

RATLARDA KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN KRONİK KARACİĞER HASARI ÜZERİNE ZERDEÇAL (CURCUMA LONGA) VE MERYEMANA DİKENİNİN (SILYBUM MARIANUM) ETKİSİ*

THE EFFECTS OF CURCUMA LONGA AND SILYBUM MARIANUM ON CARBON TETRACHLORIDE INDUCED CHRONIC HEPATIC DAMAGE IN RATS

Ayhan ATASEVER¹, Oktay BARAN², Görkem EKEBAŞI*

¹ Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri

² Özel Sektör, Öğretmen, Kayseri,

ÖZ

Çalışmada karbon tetraklorür (CCl₄) ile ratlarda oluşturulan karaciğer hasarına karşı zerdeçal ve meryemana dikeninin lipid peroksidasyonu ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine koruyucu etkinliği amaçlandı.

Çalışmada Wistar albino 4 aylık, 60 adet ortalama 250 gr'lık rat kullanıldı. Kontrol grubuna tedavi uygulaması üç grup altında yapıldı. Birinci gruba haftada iki kere mısır yağı, V. gruba 100 mg/kg meryemana dikenini, VI. gruba 80 mg/kg zerdeçal 12 hafta her gün gavajla verildi. Deney grubuna haftada 2 kez 0,5 ml/kg CCl₄ intraperitoneal enjekte edildi. Tedavi gruplarında, tedavi 12 hafta, iki grup altında yapıldı. CCl₄+meryemana dikenini ve CCl₄+zerdeçal gruplarında sırasıyla CCl₄eneksiyonu eş zamanlı 100 mg/kg meryemana dikenini ve 80 mg/kg zerdeçal gavaj ile verildi. Deney sonunda karaciğerlerin histopatolojisi ve serum biyokimyasal parametreleri incelendi. Kontrol gruplarında karaciğerler normal doku yapısında gözlenirken, CCl₄ verilen Grup II'de hepatositlerde dejenerasyon ve yağlanma, remark kordonlarında bozulma, portal bölgede çoğunluğunu lenfosit mononükleer hücre infiltrasyonları, özellikle portal bölgede belirgin, parankime yayılmış bağ dokusu artışıyla ilgili pseudolobulasyon gözlemlendi. CCl₄+meryemana dikenini ve CCl₄+zerdeçal gruplarında Grup II'de kine benzer karaciğer lezyonlarına rastlanıldı. Kontrol, meryemana dikenini ve zerdeçal gruplarına göre, CCl₄ uygulanan Grup II, III ve IV serum alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), karaciğer malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) değerlerinde artış; yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve albümin değerlerinde düşüş görüldü. CCl₄ verilen Grup II'ye göre CCl₄+meryemana dikenini ve CCl₄+zerdeçal verilen grupların serum ve karaciğer MDA ve NO düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmedi. Kontrol, meryemana dikenini ve zerdeçal verilen grupların değerleri karşılaştırıldığında serum biyokimya değerlerinde anlamlı bir değişime gözlenmedi.

Oluşan karaciğer hasarının geri döndürülmesi amacıyla çalışmamızda kullanılan, zerdeçal ve meryemana dikenini uygulaması aynı maddelerin değişik dozlarla verilerek yapılacak yeni araştırmalar ve etkilerinin belirlenmesine ihtiyaç olduğu sonucunu çıkarmıştır.

Anahtar kelimeler: Karaciğer hasarı, karbon tetraklorür, meryemana dikenini, rat, zerdeçal.

*Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-11-3830 kodlu proje ile desteklenmiş ve yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Makale Geliş Tarihi : 11.08.2017

Makale Kabul Tarihi: 05.10.2017

ABSTRACT

This study aims to evaluate the protective efficacy of Curcuma longa and Silybum marianum on lipid peroxidation and some serum biochemical parameters in liver damage induced with carbon tetrachloride (CCl₄) in rats.

In the study, 60 4 month old Wistar albino rats weighing 250gr on average were used. Application of the treatment in the control groups were performed with three groups. The group I was administered corn oil twice for one week, group V was administered 100 mg/kg silymarin and group VI was administered 80 mg/kg turmeric for 12 weeks by oral gavage. In the experimental group, 0,5 ml/kg CCl₄ was injected intraperitoneally twice a week (Group II). The application of the treatment was performed in two groups for 12 weeks in the treatment groups. While the 100 mg/kg silymarin was given in the CCl₄+silymarin group by gavage (Group III), the 80 mg/kg turmeric was given in the CCl₄+turmeric group following of the injection of 0,5 ml/kg CCl₄ (Group IV). At the end of the study, all liver tissues were examined with both histopathological and serum biochemical parameters. While the normal tissue structure was observed in the control group in the histopathological examination of the experimental and control groups, it was shown that there were fatty degeneration in the hepatocytes, deterioration in the structure of remark cords, hepatocyte degeneration, mononuclear cell infiltration areas composed of majority lymphocytes in the portal area and parenchyma, especially at portal area increasing connective tissue spread to parenchyma due to formation of lobulation. The liver lesions were found in the CCl₄+silymarin and CCl₄+turmeric groups as in Group II. While serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), low density lipoprotein (LDL) levels, liver malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) were increased in the CCl₄-treated groups; the levels of high-density lipoprotein (HDL) and albumin values were decreased compared to the control group. When compared with the CCl₄-treated group, it was observed that there was no statistically significant difference in the serum levels of CCl₄+silymarin and CCl₄+turmeric groups. It was observed that the serum biochemistry parameters were not significant change in the silymarin and turmeric groups compared with control group.

In this study it has been concluded that there is a need for future studies in which different doses of silymarin and turmeric are used to reverse the liver damage and determine their efficacy.

Keywords: Carbon tetrachloride, curcuma longa, hepatotoxicity, rat, silybum marianum.

Corresponding Author: Prof. Dr. Ayhan ATASEVER,
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı,
Talas Bulvarı, 38039 Melikgazi, Kayseri.
E- posta: atasevera@erciyes.edu.tr
Telefon: 0352 207 66 66 /29925

GİRİŞ

Bitkiler 20. yüzyılın başlarında, daha ucuz ve daha kolay ulaşılabilir olmasının yanı sıra çok eski çağlardan beri uzun süre kullanılmalarından dolayı güvenilir ilaç kaynakları olmuşlardır (1). Bitkisel kaynaklı birçok ilaç, farklı kimyasal maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı, deneysel hayvan modellerinde, olası antioksidan ve hepatoprotektif etkileri nedeniyle araştırılmaktadır. Hepatotoksik kimyasallar genellikle, karaciğerde metabolik aktivasyon gerektirenler ve gerektirmeyenler olarak iki gruba ayrılırlar. CCl_4 , ilk grup hepatotoksinlerdendir (2). Günümüzde karaciğer sirozu veya fibrozisinin patogenezinin, lipid peroksidasyonunun sorumlu olduğu yaygın şekilde kabul görmektedir. CCl_4 'e bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir (3,4). Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilir. Oksidatif stres; kanser, yangı, genetik bozukluklar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmada önemli rol oynar (5,6). Oksidatif strese karşı endojen koruma, serbest radikalleri ve diğer reaktif türleri ortadan kaldıran enzimler ile gerçekleştirilir. Bunlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile düşük moleküler ağırlığa sahip ve ROS temizleyici özelliği olan glutatyon ve α -tokoferoldür (5-7).

Serbest radikal zincir reaksiyon oluşumunu engelleyerek lipid peroksidasyon sürecini yavaşlatan antioksidanlar son yıllarda önem kazanmıştır. Canlı sistemlerde antioksidan mekanizmaların çeşitliliği reaktif oksijen türleri ile savaşmada önemli rol oynar (6,8). Antioksidanlar aynı zamanda, SOD, CAT, GPx gibi enzimleri kodlayan gen ekspresyonunu arttırarak endojen savunma düzeyini arttırabilirler (8,9). Hücreler, normal metabolik yollarda kaçınılmaz bir şekilde oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltacak mekanizmalara sahiptir (10). Antioksidanlar, oksitleyici substratlarla karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonda bulunan ve bu substratların oksidasyonunu inhibe eden veya geciktiren maddelerdir. Antioksidanlar hücrenin membran ve sitoplazması olmak üzere her iki kısmında da bulunabilir, enzimatik veya nonenzimatik yapıda olabilirler (11,12).

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar (13). En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar; flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir (14). Meryemana dikeni üzerinde yapılan klinik araştırmalar ve deneyler bu bitkinin içeriğindeki isosilybin ve silibinin maddelerinin serbest radikalleri etkisiz hale getiren kuvvetli bir antioksidan olduğunu göstermişlerdir (15). Meryemana dikeni; silibinin, isosilybin, silydianin ve silychristin olarak adlandırılan dört flavonolignan isomerlerinde oluşur (16). Muriel ve ark (17), Wang ve ark (18), Eminzade ve ark (19), çalışmalarında ratlarda CCl_4 ile karaciğerde siroz oluşturmuş ve meryemana dikeni tedavisinin membran kolesterol fosfolipid ve sfingomyelin fosfatidilkolin oranlarındaki zararlı artışa karşı tamamen bir koruma sağladığını bildirmişlerdir. Zerdeçal fenolik yapıda olan serbest oksijen radikallerinin bir temizleyicisi olarak etki gösteren (20) antioksidan etkili curcuminden zengin olup, yangı önleyici, antioksidan, kan sulandırıcı, safra söktürücü, hepatopro-

tektif ve kolesterol düşürücü gibi özelliklerinin yanı sıra, gastrointestinal kolik, hemoraji, sarılık ve hematüri gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılır (21-24).

Antioksidan özellikleri bulunan zerdeçal ve meryemana dikeninin, ratlarda CCl_4 ile oluşturulmuş karaciğer hasarını üzerindeki koruyucu etkisi ve özellikle karaciğer dokusunda oluşabilecek lezyonlar üzerine ve ayrıca bazı serum biyokimyasal parametreler ile karaciğer lipid peroksidasyon düzeylerine etkilerinin belirlenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (EÜ HADYEK) 11/58 sayılı toplantıyla onayı alındı. Çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edilen 4 aylık, 60 adet, ortalama 250 gr'lık, dişi Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar, her kafeste beş rat olacak şekilde, pelet yem ile ad libitum olarak beslenerek araştırma merkezinin sahip olduğu uygun şartlar altında [kontrollü sıcaklık ($21 \pm 2^\circ C$), nem (% 50 ± 5), hava değişimi (saatte 12 devir), sıcaklık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık)] barındırıldı. Çalışmada her birinde 10 rat bulunan 6 grup oluşturuldu. Bu gruplardaki hayvanlar kontrol ve deney grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Kontrol grubuna tedavi uygulaması üç grup altında yapıldı. Birinci gruba bir hafta boyunca iki kere mısır yağı (0,5 ml/kg), ikinci gruba (100 mg/kg) meryemana dikeni (25), üçüncü gruba (80 mg/kg) zerdeçal (26) mısır yağında çözdürüp gavaj yolu ile 12 hafta boyunca verildi. Deney grubunda da tedavi uygulaması üç grup altında yapıldı ve birinci gruba haftada iki kere (0,5 ml/kg) 12 hafta boyunca CCl_4 (Merck 1.0222.1000) intraperitoneal olarak enjekte edildi. İkinci gruba haftada iki kez 12 hafta boyunca (0,5 ml/kg) CCl_4 enjeksiyonunu takiben 12 hafta boyunca (100 mg/kg) meryemana dikeni mısır yağında çözdürüp gavaj yolu ile verildi. Üçüncü gruba haftada iki kez 12 hafta boyunca (0,5 ml/kg) CCl_4 enjeksiyonunu takiben 12 hafta boyunca (80 mg/kg) zerdeçal mısır yağında çözdürüp gavaj yolu ile verildi. Çalışma süresi sonunda hafif eter anestezisi altındaki hayvanların kalp bölgesinin dezenfeksiyonu sağlandıktan sonra punksiyon yöntemi ile heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri bir saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve analiz için $-20^\circ C$ 'de saklandı. Serum AST, ALT, ALP, HDL, LDL, total protein, glikoz, albümin, trigliserit, total kolesterol analizleri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Merkez Laboratuvarı, Klinik Biyokimya bölümünde yapıldı. Çalışma sonunda hayatta kalan ratlar intramusküler ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında dekapitasyon yöntemiyle ötenazilerini takiben nekropsileri yapıldı. Tüm gruplara ait ratların makroskobik muayenesini takiben hayvanlardan sistemik olarak alınan dokuların (karaciğer, beyin, akciğer, kalp, böbrek, dalak, mide, ince ve kalın bağırsaklar) histopatolojik inceleme için % 10'luk formalin fiksasyonu tespit edildi. Rutin doku takip aşamalarından geçirildikten sonra hazırlanan ve parafine gömülen dokulardan 4-5 μm 'lık kesitler lamlara alındı. Ardından kontrol ve deney gruplarına ait olan karaciğer dokularına hematoksilin-eozin boyama metodları uygulandı. MDA ve NO analizleri, Erciyes Üni-

versitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Karaciğer doku protein düzeyi Lowry'nin metodunu (27) esas alan ve Miller tarafından modifiye edilmiş yöntemle (28), MDA düzeyleri Yoshioka ve arkadaşlarının (29) geliştirdiği yöntemle ve NO düzeyleri de Griess yöntemi esasına göre diazotizasyon yöntemiyle (30) belirlendi.

İstatistiksel Analiz

Kontrol ve deneme grupları arasında biyokimyasal ve lipid peroksidasyon parametrelerinin istatistiksel analizlerinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS 14.01 paket programı kullanıldı.

Karaciğer doku hasarı skor değerleri bakımından Hematoksilen- Eozin ile boyanan kesitlerde hepatositlerde yağlanma, yangı, nekroz ve fibrozis 10 farklı alanda, sözü edilen her bir hasar parametresi olarak skorlandı. Yağlanma karaciğer hücrelerinin % 33'ünden az ise 1 (hafif), %33-66 arası ise 2 (orta) ve % 66'dan fazla ise 3 (şiddetli) olarak kabul edildi. Yangı, nekroz ve fibrozis 0-3 arasında derecelendirildi (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3).

BULGULAR

Klinik Bulgular: Çalışmada deney gruplarındaki (Grup II, III, IV) ratlarda halsizlik, kambur duruş, sendeleyerek yürüme, aşırı tükürük salgısı, pitozis, ataksi ve korneal opasite gibi klinik bulgular gözlemlendi.

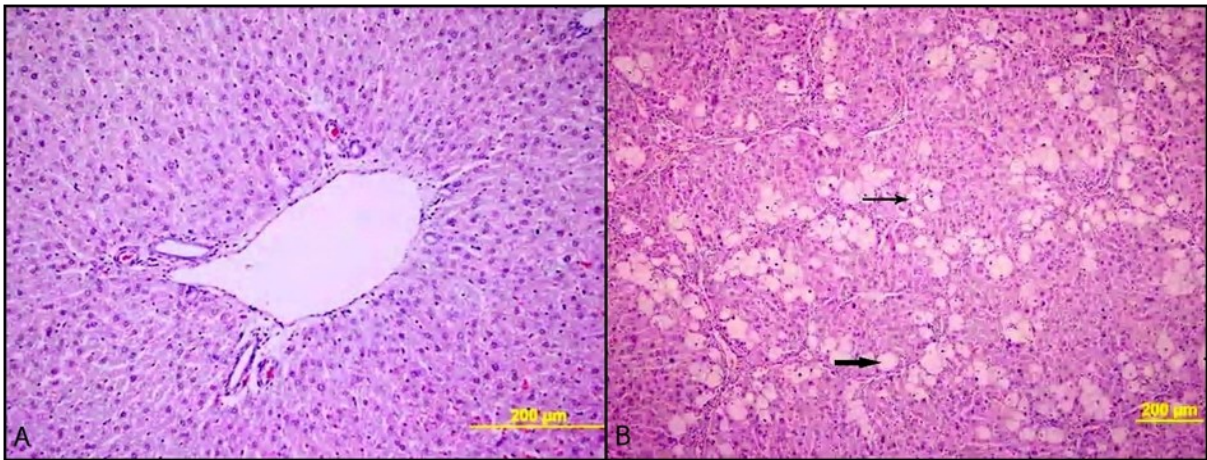
Patolojik Bulgular

Grup I (Kontrol): Çalışma sonunda dekapite edilen ratlara yapılan nekropside makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Alınan karaciğer doku örneklerinin incelenmesinde histolojik yönden normal yapıya sahip olduğu (Şekil 1A) ve aralarında herhangi bir farklılığın bulunmadığı görüldü. Sistemik olarak alınan diğer dokuların (beyin, akciğer, kalp, böbrek, dalak, mide, ince ve kalın bağırsaklar) histolojik değerlendirilmesinde herhangi patolojik bir lezyona rastlanmadı.

Grup II (Karbon Tetraklorür): Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan ratların karaciğerlerinin bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Bu

gruptaki ratların karaciğerleri histolojik olarak incelendiğinde yağlanma ve nekrotik değişiklikler ile özellikle portal bölgelerde hafiften orta şiddete ulaşan fibrozis alanlarının varlığı dikkati çekti. Bağ dokusundaki bu artışın bazı kesitlerde karaciğer dokusunda lobulasyon şeklinde olduğu görüldü. Yağlanmanın karaciğer asinusunda tüm parankime yayıldığı dikkati çekti (Şekil 1B). Bu bölgedeki hepatositlerin sitoplazmasındaki farklı büyüklükteki yağ vakuol oluşumları ile ilgili olarak genişlediği, çekirdeklerin periferine kaydığı ve sinüzoidlerin disosiasyona bağlı değişimlere uğradığı görüldü. Portal alana komşu bölgedeki hücreler nispeten normale yakın görünümde olup sinüzoidlerin normal olduğu izlendi. Sinüzoidler içerisinde lenfositler ile birlikte, Kupffer hücrelerinde hiperplazi dikkati çekti. Yağ vakuollerinin görüldüğü bölgelerde yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü. Ayrıca, hepatositlerde megalositozis belirgindi. Hepatositlerin çoğunda, çeşitli derecelerde dejeneratifden nekroza kadar giden değişiklikler dikkati çekti. Bu alanlar bağ doku hücreleri ve lenfoid hücre infiltrasyonu ile yer yer doldurulmuştu. Hepatosit çekirdeklerinde bazofilik görünümün arttığı, çekirdekçiklerin seçilemediği ve heterokromatin ağırlıklı olduğu gözlenirken, koyu, büzüşmüş karyopiknoza uğraymış çekirdeklerin yanında, eozinofilikleşmiş, kromatini çekirdek membranına yapışmış (marjinal hiperkromazi) hepatositler de bulunmaktaydı.

Grup III (Karbon Tetraklorür+Meryemana Dikeni): Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan ratların karaciğerlerinden bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Bu gruptaki ratların karaciğerleri histolojik olarak incelendiğinde yağlanmaya ilişkin değişiklikler ile özellikle portal bölgelerde hafiften orta şiddete kadar değişen fibrozis dikkati çekti. Yağlanma, parankimdeki hepatositlerin çoğunda görüldü. Hepatositlerin sitoplazmasındaki farklı büyüklükteki yağ vakuol oluşumları ile ilgili olarak hücrelerin genişlediği ve sinüzoidlerin daraldığı gözlemlendi. Yağ vakuolü görülen hepatositlerdeki nekrotik değişiklikler belirgindi. Portal bölgede özellikle belirgin olan fibröz bağ dokusu artışı yanında diğer bir tipik bulgu ise



Şekil I A. Kontrol grubundaki ratların karaciğer dokusuna ait normal görünüm. Karaciğer, HxE, 200µm. B. Grup II'deki ratların karaciğerlerinde farklı büyüklükte yağ vakuollerinin görünümü (oklar). Karaciğer, HxE, 200µm.

mononükleer hücre infiltrasyon odaklarıydı. Özellikle portal alanlara yakın bölgelerde kümeler oluşturacak tarzda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanlarında yer alırken, yağ vakuollerinin görüldüğü hepatositlerin tüm parankime dağıldığı dikkati çekti (Şekil 2B). Yağlanmanın yoğun olduğu alanlarda hepatositlerin farklı büyüklükte yağ damlacıkları içerdiği görülmekteydi. Hepatosit çekirdeklerinde bazofilik görünümünün arttığı, çekirdekçiklerin seçilemediği ve heterokromatin ağırlıklı olduğu gözlenirken, koyu, büzüşmüş karyopiknoza uğrayan çekirdeklerin yanında, eozinofilikleşmiş, kromatini çekirdek membranına yapışmış (marjinal hiperkromazi) hepatositler de dikkati çekti.

Grup IV (Karbon Tetraklorür+Zerdeçal): Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan ratların karaciğerlerinden bazılarında koyu kırmızı, bazılarında ise gri-beyaz renk değişimleri dışında makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Bu gruptaki ratların karaciğerleri histolojik olarak incelendiğinde yağlanma ve nekrotik değişiklikler dikkati çekti. Yağlanma, hepatositlerde belirgin olmak üzere tüm parankimde görüldü. Bu bölgelerdeki hepatositlerin sitoplazmasındaki farklı büyüklükteki keskin kenarlı yuvarlak yağ vakuol oluşumları ile ilgili olarak hepatositlerin genişlediği ve sinüzoidleri daralttığı görüldü (Şekil 2D). Portal alana komşu hepatositlerin periferinde portal bölgeden gelişen orta şiddette fibröz doku artışı ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi. Özellikle portal alanlara yakın bölgelerde kümeler oluşturacak tarzda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyon alanları yer alırken, seyrek olarak bu durum nekrotik alanlar ile tüm parankime yayıldığı dikkati çekti. Özelliğini kaybetmiş sinüzoidler içerisinde

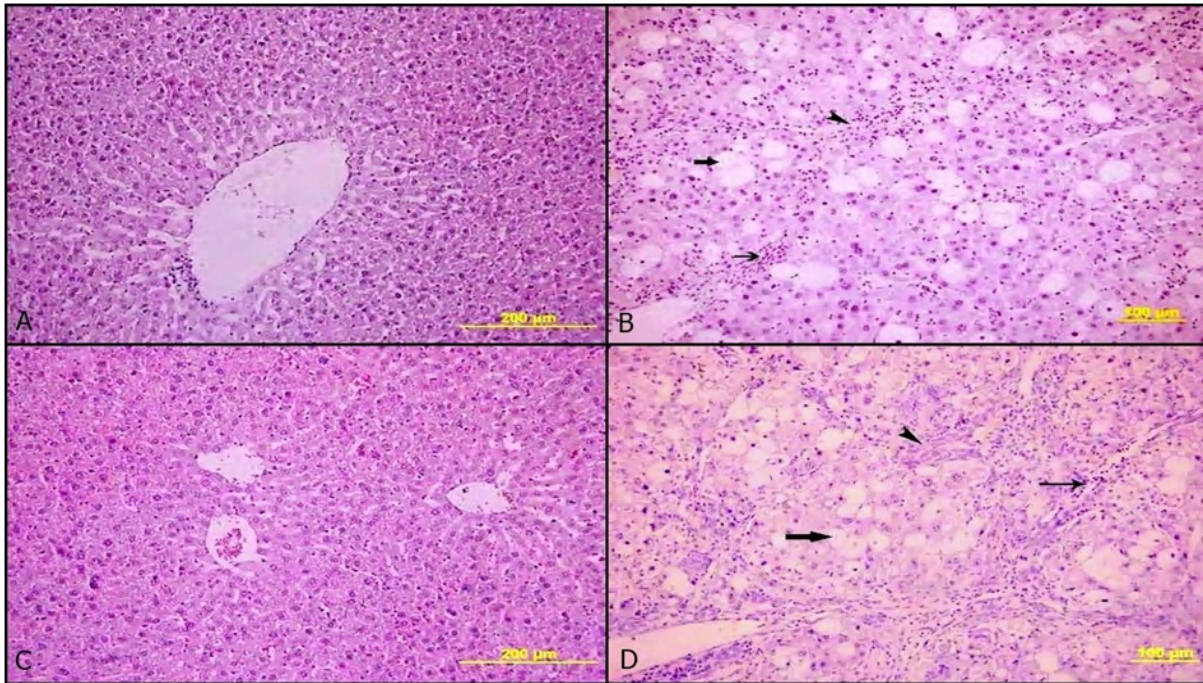
mononükleer hücreler arasında Kupffer hücrelerinde de artış izlendi. Hepatositlerin çoğunda, çeşitli derecelerde dejeneratifden nekroza kadar giden değişiklikler görüldü. Bazı hücrelerin sitoplazmaları birleşmesi sonucu daha büyük görünümümlü yağ vakuolleri izlendi. Hepatosit çekirdeklerinde bazofilik görünümünün arttığı, çekirdekçiklerin seçilemediği ve heterokromatin ağırlıklı olduğu, koyu, büzüşmüş piknoza uğrayan çekirdeklerin yanında, eozinofilikleşmiş, kromatini çekirdek membranına yapışmış (marjinal hiperkromazi) hepatositlerin bulunduğu görüldü.

Grup V (Meryemana Dikeni): Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan ratların bazılarının karaciğerlerinde koyu kırmızı renk değişikliği dışında makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Alınan karaciğer doku örneklerinin histolojik yönden incelenmesinde kesitlerin çoğunun normal yapıya sahip olduğu ve aralarında herhangi bir farklılığın bulunmadığı görüldü (Şekil 2A).

Grup VI (Zerdeçal): Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan ratların bazılarının karaciğerlerinde renk değişikliği dışında makroskopik bir lezyona rastlanmadı. Alınan karaciğer kesitlerinin histolojik yönden incelenmesinde, çoğunun normal yapıya sahip olduğu ve aralarında herhangi bir farklılık bulunmadığı görüldü (Şekil 2C).

Biyokimyasal Bulgular ve Lipid Peroksidasyon Bulguları:

Sunulan çalışmada serum trigliserit düzeyi, kontrol grubuna göre CCl₄, zerdeçal ve meryemana dikeni uygulanan gruplarda istatistiksel açıdan önemli bir değişimin olmadığı ($p>0,05$); ancak CCl₄ ile eş zamanlı zerdeçal ve meryemana dikeni verilen gruplarda trigliserit düzeylerindeki azalmaların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendi ($p<0,05$). Karaciğer hasarı



Şekil II A.Grup V'deki ratların karaciğer dokusuna ait normal histolojik görünümü. Karaciğer, HxE,200µm. B.Grup III'deki ratların karaciğerlerinde hepatositlerde farklı büyüklükte yağ vakuolleri (kalın ok), lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonu (ince ok) ve artmış fibröz doku hücrelerinin görünümü. Karaciğer, HxE, 100µm. C.Grup VI'deki ratların karaciğerlerinin normal histolojik görünümü. Karaciğer, HxE, 200 µm. D. Grup IV'deki ratların karaciğerlerinde hepatositlerde yağ damlacıkları (kalın ok), portal bölgeden gelişen fibröz doku artışı (ok bası) ve fibröz doku içerisinde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyonu (ince ok). Karaciğer, HxE, 100µm.

oluşturulan gruplarda serum trigliserit düzeylerindeki en önemli düşüşün meryemana dikenini verilen grupta (Grup III) olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Sadece zerdeçal ve meryemana dikenini verilen gruplarda, serum HDL ve albümin düzeylerinde, kontrol grubuna göre karaciğer hasarı oluşturulan tüm gruplarda önemli düzeyde düşmesine karşın, LDL düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir ($p < 0,05$). Karaciğer hasarı oluşturulan gruplara zerdeçal veya meryemana dikenini verilmesi ile gerek HDL gerekse LDL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmedi ($p > 0,05$). Kontrol, zerdeçal ve meryemana dikenini verilen gruplara göre, CCl_4 uygulanan tüm gruplarda karaciğer hasarının göstergeleri olan serum ALT ve AST enzim aktivitelerinde önemli düzeyde arttığı görüldü ($p < 0,05$) (Tablo 1). CCl_4 ile zerdeçal ve meryemana dikenini verilen gruplarda

CCl_4 grubuna göre bu enzimlerde önemli bir değişimin olmadığı görüldü.

Sunulan çalışmada kontrol grubuna (Grup I) göre zerdeçal (Grup VI) ve meryemana dikenini (Grup V) verilen gruplarda karaciğer MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmedi ($p > 0,05$). Kontrol grubuna göre, CCl_4 uygulanan tüm gruplarda karaciğer MDA düzeyleri önemli seviyede artış gösterdi ($p < 0,05$). CCU grubuna (Grup II) göre, CCl_4 ile zerdeçal (Grup IV) ve CCl_4 ile meryemana dikenini (Grup III) uygulanan gruplarda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı görüldü ($p > 0,05$) (Tablo 2).

Kontrol grubuna (Grup I) göre zerdeçal (Grup VI) ve meryemana dikenini (Grup V) verilen gruplarda karaciğer NO verilerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişimin

Tablo I: Kontrol ve deneme gruplarında bazı serum biyokimyasal parametreler

Parametreler	Grup 1 $\bar{x} \pm S_n$	Grup 2 $\bar{x} \pm S_n$	Grup 3 $\bar{x} \pm S_n$	Grup 4 $\bar{x} \pm S_n$	Grup 5 $\bar{x} \pm S_n$	Grup 6 $\bar{x} \pm S_n$	P değeri (ANOVA)
Glukoz (mg/dl)	103,75±3,75	135,38±18,17	125,89±6,81	122,83±11,47	113±3,61	115,88±3,31	$p > 0,05$
Trigliserit (mg/dl)	144,63±14,92 ^a	102,63±17,10 ^{ab}	53,34±4,97 ^c	82,17±26,99 ^{bc}	119,90±14,10 ^{ab}	112±14,84 ^{ab}	$p < 0,05$
Kolesterol (mg/dl)	81,88±5,18	71,50±6,97	82,23±5,28	79±6,15	84,90±5,92	76±4,16	$p > 0,05$
HDL (mg/dl)	34,13±1,77 ^a	22,50±2,66 ^b	22,12±1,60 ^b	17,84±2,06 ^b	32,50±1,80 ^a	30,38±1,76 ^a	$p < 0,05$
LDL (mg/dl)	22,70±4,28 ^b	40,73±3,64 ^a	49,45±3,80 ^a	44,73±7,91 ^a	28,42±2,22 ^b	23,23±5,70 ^b	$p < 0,05$
AST (U/L)	126,75±78,77 ^c	1919,75±318,87 ^b	2982,78±350,38 ^{ab}	3574,50±852,25 ^a	153,9±27,45 ^c	102±8,52 ^c	$p < 0,05$
ALT (U/L)	77±8,17 ^c	1687,13±597,40 ^a	2120±264,92 ^a	3678,50±700,86 ^a	84,20±14,04 ^c	72,50±4,08 ^c	$p < 0,05$
ALP (U/L)	283,11±66,64 ^b	378±49,27 ^{ab}	429,12±70,32 ^{ab}	477,33±48,05 ^a	359,54±44,87 ^{ab}	381,63±36,47 ^{ab}	$p < 0,05$
Total Protein (g/dl)	5,99±0,43	5,38±0,22	5,66±0,16	5,44±0,16	6,08±0,14	5,79±0,17	$p > 0,05$
Albümin (g/dl)	1,31±0,077 ^a	0,98±0,052 ^b	1,15±0,04 ^{ab}	1,12±0,138 ^b	1,22±0,041 ^a	1,24±0,065 ^a	$p > 0,05$

a-c: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Tablo II: Kontrol ve deney grubu karaciğer MDA ve NO değerleri

Gruplar	Parametreler	
	MDA (nmol/mg protein) $\bar{x} \pm S_n$	NO (μ mol/mg protein) $\bar{x} \pm S_n$
Grup 1	2,72±1,37 ^a	17,42±3,64 ^a
Grup 2	6,95±1,23 ^b	46,61±12,96 ^b
Grup 3	6,59±1,28 ^b	38,54±4,36 ^b
Grup 4	5,91±0,47 ^b	39,22±11,55 ^b
Grup 5	2,91±1,17 ^a	17,81±2,42 ^a
Grup 6	3,43±1,30 ^a	23,39±3,15 ^a
P değeri	$p > 0,05$	$p > 0,05$

a-b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. ($p < 0,05$).

olmadığı görüldü ($p>0,05$). Kontrol grubuna göre, CCl_4 uygulanan tüm gruplarda karaciğer NO düzeyleri önemli seviyede artış gösterdi ($p<0,05$). CCl_4 grubuna (Grup II) göre, CCl_4 ile zerdeçal (Grup IV) ve CCl_4 ile meryemana dikenini (Grup III) verilmesi ile NO düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişimin olmadığı izlendi ($p>0,05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Deneyel çalışmalarda, kloroform, CCl_4 , arsenik, fosfor gibi pek çok maddenin karaciğerde değişik patolojik durumların oluşturulmasında kullanıldığı görülmektedir (31-33). Bunların içerisinde CCl_4 oldukça fazla kullanım alanına sahiptir (34). Ratlara düşük dozda ve uzun süreli CCl_4 uygulamasının hepatik fibrogenezisi başlatarak insandaki karaciğer sirozuna çok benzer bir etki oluşturduğu gösterilmiştir (35). CCl_4 'ün sebep olduğu karaciğer toksikasyonlarında en dikkat çekici patolojik bulgular yağ dejenerasyonu (yağlı karaciğer), siroz ve nekroz oluşumlarıdır (36). CCl_4 'ün ratlarda deneyel olarak hepatik fibrozis oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (34). Sarhan ve ark (37), sekiz hafta boyunca, Eidi ve ark (38), yirmi sekiz gün boyunca, Lee ve ark (39), dokuz hafta boyunca, Kus ve ark (40), bir ay boyunca, Sung-Hwa ve ark (25), sekiz hafta boyunca haftada iki kere, 0,5 ml/kg dozunda CCl_4 uyguladıkları ratların karaciğerlerinde sinuzoidlerin yapısında bozulma, disse aralıklarında genişleme, hepatositlerde farklı büyüklüklerde yağ vakuelleri (yağ dejenerasyonu), hiperemik kan damarları çevresinde çoğunluğu lenfositlerin oluşturduğu mononükleer hücre infiltrasyon alanları, santral venaların distorsiyonu, özellikle portal bölgeden parankime doğru gelişen fibröz doku artışı (rejeneratif alanlar), bazı hepatositlerde nükleer pleomorfizm, Kupffer hücre hiperplazisinin varlığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda deney gruplarına CCl_4 0,5 ml/kg dozunda intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Çalışmamızda deney gruplarının [CCl_4 (Grup II), CCl_4 +zerdeçal (Grup III), CCl_4 +meryemana dikenini (Grup IV)], karaciğerlerinin histopatolojik incelemelerinde gruplar arasında bir fark olmadığı dikkati çekti. Her üç grupta (Grup II, Grup III, Grup IV) hepatositlerde farklı büyüklükte, yuvarlak, keskin kenarlı yağ vakuelleri (yağ dejenerasyonu), remark kordonlarının yapısının bozulması, hepatositlerde dejenerasyon, portal bölgede ve parankimde çoğunluğu lenfositlerin oluşturduğu mononükleer hücre infiltrasyon alanları, özellikle portal bölgede daha belirgin olmak üzere parankime yayılmış bağ dokusu artışı ile ilgili lobulasyon varlığı dikkati çekiydi. Bu bulgular yukarıda bahsedilen araştırmacıların çalışmalarındaki bulgular ile uyumluluk göstermektedir (34).

Karaciğer hasarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli rol oynadığı iyi bilinmektedir (5). Oksidatif stres sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikalleri birçok biyolojik ve patolojik süreçte rol alan moleküllerdir. Serbest radikaller OH_2 , O_2 , NO_2 ve lipit peroksit radikalleri gibi değişik yapılarla sahiptirler. Oksidatif strese karşı endojen korunma, serbest radikalleri ve diğer reaktif türleri ortadan kaldıran SOD, CAT, ve GPx gibi enzimler aracılığı ile gerçekleştirilir (5,6). Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen bileşenlerinin en önemlisi NO'tir. NO metabolizması sonucu oluşan peroksinitrit

radikalinin asıl etkili radikal olduğu bilinmektedir. Birçok çalışma CCl_4 verilen ratların karaciğerinde NO oluştuğunu göstermektedir (41). Srinivasan ve ark (42), haftada 3 ml/kg dozunda 90 gün boyunca CCl_4 uyguladıkları ratların karaciğerinde, NO seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde yükseldiğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada, CCl_4 'ün kronik uygulaması sonrasında karaciğerde kontrol grubuna göre deney gruplarında (Grup II, Grup III, Grup IV) NO seviyesininin yükseldiği gözlemlendi.

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü olan MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşur. Yılmaz ve Bahçecioglu (43), yapmış oldukları bir çalışmada CCl_4 ile karaciğer sirozu oluşturulan ratlarda, karaciğer dokusunda MDA aktivitesini ölçmüşlerdir. Sirozlu grubun karaciğer MDA düzeylerinin kontrollere göre yüksek olduğunu göstermişlerdir. Çalışma sonucunda sirozun antioksidan savunma sisteminde değişikliklere ve dolayısıyla oksidatif stres ve peroksidasyona yol açabileceği belirtilmiştir. Sung-Hwa ve ark (25), sekiz hafta boyunca haftada iki kere, 0,5 ml/kg dozunda CCl_4 uyguladıkları ratların karaciğerlerinde serum MDA düzeyinin kontrol grubuna göre yaklaşık olarak iki katına çıktığını bildirmişlerdir. Aynı ratlara meryemana dikenini verdikten sonra MDA seviyesinde düşme ve karaciğer histopatolojisinde düzelme olduğu sonucuna varmışlardır. Wu ve ark (44), 0,75 ml/kg dozunda sekiz hafta boyunca CCl_4 vererek oluşturdukları karaciğer hasarına karşı, % 95 oranında zerdeçal bileşeni içeren yem uygulamasının, CCl_4 uygulamasıyla artmış olan karaciğer MDA seviyesini düşürerek kontrol grubuna yaklaştırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda CCl_4 uygulanan grupta (Grup II), diğer çalışmalardakine benzer şekilde karaciğer MDA enzim seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli ölçüde yükselme gözlenmiştir (25,43,44). Sung-Hwa ve ark'nın (25) CCl_4 +meryemana dikenini uyguladıkları grupta Meryemana dikeninin karaciğerde artmış olan MDA enzim seviyelerini düşürerek kontrol grubuna yaklaştırdığı bildirirken, bu sonuçtan farklı olarak çalışmamızda CCl_4 +meryemana dikenini uygulanan grupta meryemana dikenini verilisinin MDA enzim düzeylerinde önemli bir düşüşe sebep olmadığı gözlenmiştir. Wu ve ark (44), 8 hafta boyunca %0,005 oranında zerdeçal uyguladıkları grupta zerdeçalın karaciğerde artmış olan MDA enzim seviyelerini düşürerek kontrol grubuna yaklaştırdığı bildirilirken, bu sonuçtan farklı olarak bizim çalışmamızda CCl_4 +zerdeçal uygulanan grupta zerdeçal verilisinin MDA enzim düzeylerinde önemli bir düşüşe sebep olmadığı görülmüştür. Bu farklılığın uygulanan doz miktarı ve verilmiş yolundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Plazma karaciğer enzim aktivitelerinin artışı karaciğer hasarının önemli bir göstergesidir (34). Kronik karaciğer hasarında, hepatositlerin taşıma işlevinin bozulması sonucu enzimlerin hücre dışına sızması sebebiyle plazmadaki karaciğer enzim aktivitelerinde artış gözlenmektedir (45). In vivo ve in vitro çalışmalar meryemana dikenini CCl_4 ve bazı toksik maddeler ile oluşturulan deneyel çalışmalarda antioksidan ve serbest radikal temizleyici etkilerini göz önüne sermiştir (46). Yapılan çalışmalarda, CCl_4 + 200 mg/kg dozda meryemana dikenini ve CCl_4 + 50 mg/kg dozda meryemana dikenini verilen ratlarda, artmış olan karaciğer ALT ve AST seviyelerinin-

de düşme meydana getirerek kontrol grubuna yaklaştırdığını bildirmişlerdir (25, 46, 47). Muriel ve ark (46) iki ve üç ay boyunca 0,4 gr/kg dozunda haftada üç kere CCl₄ uygulanan ratların karaciğer ALT enzim seviyesinin kontrol grubuna göre üç kat arttığını ve CCl₄+ 50 mg/kg dozda meryemana dikenini uygulamasının karaciğerde artmış olan ALT enzim seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Sung-Hwa ve ark (25), sekiz hafta boyunca haftada iki kere, 0,5 ml/kg dozunda CCl₄ uyguladıkları ratların, kontrol grubuna göre artmış olan karaciğer ALT ve AST değerlerinin meryemana dikenini uygulamasıyla önemli düzeyde düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir. Yukarıdaki araştırmacıların bildirdiklerinden farklı olarak çalışmamızda, CCl₄+meryemana dikenini uygulanan grupta meryemana dikeninin, artmış olan serum ALT ve AST düzeylerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırmadığı, dolayısıyla önemli bir iyileştirici etkisi olmadığı görülmüştür. Sonuçlardaki bu farklılığın, seçilen dozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Tsai ve ark (47) total kolesterol seviyesinin kontrol grubuna göre CCl₄ uygulanan grupta herhangi bir değişiklik oluşturmadığını, CCl₄+meryemana dikenini uygulanan grupta da kolesterol değerlerinin etkilenmediği bildirmişlerdir. Çalışmamızda kontrol, CCl₄ ve CCl₄+meryemana dikenini uygulanan gruplarda kolesterol değerleri açısından farklılığın olmayışı araştırmacıların sonuçları ile uyumluluk göstermiştir.

Eminzade ve ark (19), anti-tüberküloz ilaçları [(isoniazid (INH), rifampicin (RIF) ve pirazinamid (PZA)] ile karaciğer hasarı oluşturmuş ve artmış olan serum ALT, AST ve ALP değerlerinin, 200 mg/kg dozda meryemana dikenini uygulaması ile kontrol grubuna yaklaştırdığını bildirerek meryemana dikeninin koruyucu etkisini göstermişlerdir. Sadece meryemana dikenini uygulanan grup, serum ALT, AST ve ALP aktiviteleri açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında herhangi önemli bir farklılık göstermediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda sadece meryemana dikenini uygulanan grupta (Grup 5) serum ALT, AST ve ALP değerlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre önemli bir farklılığın görülmemesi araştırmacıların bulguları ile uyum göstermektedir. Park ve ark (48), yaptıkları çalışmalarında 1 ml/kg dozunda dört hafta boyunca CCl₄ vererek oluşturdukları karaciğer hasarına karşı 100 mg/kg dozda zerdeçal uygulamasının, ratların plazma AST ve ALT enzim düzeylerinde CCl₄ grubuna göre önemli derecede bir düşüş meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca CCl₄ uygulanan grupta azalan serum albümin düzeyinin, CCl₄+zerdeçal uygulanan grupta arttığını ancak bu artışın önemli düzeyde olmadığını bildirmişlerdir. Kamalakkannan ve ark (26), ratlarda CCl₄ ile oluşturdukları karaciğer hasarı üzerine 80 mg/kg dozda zerdeçal uygulamasının oluşan hasar üzerine etkisini araştırmışlardır. CCl₄ +zerdeçal uygulanan grupta sadece CCl₄ uygulanan gruba göre artmış olan plazma AST, GGT ve ALP değerlerinde önemli derecede azalma oluştuğunu bildirmişlerdir. AST, ALT ve ALP değerlerinin düştüğünü bildiren çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda CCl₄+zerdeçal uygulanan grupta zerdeçalın, artmış olan serum ALP ve AST düzeylerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırmadığı, dolayısıyla önemli derecede iyileştirici etkisi olmadığı görülmüştür (26,44,48). Park ve ark (48), albumin ile ilgili bildirdiği değerler, çalışmamızda ki CCl₄ uygulanan grupta albümin seviyesinde azalma

oluşması ve bu azalmanın zerdeçal uygulamasıyla önemli sayılmayacak bir artışa sebep olduğu, CCl₄+zerdeçal uygulanan grupta gösterilmiştir. Albumin değerleri ile ilgili sonuçlar araştırmacının verileri ile uyumluluk göstermektedir.

Sonuç olarak, CCl₄ uygulanan ratların karaciğerlerinde fibröz doku artışı, yağlanma, inflamasyon, sinüzoidlerde bozulma ve hepatositlerde dejenerasyon gibi karaciğer hasarları oluşurken, CCl₄+zerdeçal ve CCl₄+meryemana dikeninin eş zamanlı olarak verildiği karaciğer hasarı olan bu gruplarda ki karaciğer histopatolojileri CCl₄ grubuyla birebir benzerlik göstermekte olup antioksidan etkinliği bilinen zerdeçal ve meryemana dikeninin karaciğer hasarı üzerinde önemli düzeyde bir farklılık oluşturmadığı dikkati çekmiştir. Özellikle karaciğer hasarının göstergeleri olan AST ve ALT enzim aktivitelerinde kontrol, meryemana dikenini ve zerdeçal gruplarına göre, CCl₄ uygulanan gruplarda önemli düzeyde artış görülmüştür. Çalışmamızda kullanılan bitkilerin, serum biyokimyasal parametreler üzerinde sayısal olarak değişikliklere sebep olmalarına rağmen bu değişimlerin istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadıkları görülmüştür. CCl₄ uygulaması ile oluşan kronik karaciğer hasarı üzerine antioksidan etkinliği bilinen bitkisel maddeler ile farklı dozlarda ve verilme sürelerinde yapılacak olan yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Dündar Y. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam. Kocatepe Tıp Dergisi 2001; 2:131-138.
2. Burroughs AK, Westaby D. Liver, biliary tract and pancreatic disease. In: Kumar P, Clark M (eds), Clinical Medicine. 6 th ed. Elsevier Saunders, 2005; pp 347-417.
3. Moeller RB. Hepatobiliary system. In: Plumlee KH. (ed), Clinical Veterinary Toxicology. United States 2004; pp 61-62.
4. Sherlock S. Chronic hepatitis and cirrhosis. Hepatology 1984; 4:5-28.
5. Natarajan SK, Thomas S, Ramamoorthy P, et al. Oxidative stress in the development of two different experimental models. J Gastroen Hepatol 2006; 21:947-957.
6. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med 2000; 108:652.
7. Betteridge DJ. What is oxidative stress? Metabolism 2000; 49:3-8.
8. Aruoma OI. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chem, 1994; 32:671-683.
9. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. Free Radical Res Commun 1990; 9:1-32.
10. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. Chemical 1988; 29:1516-1523.
11. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol 1997; 82:291-295.
12. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: What for? Eur Rev Med Pharmacol Sci 2006; 10:291-317.
13. Moure A, Cruz JM, Franco D, et al. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 2001; 72:145-171.

14. Naczki M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography* 2004; 1054:95-111.
15. Muriel P, Espinoza YR. Beneficial drugs for liver disease: A review. *J Appl Toxicol* 2008; 28:93-103.
16. Anthony KP, Saleh MA. Free radical scavenging and antioxidant activities of silymarin components. *Antioxidants* 2013; 2:398-407.
17. Muriel P, Mourelle M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute carbon tetrachloride liver damage. *J Appl Toxicol* 1990; 10:275-279.
18. Wang DH, Ishii K, Zhen LX, Taketa K. Enhanced liver injury in acatalasemic mice following exposure to carbon tetrachloride. *Arch Toxicol* 1996; 70:189-194.
19. Eminzade S, Uras F, Izzettin FV. Silymarin protects liver against toxic effects of anti-tuberculosis drugs in experimental animals. *Nutr Metab* 2008; 5:18.
20. Das KC, Das CK. Curcumin (diferuloylmethane), a singlet oxygen (1O_2) quencher. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 295:62-66.
21. Naik SR, Thakare VN, Paitl SR. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: Evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63:419-431.
22. Maheswari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sci* 2006; 78:2081-2087.
23. Ammon HP, Walh MA. *Pharmacology of Curcuma longa*. *Planta Med* 1991; 57:1-7.
24. Luper S. A review of plants used in the treatment liver disease. *Altern Med Rev* 1998; 3:410-421.
25. Sung-Hwa K, Ho JC, Nari Y, Oh ST, Shin E, Shim KS, Lee SM. Protective effect of a mixture of *Aloe vera* and *Silybum marianum* against carbon tetrachloride induced acute hepatotoxicity and liver fibrosis. *J Pharmacol Sci* 2009; 109:119-127.
26. Kamalakkannan N, Rukkumani R, Varma PS, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP: Comparative effects of curcumin and an analogue of curcumin in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol* 2005; 97:15-21.
27. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-75.
28. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84:407.
29. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T. Lipid peroxidation in material and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135:372-376.
30. Tracey WR, Tse J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272:1011-1015.
31. Shimizui I. Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2001; 1:227-240.
32. Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J Agric Food Chem* 1998; 46:1887-1892.
33. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl_4 caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol* 2008; 73:399-409.
34. Kevin PA, Mahmoud AS. Free radical scavenging and antioxidant activities of silymarin components. *Antioxidants* 2013; 2:398-407.
35. Tamayo RP. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl_4 and adequate model of human cirrhosis? *Hepatology* 1983; 3:112-120.
36. Recknagel RO, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanism of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 1989; 43:139-154.
37. Sarhan NAZ, El-Denshary ES, Hassan NS, Abu-Salem FM, Abdel-Wahhab MA. Isoflavones enriched soy protein prevents CCl_4 -induced hepatotoxicity in rats. *ISRN Pharmacol* 2012; 8.
38. Eidi A, Mortazavi P, Behzadi K, Rohani AH, Safi S. Hepatoprotective effect of manganese chloride against CCl_4 -induced liver injury in rats. *Biol Trace Elem Res* 2013; 155:267-275.
39. Lee TY, Wang GJ, Chiu JH, Lin HC. Long-term administration of *Salvia miltiorrhiza* ameliorates carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55:1561-1568.
40. Kus I, Ogeturk M, Oner H, Sahin S, Yekeler H, Sarsilmaz M. Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats: A light microscopic and biochemical study. *Cell Biochem Funct* 2005; 23:169-174.
41. Chamulitrat W, Jordan SJ, Mason RP. Nitric oxide production during endotoxin shock in carbon tetrachloride treated rats. *Mol Pharm* 1994; 46:391-397.
42. Srinivasan M, Rukkumani A. Sudheer R, Menon VP. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; 19:491-496.
43. Yılmaz S, Bahçecioglu İH. Karbon tetraklorür ile siroz oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim ve pirüvat kinaz aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci* 2000; 24:25-28.
44. Wu SJ, Lin YH, Chu CC, Tsai YH, Chao JC. Curcuminor saikosaponin a improves hepatic antioxidant capacity and protects against CCl_4 -induced liver injury in rats. *J Med Food* 2008; 11:224-229.
45. Rajesh MG, Latha MS. Preliminary evaluation of the antihepatotoxic activity of Kamiları, a polyherbal formulation. *J Ethnopharmacol* 2004; 91:99-104.
46. Muriel P, Moreno MG, Hernandez MC, Chávez E, Alcantar LK. Resolution of liver fibrosis in CCl_4 administration in the rat after discontinuation of treatment: Effect of silymarin, silibinin, colchicine and trimethyl colchicinic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 96:375-380.

47. Tsai JH, Liu JY, Wu TT, et al. Effects of silymarin on the resolution of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *J Viral Hepatitis* 2008; 15:508-514.
48. Park EJ, Jeon CH, Ko G, Kim J, Sohn DH. Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52:437-440.

