deneyisel karaciğer hasarı oluşturmada CCl₄ kullanılan kimyasallardan biridir (Şahin ve ark., 2003). Karbon tetraklorürün (CCl₄) toksik etkisini, triklorometil (CCl₃) ve triklorometilperoksil (CCl₃O₂) serbest radikallerine dönüşümü sonrası başlayan lipid peroksidasyonu ile gelişen oksidatif stres olarak gösterdiği bildirilmektedir (Emek, 2014). Serbest radikal metabolitleri, poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatır ya da kovalent olarak protein ve yağ asitlerine bağlanarak hücre membranının bozulmasına, bunun sonucunda da karaciğer hasarına neden olurlar (Muriel ve ark., 2001).

Karaciğer için koruyucu maddelerin kullanılması, doku hasarını engelleme ve morbidite/mortalite oranlarının azalmasında etkili olabilmekte ve tedavide yeni alternatifler oluşturabilmektedir (Vurmaz, 2005; Bahşi ve ark., 2009).

Resveratrol (3, 4, 5-trihidroksistilben) kiraz, yer fıstığı, çilek, üzüm, gibi meyvelerde fazla miktarda bulunan, polifenol yapısında doğal bir antioksidan maddedir (De la Lastra ve ark., 2007). Güçlü bir antioksidan olup, reaktif serbest radikalleri tutarak ve metal şelasyonu yaparak oksidatif hasarı önlemektedir (Dernek ve ark., 2004). Resveratrolün sağlık üzerine olan etkileri araştırıldığında; anti-kanser aktivite (Ito ve ark., 2003), kardiyoprotektif etki (Hung ve ark., 2000), triaçilgliserol düzeyini düşürdüğü ve karaciğeri lipid peroksidasyonundan koruduğu (Kuhnle ve ark., 2000), bildirilmektedir.

Kuersetin bitkilerin en fazla içerdiği flavonoid olup, serbest radikallerin temizlenmesi açısından yüksek antioksidan özelliğe sahiptir (Pietta ve ark., 2000).

Kuersetin, diğer flavonoid unsurların yapı taşlarındandır. Kuersetinin kardiyoprotektif etki yanında, kanser risk oranını azaltıcı, anti inflamatuar ve anti allerjik etkileri bulunmaktadır (Erkoç ve ark., 2003).

Rheum ribes L. (ışkın), Anadolu ve Asya'nın çeşitli ülkelerinde gövdesi, yaprakları ve sapları taze ya da pişirilmiş olarak tüketilmektedir. Işıknın taze toplandığı zaman dış kabuğu soyularak yenilen gövde kısmı, bölgemizde iştah açıcı ve sindirimi kolaylaştırıcı olarak (Baytop 1999), kök kısımları ise antidiyabetik (Fallah-Huseini ve ark., 2008) ve anti-helmintik (Baytop 1999) olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ışkınin mide ağrısı, kusma, iştah artırma gibi mide rahatsızlıklarında da olumlu etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Sindhu ve ark., 2010).

Bu çalışma ile CCl₄'ün sıçan karaciğerinde yaptığı akut karaciğer hasarında resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes* L. (ışkın)'nin sitoprotektif etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada hayvan materyali olarak 200-220 gr canlı ağırlığa 3 aylık sahip 70 adet Wistar albino ırkı dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneyisel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde; 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan, 22 ± 2 °C'ye ayarlı oda ısısında, standart pelet yem ile beslendi. Sıçanlar, yem ve su alımı serbest olacak şekilde standart plastik kafeslerde barındırıldı. Çalışmaya başlamadan önce Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan öncelikle çalışma onayı (30.06.2016 tarih ve 2016/06 sayılı karar); çalışma tamamlandıktan sonra ise kesin sonuç onayı (24.08.2017 tarih ve 2017/08 sayılı karar) alındı.

Kullanılan kimyasallar

CCl₄ (Sigma-Aldrich, 289116), Ketamin hidroklorür (Ketasol, %10, 100 mg/1ml, enjektabl solüsyon), Resveratrol (Sigma, R5010), Kuersetin (Sigma, Q4951), DMSO (Sigma, D2650).

Kullanılan bitki materyali

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalini oluşturan *Rheum ribes* L. (Işkın kökü) bitkisi, 2017 yılı Mayıs-Haziran aylarında Van bölgesinden toplandı. *Rheum ribes* L. kökü, Van YYÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumunda 164112 nolu kayıt numarası ile gerekli identifikasyon işlemleri yapılarak, örnek materyal kayıt altına alındı.

Materyallerin Hazırlanması

Rheum ribes L. (Işkın) hazırlanması

Bu çalışmada *Rheum ribes* L. kökleri Eddouks ve arkadaşlarının (2005) çalışmalarında kullandıkları dekoksasyon yöntemi ile hazırlanarak *Rheum ribes* L. ve CCl₄ + *Rheum ribes* L. gruplarına 100mg/kg (Zhao ve ark., 2004) olacak şekilde 7 gün boyunca oral gavaj yolu ile uygulandı.

Resveratrolün ve Kuersetinin hazırlanması

Resveratrol (Sigma, R5010), günlük olarak hazırlanarak 100 mg/kg (Mora ve ark., 2010), olacak şekilde Resveratrol ve CCl₄ + Resveratrol gruplarına çalışma süresince oral gavaj yolu ile uygulandı.

Kuersetin (Sigma, Q4951) günlük olarak hazırlanarak 100 mg/kg (Uylaş, 2015), olacak şekilde Kuersetin ve CCl₄ + Kuersetin gruplarına çalışma süresince oral gavaj yolu ile uygulandı.

Dimetil sülfoksit (DMSO)'ün ve CCl₄ hazırlanması

DMSO (Sigma, D2650) günlük olarak hazırlanarak, 0,3 ml/kg olacak şekilde DMSO grubuna oral gavaj yolu ile çalışma süresince uygulandı.

CCl₄ (Sigma-Aldrich, 289116), zeytinyağı ile 1:1 oranında karıştırılarak 1 ml/kg (Koçak ve ark., 2019) olacak şekilde 7. gün, CCl₄, CCl₄ + *Rheum ribes* L., CCl₄ + Resveratrol ve CCl₄ + Kuersetin gruplarına tek doz olacak şekilde intraperitoneal olarak uygulandı.

Deney gruplarının oluşturulması ve deney planı

Hayvanlar her grupta 7 adet olacak şekilde 10 farklı gruba ayrıldı. 1. Grup: Kontrol grubu olarak ayrıldı, 2. Grup: DMSO (çözücü) grubu olup 0,3 ml oral

gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 3. Grup: Zeytinyağı (CCl₄ çözücüsü) grubu 1ml/kg ip olarak 7. gün tek doz uygulandı, 4. Grup: CCl₄, 1ml/kg ip olarak zeytinyağında 1:1 oranında 7. gün tek doz uygulandı, 5. Grup: *Rheum ribes* L. kökü su ekstraktı, 100 mg/kg oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 6. Grup: Resveratrol, 100mg/kg, oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 7. Grup: Kuersetin, 100 mg/kg, oral gavaj yolla 7 gün boyunca uygulandı, 8. Grup: CCl₄ + *Rheum ribes* L. kökü su ekstraktı, 9. Grup: CCl₄ + Resveratrol ve 10. Grup: CCl₄ + Kuersetin diğer gruplardaki dozlarda uygulandı.

CCl₄ uygulamasından 24 saat sonra (8. Gün) ratlar anestezisi altında intrakardiyak kan alma yöntemiyle sakrifiye edildi. Alınan kanlar, biyokimya analizleri için kullanıldı. Daha sonra ratlardan alınan karaciğer dokularının bir kısmı %10'luk formalin içinde muhafaza edilerek biyopsileri incelendi.

Histopatolojik analizler

Alınan biyopsi örnekleri normal histopatolojik değerlendirme için Hemotoksilen-Eozin (H&E), karaciğer fibrozisini değerlendirmek için Massontrikrom ve karaciğer çatısını göstermesi için de Retikülin boyaları ile boyandı. Histopatolojik değerlendirmede rastgele on büyük büyütme alanı (x400) seçilecek ve bir büyük büyütme alanındaki ortalama balon dejenerasyonu, apoptotik hepatosit ve mitoz sayıldı. Ayrıca karaciğerde fibrozis, köprüleşme nekrozu ve yağlanma olup olmadığına bakıldı. Işık mikroskopunda incelenen kesitler lezyonun özelliğine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal analizler

Deney sonunda 15 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin (Ergul Erkeç ve ark., 2018) anestezisi altında sıçanlardan intrakardiyak şekilde kan alındı. Kan numuneleri jelli biyokimya tüplerine alındı, 30 dakika bekletilip 3500 rpm'de santrifüj edilerek serum ayrıldı. İncelenecekleri zamana kadar -80°C de saklandı. Bu çalışmada sıçanlardan alınan serum örneklerinde bazı biyokimyasal parametreler (ALT, AST, ALP, Total Protein, Albumin, Kreatinin, Glikoz)

otoanalizör cihazında ölçülerek sonuçlar değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

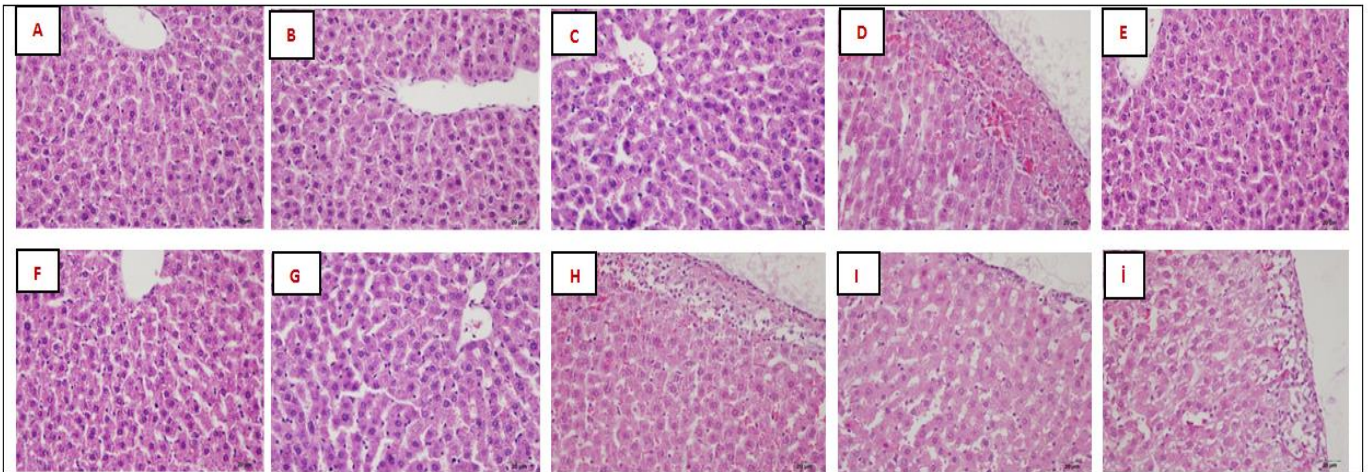
Bu çalışmada gerekli analizler SPSS istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. Ölçülen parametreler bakımından gruplar ve denetimler arası farklılığın karşılaştırılmasında varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Gruplar ve grup içi farklılığın önemli bulunduğu durumlarda da Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırmalar yapıldı. Bunlar dışında çalışmada kullanılan parametrelere ilişkin tanıtıcı istatistikler hesaplandı.

BULGULAR

Histopatolojik bulgular

Kontrol, DMSO ve Zeytinyağı gruplarındaki ratların karaciğerleri incelendiğinde normal histolojik yapıda (-) olduğu tespit edildi (Şekil A, B ve C). CCl₄ grubunda ratların karaciğerlerinde ise portal bölgede hidropik dejenerasyon, hepatositlerde yağlı

dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, intrahepatik kolestazis, kupffer hücrelerinde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. Özellikle karaciğerin serozasına yakın olan hepatositlerde şiddetli (+++) nekrotik hepatitise ve hemorajilere rastlandı (Şekil D). *Rheum ribes* L. su ekstraktı grubu, Resveratrol grubu ve kuersetin grubundaki ratların karaciğerleri incelendiğinde normal histolojik görünümde (-) olduğu belirlendi (Şekil E, F ve G). CCl₄ + *Rheum ribes* L. grubunda; karaciğerin santral bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinuzoidlerde dilatasyon ve ayrıca karaciğerlerin serozaya yakın bölgede şiddetli (+++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil H). CCl₄ + Resveratrol grubunda ise karaciğerlerin serozaya yakın bölgede çok az sayıda (+) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil I). CCl₄ + kuersetin grubunda karaciğerlerin serozaya yakın bölgede belirgin miktarda (++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı (Şekil İ).



Şekil 1: Karaciğerin H&E boyamaları, A: Kontrol grubu, kontrol sıçanlarının karaciğerleri normal histolojik yapıdaydı, H & E, Bar: 20 mµ B: DMSO grubu, DMSO sıçanlarının karaciğeri normal histolojik yapıda, H & E, Bar: 20 mµ, C: Zeytinyağı grubu, Zeytinyağı sıçanlarının karaciğerinde normal histolojik yapı, H & E, Bar: 20 mµ, D: CCl₄ grubu, CCl₄ grubunda portal bölgede hidropik dejenerasyon, hepatositlerde yağ dejenerasyonu, pıhtılaşma nekrozu, intrahepatikkolestaz, kupffer hücrelerde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonu sıçanlarda gözlemlendi. Hepatositlerde şiddetli (+++) nekrotik hepatit ve hemorajik olaylar özellikle H & E, Bar: 20 mµ, E: *Rheum ribes* L. grubu, *Rheum ribes* L. su ekstraktı grubu sıçanlarında normal histolojik yapıya sahipti, H & E, Bar: 20 mµ, F: Resveratrol grubu, Resveratrol grubu sıçanların normal histolojik yapısı karaciğer, H & E, Bar: 20 mµ G: Kuersetin grubu, kuersetin grubunun karaciğerleri normal histolojik yapıdaydı, H & E, Bar: 20 mµ, H: CCl₄ + *Rheum ribes* L. grubu, karaciğerin orta bölgesinde hepatositin hidrofobik

dejenerasyonu, sinüsoidlerin genişlemesi ve serözür yüzeyi çevresinde şiddetli (+++) dejeneratif ve nekrotik hepatositlerin Karaciğer, H & E, Bar: 20 mµ, I: CCl₄ + Resveratrol grubu, grupta çok az sayıda (+) dejeneratif ve nekrotik hepatositler, H & E, Bar: 20 mµ, İ: CCl₄ + kuersetin grubunda karaciğerlerin serözaya yakın bölgede belirgin miktarda (++) dejeneratif ve nekrotik hepatositler, H & E, Bar: 20 mµ.

Sıçanlardan alınan kanlardan elde edilen serum numunelerinde otoanalizör cihazı ile yapılan kan

biyokimyasal parametre analizlerinin sonuçları Tablo 1.de sunulmaktadır.

Tablo 1. Serum biyokimyasal sonuç tablosu

	AST	ALT	ALP	Albumin	T. Protein	Kreatinin	Glikoz
Kontrol grubu	83,33±2,51 a, a1,a2,a3	26,17±0,40 a, a1,a2,a3	181,5±4,17	3,23±0,06	6,2±0,11	0,61±0,07	236,2±11,1 a, b,c
DMSO grubu	88,17±1,96 a4,a5,a6,a7	25,17±0,79 a4,a5,a6,a7,b	188,3±4,58	3,31±0,05 c	6,48±0,11	0,50±0,01	202,7±5,60
Zeytinyağı grubu	84,5±2,28 a8,a9,a10,a11	27,50±0,76 a8,a9,a10,a11	185,5±4,05	3,28±0,05	6,42±0,13	0,52±0,02	232,2±6,35 a1,b1
CCl₄ grubu	237,3±12,71 a, a4,a5,a6,a8,a12, a13,a14,a15,a16,c	43,17±1,52 a, a4,a8,a12,a13, a14,a15,c	195,2±4,39 c	3,127±0,11	6,07±0,18 c	0,50±0,003	175,0±6,00 b, b1,b2
Rheum ribes L. grubu	99,33±3,31 a4,a12,a17,a18,a19	29,00±1,10 a12,a16,a17,c1	185,7±5,40	3,278±0,15	6,68±0,21 c1,c2	0,51±0,01	188,8±8,48 c
Resveratrol grubu	91,83±1,82 a5,a13,a20,a21,a22	30,83±1,05 a13,a18,a19,b	182,3±4,44 a, b	182,3±4,44 a, b	6,80±0,18 b, b1,c	0,51±0,03	208,3±22,37 c1
Kuersetin grubu	93,67±1,71 a6,a14,a23,a24,a25	29,33±1,02 a14,a20,a21,c2	183,2±5,08 c1	3,323±0,08	6,52±0,18	0,50±0,01	192,5±4,23
CCl₄+ R. ribes L. grubu	208,5±7,42 a1,a5,a9,a17,a20,a23,c	34,33±0,92 a1,a5,a9,a15,b1,c1,c2	173,2±3,16 b, c	2,957±0,05	5,87±0,14 b, c1	0,59±0,02	231,7±3,22 a2,b2
CCl₄+Resv. Grubu	183,8±5,34 a2,a6,a10,a15,a18,a21,a24	37,83±0,54 a2,a6,a10,a16,a18,a20,c	192,2±4,21 a, c1	2,87±0,07 c	5,85±0,17 b1,c2	0,54±0,01	218,5±5,74 b3
CCl₄+Kuer. Grubu	190,5±4,02 a3,a7,a11,a16, a19,a22,a25	40,00±1,44 a3,a7,a11,a17, a19,a21,b1	186,2±4,6	3,205±0,09	6,52±0,12	0,52±0,02	161,3±5,58 a, a1,a2,b3,c1

a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05

Benzer harfleri gösterenler o harf değerinde anlamlılık göstermektedir.

Serum AST Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre AST değeri yaklaşık üç kat artarken, CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes L.*, resveratrol ve kuersetin uygulamalarının AST düzeyini düşürdüğü belirlendi. (a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05)

Serum ALT Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre ALT düzeylerinin ise yaklaşık iki kat

artarken; CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes L.* ve resveratrol uygulamalarının ALT düzeyini azalttığı görüldü. (a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05)

Serum ALP Düzeyleri: CCl₄ grubunda kontrol grubuna göre CCl₄ uygulamaları serum ALP düzeylerinde artışa neden olurken ve CCl₄ ile birlikte

Rheum ribes L. uygulamasının ALP düzeyini azalttığı belirlendi. (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$)

Serum Albumin Düzeyleri: CCl_4 ile oluşturulan karaciğer hasarında serum albümin düzeylerinde azalma olduğu belirlendi ve CCl_4 'ün yalnız veya tedavi grupları ile uygulanmasında gruplar arası anlamlı bir değişiklik bulunamadı (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

Serum Total Protein Düzeyleri: Kontrol grubuna göre CCl_4 uygulanan gruplarda total protein düzeyinin etkilenmediği; ancak sadece *Rheum ribes* L., resveratrol veya kuersetinin uygulandığı gruplarda daha yüksek bir serum total protein düzeyi belirlendi (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

Serum Kreatinin Düzeyleri: Sıçanlardan alınan serum numunelerinde yapılan kreatinin analizleri sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunamadı ($p>0.05$).

Serum Glikoz Düzeyleri: CCl_4 , CCl_4 'ün kan glikoz düzeyini azaltarak enerji metabolizmasını etkileyebileceğini; *Rheum ribes* L.'nin ise yalnız başına kan glikoz düzeyini düşürmesine karşılık CCl_4 ile birlikte uygulandığında enerji metabolizması için düzenleyici olabileceğini düşündürmektedir (a: $p<0.001$, b: $p<0.01$, c: $p<0.05$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada yaygın bir hastalık olduğu halde halen etkili bir tedavisi bulunamayan karaciğer sirozunun deneysel sıçan modelinde, antioksidan etkileri olduğu bilinen resveratrol ve kuersetin tedavilerinin yanında, farklı hastalıkların tedavisinde olumlu etkileri olduğu bildirilen *Rheum ribes* L.'nin sitoprotektif etkilerinin karşılaştırılması hedeflendi.

Rheum ribes L., halk arasında yaygın bir şekilde kullanılmakta ve birçok açıdan faydalı olduğu bilinmektedir. Yapılan literatür taramasında *Rheum ribes* L.'nin içeriği ve farklı hastalıklarda terapötik etkileri incelenmesine rağmen; karaciğer

nekrozunda etkilerine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır.

CCl_4 , bilinen bir toksik ajandır ve toksik etkisi serbest radikal üretimi ile gerçekleşmektedir. Organizma, serbest radikallere karşı enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle kendini müdafa ettiği bildirilmektedir (Emek, 2014). CCl_4 'ün karaciğerde CCl_4 'ün toksik metabolik süreci sırasında sitokrom P450 tarafından iki aktif mikrozomal radikal veya peroksit (CCl_3 veya CCl_3OO) ürettiği bildirilmektedir (Cemek ve ark., 2010). Bu maddeler, karaciğer hücre zarları ve hücre altı yapıları ile lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve hücre zarı yapısının bütünlüğünü bozmakta, bu da sonunda karaciğer hücresi ölümüne yol açabilmektedir (Lian ve ark., 2010).

Singh ve ark. (2003) ile Göktepe ve Günay (2014) tarafından yapılan deneysel çalışmalarda, kuersetinin antioksidan etkili olduğu; bu etkilerini MDA düzeyini azaltarak ve antioksidan enzim aktivitelerini ise artırarak gösterdiği bildirilmektedir. Kuersetin, süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlemektedir, lipid peroksidasyonunu engellemektedir ve lipid peroksil radikallerini süpürmektedir. Kuersetinin antioksidan enzim aktivitesini artırması ile CCl_4 'ün sebep olduğu karaciğer fibrozu üzerine faydalı etkiler gösterdiği farklı çalışmalarda gösterilmektedir (Kanter ve ark., 2003; Khaki, 2010; Abdallah 2011; Abarikwu ve ark., 2012; Türk ve ark., 2013).

Rheum ribes L.'nin fenolik bileşen profili ve içerdiği flavanoid yapıları bu bitkiyi potansiyel olarak antioksidan kaynağı yapmaktadır. (Naqishbandi, 2009). Yıldırım (2015), tarafından yapılan çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlara uygulanan *Rheum ribes* L., ekstraktının karaciğer ve böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada CCl_4 grubunda ratların karaciğerlerinde portal bölgede hidrofik dejenerasyon, hepatositlerde yağlı dejenerasyon, koagülasyon nekrozu, intrahepatik kolestazis, kupffer hücrelerinde hiperplazi, mononükleer hücre infiltrasyonuna

rastlandı. Resveratrol, kuersetin ve *Rheum ribes* L., ekstraktının yalnız uygulandığı gruplarda normal hücre histolojik yapısı belirlendi. Bu sonuç üç maddenin de karaciğer için toksik olmadığını göstermektedir. CCl₄ ile birlikte *Rheum ribes* L., uygulandığı da karaciğerin santral bölgesinde hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinuzoidlerde dilatasyon ve ayrıca karaciğerlerin serozaya yakın bölgesinde şiddetli dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı. CCl₄ ile birlikte kuersetin uygulandığında karaciğerlerin serozaya yakın bölgede belirgin miktarda dejeneratif ve nekrotik hepatositlere rastlandı. CCl₄ ile birlikte resveratrol uygulandığında ise karaciğerlerin serozaya yakın bölgesinde dejeneratif ve nekrotik hepatositlere daha az rastlanıldığı belirlendi. Histopatolojik sonuçlar CCl₄ tarafından oluşturulan karaciğer hasarında resveratrolün kuersetin ve *Rheum ribes* L.'den daha fazla sitoprotektif etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Akhtar ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada farklı bir *Rheum* türü olan *Rheum emodi* köklerinin, parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında yükselen serum ALT, AST ve ALP enzim düzeylerini azalttığı bildirilmektedir. Sonuçlarımızın literatürlerle uyumluluk gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada CCl₄ ile oluşturulan akut karaciğer hasarında karaciğer enzim seviyelerinin önemli oranda arttığı; serum ALT, AST ve ALP enzim düzeylerini *Rheum ribes* L.'nin, resveratrol ve kuersetinden daha fazla düşürdüğü belirlendi. Bu sonuç, akut karaciğer hasarında *Rheum ribes* L.'nin karaciğeri resveratrol ve kuersetinden daha iyi koruyabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Bu çalışmada CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında gerek toksik madde uygulanan grupta gerekse tedavi gruplarında serum kreatinin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik bulunamadı. Bu sonuçların uyumluluk gösterdiği (Abdel-Salam ve ark., 2007; Althnaian ve ark., 2013) çeliştiği çalışmalar bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç, CCl₄ veya tedavi ajanlarının böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilemediği şeklinde yorumlanmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre; CCl₄ karaciğer hasarına neden olurken, *Rheum ribes* L., resveratrol ve kuersetin bu hasarı azaltmıştır. Tedavi grupları arasında histopatolojik değerlendirmeler sonucunda resveratrolün koruyucu etkinliği *Rheum ribes* L. ve kuersetinden daha fazla olduğu belirlenirken; biyokimyasal analizlerde ise *Rheum ribes* L.'nin daha fazla etkili olduğu görülmektedir. İleriki dönemlerde, karaciğer hasarında *Rheum ribes* L., resveratrol ve kuersetinin moleküler etki mekanizmalarının aydınlatılması yanında *Rheum ribes* L.'den etken madde izolasyonuna giderek daha spesifik tedavi dozu ve yöntemleri belirlenmeye çalışılması hedeflenmektedir.

Rheum Ribes L. (ışkın), sadece ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesinde kullanılmakta diğer bölgelerde çok iyi tanınmamakta ve kullanılmamaktadır. Bu nedenle iyi bir terapötik bitki olduğu birçok çalışmayla bildirilen ışkının, ülke çapında tanıtımının yapılmasına ve daha birçok etkilerinin keşfedilmesi için daha ileri düzeyde bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Finansal Kaynak: Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2016-5476 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Çıkar çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları: Bu makale 1.yazarın yüksek lisans tezinden özetlenerek hazırlanmıştır

KAYNAKLAR

- Abarikwu SO, Pant AB, Farombi EO. (2012). The protective effects of quercetin on the cytotoxicity of atrazine on rat Sertoli-germcellco-culture. *International Journal of Andrology*, 35(4), 590-600.
- Abdallah F, Fetoui H, ZribiN, Fakhfakh F, Keskes L. (2011). Quercetinattenuateslambdacyhalothrin-inducedreproductivetoxicity in male rats. *Environ Toxicol*, 28(12), 673-680.
- Abdel-salam OM, Sleem AA, Morsy FA.(2007). Effect of biphenyl dimethyl-di carboxylate administration combined with silymarin in the CCl₄ model

- of liver fibrosis in rats. *Scientific World Journal*, 7,1242-1255.
- Akhtar MS, M Amin, Maqsood A, Alamgeer.(2009). Hepatoprotective Effect of *Rheum emodi* Roots (Revandchini) and Akseer-e-Jigar Against Paracetamol induced Hepatotoxicity in Rats, *Ethnobotanical Leaflets*, 13, 310-315.
- Althnaian T, Albokhadaim I, El-Bahr SM. (2013). Biochemical and histopathological study in rats in toxicated with carbon tetrachloride and treated with camel milk. *Springer Plus*, 2 (1), 57.
- Baytop T. (1999). Therapy with Medicinal Plants in Turkey. Istanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 319-320.
- Bahşi M, Yılmaz Ö, Tuzcu M. (2009). 7,12-Dmba uygulananyasıratlarınkaraciğerveböbrekdokularındakiyağasidibileşimine resveratrol veç-lipoik asidin etkilerinin incelenmesi. *Journal of New World Sciences Academy*, 4,2.
- Cemek M, Aymelek F, Buyukokuroglu ME, Karaca T, Buyukben A, Yılmaz F. (2010). Protective potential of Royal Jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2827-2832.
- De la Lastra, CA, Villegas I. (2007). Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1156-1160.
- Dernek S, Ikizler M, Erkasap N, Ergun B, Koken, T, Yılmaz K ve ark.(2004). Cardioprotection with resveratrol pretreatment: improved beneficial effects over standard treatment in rat hearts after global ischemia. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 38(4), 245-254.
- Eddouks M, Maghrani M, Zeggwagh NA, Michel JB. (2005). Study of the hypoglycemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 391-395.
- Emek H. (2014). Erişkin erkek sıçanlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan testis hasarı üzerine kuersetinin etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Ergul Erkeç O, Arihan O, Colcimen N, Kara M, Karatas E, Demir H, CetinRagbetli M. (2018). Effects of *Cichoriumintybus* on serum oxidativestress, liver and kidney volume, andcyclin B1 and Bcl-2 levels in the brains of rats with ethanol induced damage. *Cellular and Molecular Biology*, 64(7), 30-35.
- Erkoç Ş, Erkoç F, Keskin N. (2003). Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *Journal of Molecular Structure*, 631 (1-3), 141-146.
- Fallah Huseini H, Heshmat FM, AH., Jamshidi SHA, Alavi MA B.(2008).The efficacy of *Rheum ribes* L. stalk extract on lipid profile in hypercholesterolemic type II diabetic patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Journal of Medical Plants*, 7(27), 92-97.
- Göktepe M, Günay M. (2014). Quercetin uygulamasının egzersiz, serbest radikal ve antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkisi. *International Journal of Science Culture and Sport*, 2(1), 775-788.
- Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. (2000). Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovascular Research*, 47(3), 549-555.
- Ito T, Akao Y, Yi H, Ohguchi K, Matsumoto K, Tanaka T, et al. (2003). Antitumor effect of resveratrol oligomers against human cancer cell lines and the molecular mechanism of apoptosis induced by vaticanol. *Carcinogenesis*, 24 (9), 1489-1497.
- Kanter M, Merall, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, Uygan I. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioksidan enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *Journal of Veterinary*, 50(5), 264-268.
- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, MalekiNA, Khamnei HJ, AhmadiP. (2010). Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1285-1291.

- Koçak Y, Oto G, Yücel UM, Yaşar S, Arıhan O. (2019). Karbon tetraklorür ile oluşturulan doku hasarında *Allium schoenoprasum* L. uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda total antioksidan ve total oksidan düzeylerine etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12(3), 1-10.
- Kuhnle G, Spencer PE, Chowrimootoo G, Schroeter H, Debnam ES, Srai SKS. (2000). Rice-Evans C, Hahn U. resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochemical and Biophysical Communications*, 272, 212-217.
- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. (2005). Robbins and cotran pathological basis of disease. *Philadelphia US: Elsevier Saunders*, 20, 877-927.
- Lian LH, Wu YL, Song SZ, Wan Y, Xie WX, Li X. et al. (2010). Gentiana man-shurica Kitagawa reverses acute alcohol-induced liver steatosis through blocking sterol regulatory element-binding protein-1 maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 13013-13019.
- Mora J, Roy S, Muthyala P. (2010). Protective effect of resveratrol against carbon tetrachloride induced oxidative stress in rat liver. *Deccan Journal of Pharmacology*, 1(2), 1-11.
- Muriel P, Alba N, Perez-Alvarez et al. (2001). Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 30(2), 219-226.
- Naqishbandi AM, Josefsen K, Pedersen ME, Jager AK. (2009). Hypoglycemic activity of Iraqi *Rheum ribes* L. root extract. *Pharmaceutical Biology*, 47(5), 380-383.
- Pietta PG. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
- Sindhu RK, Kumar P, Kumar J, Kumar A, Arora S. (2010). Investigations into the anti-ulcer activity of *Rheum ribes* Linn. leaf extract. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 49(1), 7-13.
- Singh D, Chander V, Chopra K. (2008). The effect of quercetin, a bioflavonoid on ischemia/reperfusion induced renal injury in rats. *Archives of Medical Research*, 35(6), 484-494.
- Şahin A, Yener Z, Dağoğlu G, Dede S, Oto G, Alkan M. (2003). Karbontetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda Vitamin E + Selenyum ve *Nigella sativa* (çörekotu)'un karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. *Turk Journal of Veterinary*, 27(1), 141-152.
- Türk G, Çeribaşı S, Sönmez M, Çiftçi M, Yüce A, Güvenç M et al. (2013). Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbontetrachloride-induced sperm damages, lipidperoxidation, and testicular apoptosis. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1), 126-137.
- Uylaş M. (2015). Karaciğer İskemi ve reperfüzyonda Quercetin'in Koruyucu Etkisi. Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Vurmaz A. (2005). Etanol verilen ratlarda quercetinineritrosit glukoz -6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesi üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Yıldırım M. (2015). Diyabetik sıçanlarda ışın otunun (*Rheum ribes*) oksidatif stres üzerine etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Zhao YQ, Liu XH, Ito T, Qian JM. (2004). Protective effects of rhubarb on experimental severe acute pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 10(7), 1005-1009.