



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2013; 27 (3): 159 - 167  
http://www.fusabil.org

**Rahime ÇİFTÇİ**  
**Abdurrauf YÜCE**

Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

### Karaciğer Fibrozisli Ratlarda Kuersetinin Homosistein Düzeyi ve Koroner Damar Hasarı Üzerine Etkisi \*

Bu çalışma, deneysel olarak karaciğer fibrozisi oluşturulan ratların plazma homosistein düzeyi ve koroner arterlerdeki yapısal değişimleri incelemek ve bu değişimler üzerine kuersetinin etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 40 Sprague-Dawley rat 4 farklı gruba ayrıldı: 1. Grup: (Kontrol grubu, n= 10, zeytinyağı), 2. Grup: [Karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) grubu, n= 10, 0.25 mg/kg CCl<sub>4</sub>], 3. Grup: [Kuersetin grubu (K), n= 10, 150 mg/kg kuersetin], 4. Grup: [CCl<sub>4</sub>+K grubu, n= 10]. Uygulamalar 10 hafta boyunca günlük olarak ratlara gavaj yoluyla yapıldı. Plazma malondialdehit (MDA) ve homosistein düzeyleri belirlendi, karaciğer ve koroner damarlardaki patolojik değişimler incelendi. Plazma MDA (P<0.05) ve homosistein (P<0.01) değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 2. grupta önemli derecede artmış, 3. ve 4. grupta azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 2. gruptaki ratların koroner damarlarında fibrinoid ve vakuoler dejenerasyon, perivasküler bağ doku artışı ve endotel hücrelerinde ayrılmalar belirlenmiştir. 4. grupta ise 2. gruba göre dejeneratif değişimler ve perivasküler bağ doku artışının daha hafif olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, CCl<sub>4</sub>'ün sebep olduğu MDA artışı karaciğerde hasara ve bu hasar da plazma homosistein düzeyinde artışa, koroner damarlarda patolojik lezyonlara neden olmuştur. Öte yandan CCl<sub>4</sub>+K uygulaması plazma homosistein ve MDA düzeyleri ile koroner arterlerdeki patolojik lezyonların derecesini azalttı.

**Anahtar Kelimeler:** Aterosklerozis, homosistein, kuersetin, rat.

#### Effect of Quercetin on Homocysteine Level and Coronary Vascular Damage in Rats with Liver Fibrosis

This study was conducted to investigate the changes in the levels of homocysteine and structure of coronary arteries in rats with experimental liver fibrosis and to investigate the effects of quercetin on these changes. For this purpose, 40 Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups as; Group 1: (Control group, n= 10, olive oil), Group 2: [Carbon tetrachlorur (CCl<sub>4</sub>) group, n= 10, 0.25 mg/kg CCl<sub>4</sub>], Group3: [Quercetine (Q) group, n= 10, 150 mg/kg quercetine], Group 4: [CCl<sub>4</sub>+Q group, n= 10]. Treatments were given by gavage to the rats daily for 10 weeks. The levels of plasma malondialdehyde (MDA) and homocysteine were determined and pathological changes in the liver and coronary arteries were examined. The levels of plasma homocysteine (P<0.01) and MDA (P<0.05) significantly increased in group 2, while they were significantly decreased in groups 3 and 4 compared to the control group. Fibrinoid and vacuolar degeneration, perivascular connective tissue growth and detachment of endothelial cells were determined in the endothelium of coronary artery of group 2 rats compared to the control group. It was observed that degenerative changes and increase in perivascular connective tissue were milder in group 4 than they were in group 2.

In conclusion, CCl<sub>4</sub> induced increase in MDA level caused liver injury, leading to increase in plasma homocysteine level and pathological changes in coronary arteries. On the other hand, quercetine administration to CCl<sub>4</sub> treated rats decreased the levels of plasma homocysteine and MDA and the degree of the pathological lesions in the coronary arteries.

**Key Words:** Atherosclerosis, homocysteine, quercetine, rat.

#### Giriş

Karaciğer, diyaframın hemen altında, sağ tarafta, koyu kırmızı renkte yumuşak bir organdır. Besinlerdeki karbonhidratların, lipidlerin, proteinlerin ve vitaminlerin işlenmeleri, portal dolaşımdaki parçacıkların fagositozu, serum proteinlerinin üretimi,

\* Bu çalışma, Rahime ÇİFTÇİ'nin yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

**Geliş Tarihi** : 29.05.2013  
**Kabul Tarihi** : 30.10.2013

**Yazışma Adresi**  
**Correspondence**

**Abdurrauf YÜCE**  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ - TÜRKİYE

ayuce@firat.edu.tr

kandaki metabolitlerin biyodönüşümlerinin sağlanması, endojen atıkların ve bazı eksojen zararlıların detoksifikasyonu ve safra üretimi gibi işlevlere sahiptir (1).

Karaciğeri etkileyen başlıca rahatsızlıklar, karaciğer yağlanması, karaciğer sirozu, vasküler karaciğer hastalığı (Budd-Chiari Sendromu), metabolik karaciğer hastalığı (Wilson), konjenital karaciğer hastalığı (Kistik fibrozis, Fibrozis) ve enfeksiyöz karaciğer hastalığı (Hepatit) olarak sayılabilir (2-6). Canlılarda metiyonin metabolizmasının esansiyel bir ara metaboliti olan homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğer merkezi bir rol oynamaktadır. Metioninin büyük oranda bu organda metabolize edilir. Karaciğer, metionin ve homosistein metabolizmasında görev alan genlere sahiptir. Homosisteinin metabolizmasında rol oynayan MAT (Metionin adenoziltransferaz) sadece karaciğerde bulunurken, BHMT (Betain-homosistein metiltransferaz) ve CBS (Sistationin  $\beta$ -sentetaz)'in büyük çoğunluğu karaciğerde sentezlenmektedir. Bu nedenlerle karaciğer hasarı homosistein metabolizmasını ileri derecede etkilemektedir (7, 8). Hiperhomosistenemin koroner kalp hastalıklarına (KKH) sebep olduğu, 1962 yılında McCully (9) tarafından homosisteininin tanımlanmasıyla birlikte ortaya çıkmıştır. Günümüzde koroner kalp hastalıklarının önceden belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmış, birçok parametre araştırılmıştır. Bu çalışmalarda hiperlipideminin, özellikle de kolesterolün başlıca sorumlu faktör olduğu savına rağmen son yıllarda bazı koroner kaynaklı ölümlerde serum lipid düzeylerinin normal olması, araştırmacıları başka faktörleri incelemeye yöneltmiştir ve yapılan araştırmalarda KKH oluşumunda plazma homosistein düzeyi artışının kolesterolden çok daha önemli bir parametre olduğu fikri ileri sürülmüştür (10). Plazma homosistein düzeyleri hem genetik hem de besinsel olarak düzenlenmektedir. Hiperhomosisteininin oluşumunda yer alan besinsel nedenler arasında homosisteinin metabolize edilebilmesinde kofaktör olarak görev yapan folik asit, vitamin B<sub>6</sub> ve vitamin B<sub>12</sub>'nin kısmi ya da tam eksikliği sayılabilmektedir. Genetik nedenler arasında ise homosisteinin metabolize olmasında görevli enzimlerin genetik olarak yetersizliği sonucu, plazma homosistein düzeylerinin yükselmesi bulunmaktadır (4). Homosistein düzeylerini düşürmede, kişisel beslenmenin düzenlenmesi büyük bir önem taşımaktadır (11).

Flavonoidler çeşitli besin ve tıbbi bitkilerde bulunan ikinci metabolitlerin en yaygın olan fenolik bileşiklerdendir. Flavonoidlerin en önemli biyolojik özelliği, antioksidatif etkiye sahip olmaları gösterilmektedir. Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun, kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenleri olduğu, flavonoidlerin birçoğunun lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin oluşumunu engellediği, yapısındaki bazı grupların flavanoid radikallerinin stabilitesini ve böylece antioksidan kapasitesini artırabildiği, flavonoidlerin bunların dışında metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu önleyebildiği ve radikallerin oluşumunda

görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği belirlenmiştir (12). Kuersetin ise bitkilerde en bol bulunan flavonoid olup serbest radikal temizleme açısından tüm doğru yapısal özelliklere sahip olduğu için potansiyel bir antioksidandır (13, 14). Kuersetin aynı zamanda diğer flavonoidlerin yapı taşıdır. Kuersetinin kalp sağlığını koruyucu, kanser riskini azaltıcı, iltihap kurutucu ve antiallerjik etkileri bulunmaktadır. Kuersetin aynı zamanda hücrelere zarar veren serbest radikaller ile savaşıyor ve kötü kolesterolü düşürücü yönde etki gösterir (15).

Bu çalışma, deneysel olarak karaciğer fibrozisi oluşturulan ratların plazma homosistein düzeyi ve koroner arterlerdeki yapısal değişimleri incelemek ve bu değişimler üzerine kuersetinin etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

### Gereç ve Yöntem

Çalışma Mart 2011-Haziran 2011 tarihleri arasında yapıldı. Araştırmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden temin edilen ağırlıkları 200-300 g arasında değişen 2 aylık 40 adet Sprague-Dawley rat kullanıldı. Uygulama öncesi ratlar bir hafta boyunca adaptasyon sağlamaları açısından standart rat yemi ve su ile ad libitum olarak beslendi. Hayvanlar her grupta 10 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Buna göre araştırma grupları şu şekilde oluştu;

1. Grup (Kontrol Grubu, n=10): 10 haftalık deneme süresince her gün diğer uygulama gruplarında oluşacak olan stresi bu grupta karşılamak için oral besleme sondası ile saf zeytinyağı verilmiştir.

2. Grup [Karbon tetra klorür (CCl<sub>4</sub>) Grubu, n= 10]: 10 haftalık deneme periyodunda her gün 1 mL saf zeytinyağı içerisinde 0.25 mg/kg dozunda CCl<sub>4</sub> oral besleme sondası ile verilmiştir.

3. Grup [Kuersetin (K) Grubu, n= 10]: 10 haftalık deneme periyodunda her gün 1 mL saf zeytinyağına ilaveten 150 mg/kg dozunda kuersetin oral besleme sondası ile verilmiştir.

4. Grup [CCl<sub>4</sub>+K Grubu, n= 10]: 10 haftalık deneme periyodunda her gün 1 mL saf zeytinyağı içerisinde 0.25 mg/kg dozunda CCl<sub>4</sub> ile 150 mg/kg kuersetin oral besleme sondası ile verilmiştir.

**Örneklemlerin Toplanması:** On haftalık uygulama sonunda ratlar eter anestezisi altında dekapite edildi. Bu işlemin hemen ardından daha önceden EDTA ile yıkanmış enjektörlerle *a. femoralis*'in bifurkasyon bölgesinden girilerek yaklaşık 10-12 mL kan alındı. EDTA'lı kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan plazma kısmı polipropilen tüplere alınarak yapılacak analizler için -20 °C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

**Plazma Homosistein Düzeyinin Belirlenmesi:** Plazma homosistein düzeyleri Enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü. Prensipten: L-homosistein, enzimatik olarak S-adenozil-L-

homosisteine dönüşümü sonucu oluşan anti-SAH antikollarının ölçümüne dayanmaktadır. Ölçümler ELX800 (USA) cihazında yapılmış olup sonuçlar  $\mu\text{mol/L}$  olarak verilmiştir. Çalışmada Axis (biochemicals ASA, Normay) marka ticari kitler kullanılmıştır.

**Plazma Lipit Peroksidasyon (Malondialdehit, MDA) Düzeyinin Tayini:** Plazma lipit peroksidasyon tayini Placer ve ark. (16)'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntemle belirlendi.

Prezips: pH'nın 3.4 olduğu aerobik bir ortamda TBA ile plazmanın  $100^{\circ}\text{C}$ 'de inkubasyonu, lipit peroksidasyonun sekonder bir ürünü olan malondialdehiti oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipit peroksidasyon saptanır. Belirlenen absorbans değeri MDA standart eğrisinden ya da standart eğriden hesaplanan 0.0092 sabit rakamına bölünerek plazma MDA değeri  $\text{nmol/mL}$  olarak hesaplanır.

Standart eğri çizimi için, 1.1,3.3 tetraethoxypropane'den 10  $\mu\text{L}$  alınarak 10 mL absöüt etanolde çözülüp  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de koyu bir şişede saklandı. Bu stok solüsyondan farklı konsantrasyonlarda çalışma çözeltileri hazırlanarak standart eğri çizilir.

**Histopatolojik Metot:** Ratlardan alınan karaciğer ve kalp dokuları %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içerisine bırakılarak 24 saat süre ile tespit edildi. Bu süre sonunda kalbin koroner arterlerinin değerlendirilmesi amacıyla her rata ait kalp dokuları aynı kısımlardan geçecek şekilde transversal olarak küçültme işlemine tabi tutularak tekrar 48 saat süre tespit solüsyonuna bırakıldı. Tespit solüsyonundan alınan dokular 12 saat çeşme suyunda yıkandıktan sonra rutin klasik işlemlerden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. Bloklardan alınan 5  $\mu\text{m}$  kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eosin (H-E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (17). Oküler mikrometre yardımıyla her hayvana ait kalp kesitlerinde koroner damar çapı ve duvar kalınlıkları ölçüldü. Damar duvar kalınlığının damar çaplarına oranlaması yapıldı.

**İstatistiksel Analizler:** Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel analizinde SPSS for Windows paket programı yardımıyla çoklu grupların karşılaştırmasında varyans analizi ve Duncan testi kullanıldı (18). Araştırma sonuçlarına ait değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi.

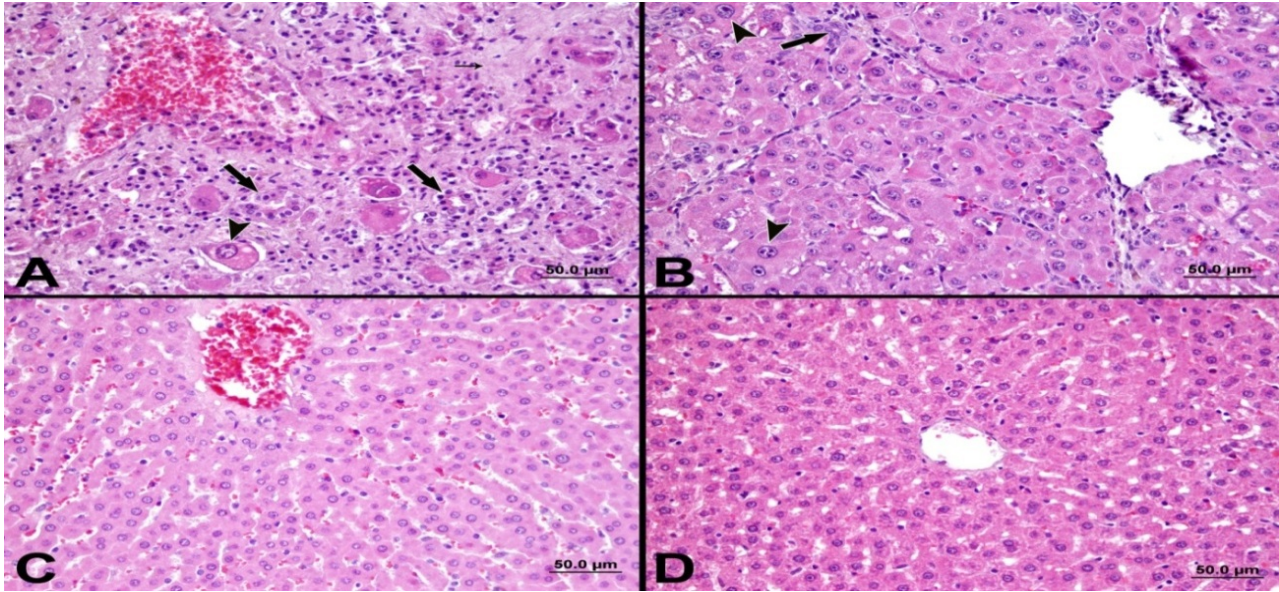
## Bulgular

**Karaciğerde Histopatolojik Bulgular:**  $\text{CCl}_4$  ve  $\text{CCl}_4+\text{K}$  gruplarında karaciğerde histopatolojik olarak bazı değişimler dikkati çekti. Tek başına  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruba ait karaciğerlerde periportal daha hafif şiddette ise

periasiner ve postnekrotik fibrozis, periportal bölgede safra kanalı proliferasyonu ile birlikte oval hücre proliferasyonları ve rejeneratif nodül formasyonları baskın değişimleri (Şekil 1A). Periportal alanlarda daha yoğun olmakla birlikte tüm fibrotik alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Ek olarak periportal bölgede belirgin Kupffer hücre aktivasyonları izlendi. Hepatositlerde tek hücre nekrozu, makroveziküler yağ dejenerasyonu, karyomegali, intranükleer inklüzyon cisimciği, apoptozis, asinüs formasyonları ile birlikte hidropik dejenerasyon dikkati çekti. Ayrıca periportal bölgedeki hepatositlerin çift çekirdeğe sahip olduğu görüldü. Periportal bölgede hepatosit sitoplazmalarında ve serbest halde sarı renkte safra pigment birikimleri mevcuttu.  $\text{CCl}_4+\text{K}$  grubunda periportal alanlarda safra kanal proliferasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon şiddeti tek başına  $\text{CCl}_4$  uygulanan grup ile benzerdi. Ancak  $\text{CCl}_4$  grubunda anılan diğer tüm lezyonların şiddeti  $\text{CCl}_4+\text{K}$  grubunda daha hafif olarak tespit edildi (Şekil 1B). Kontrol grubunda karaciğerin normal histolojik görünümde olduğu saptandı (Şekil 1C). Tek başına kuersetin uygulanan grupta ise hepatositlerde hafif şiddette hidropik dejenerasyon mevcuttu (Şekil 1D).

**Araştırma Gruplarında Plazma MDA Düzeyleri:** Araştırmada, tüm deneme gruplarına ait MDA ve homosistein düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir. MDA düzeyleri bakımından en yüksek değer 2.29 ile  $\text{CCl}_4$  grubunda belirlenirken, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). Homosistein düzeyi bakımından en yüksek değer  $\text{CCl}_4$  grubunda, en düşük değer ise Kuersetin grubunda tespit edildi ( $P<0.01$ ).

**Koroner Damarlarda Histopatolojik Bulgular:** Tüm gruplara ait ortalama damar çapları ve damar duvarı kalınlıkları ile bunların birbirine olan oranları Tablo 2'de özetlendi. İstatistiksel açıdan anılan değerler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). Mikroskobik olarak kontrol ve K gruplarına ait koroner damarlarda herhangi bir değişim kaydedilmedi (Şekil 2-5). En belirgin bulgular tek başına  $\text{CCl}_4$  verilen gruba ait hayvanlarda kaydedildi. Bu grupta koroner damarların musküler katmanında fibrinoid dejenerasyon ile birlikte kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon tespit edildi. Ek olarak belirgin perivasküler bağ doku artışının şekillendiği dikkati çekti (Şekil 4). Koroner arterlerin intima tabakasındaki endotel hücrelerinin bulanık şişme nedeniyle bazal membrandan ayrıldıkları saptandı.  $\text{CCl}_4$  ile birlikte Kuersetin verilen grupta ise tek başına  $\text{CCl}_4$  verilen gruba göre dejeneratif değişimlerin ve perivasküler bağ doku artışının daha hafif şiddette olduğu gözlemlendi (Şekil 5). Bu grupta endotel hücrelerinde belirgin bir değişime rastlanmadı.



**Şekil 1.** A. CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta hepatositlerde karyomegali (ok başı), safra kanal proliferasyonları (büyük oklar), postnekrotik fibrozis (küçük ok) ve hücre infiltrasyonları, HEx20. B. CCl<sub>4</sub>+K grubunda hafif şiddette fibrozis ve hepatositlerde karyomegali (ok başı) ve safra kanalı proliferasyonu (ok), HEx20. C. Kontrol grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü, HEx20. D. Kuersetin (K) uygulanan grupta karaciğerin histolojik görünümü, HEx20.

**Tablo 1.** Ratlarda MDA ve homosistein düzeyleri, (n=10) (X±Sx)

Parametreler	Kontrol	CCl <sub>4</sub>	K	CCl <sub>4</sub> +K	P
MDA (nmol/mL)	1.77±0.14 <sup>b</sup>	2.29±0.49 <sup>a</sup>	1.62±0.07 <sup>b</sup>	1.82±0.06 <sup>b</sup>	*
Homosistein (µmol/L)	3.73±0.11 <sup>bc</sup>	4.64±0.29 <sup>a</sup>	3.33±0.18 <sup>c</sup>	3.93±0.19 <sup>b</sup>	**

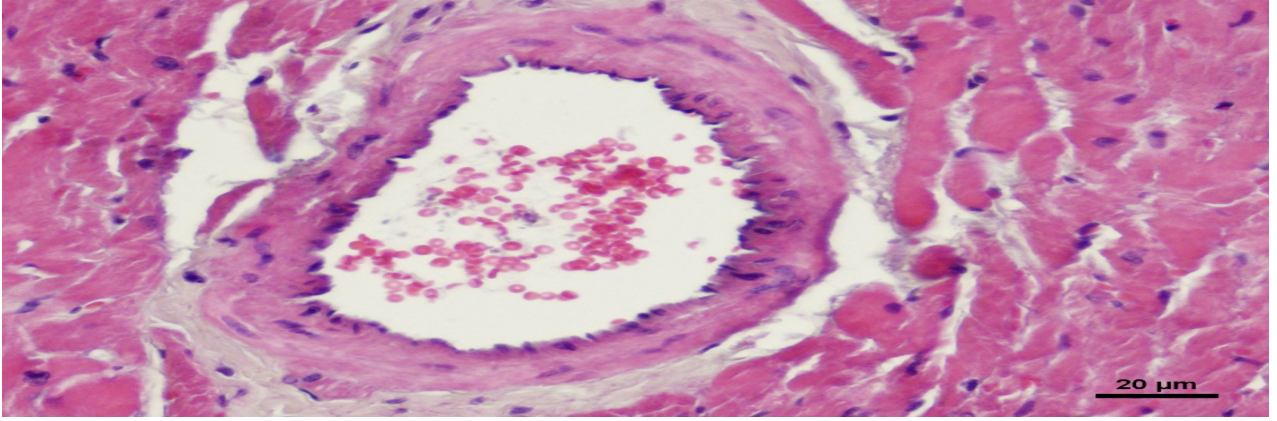
\*: P<0.05, \*\*: P<0.01,

a, b, c: Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

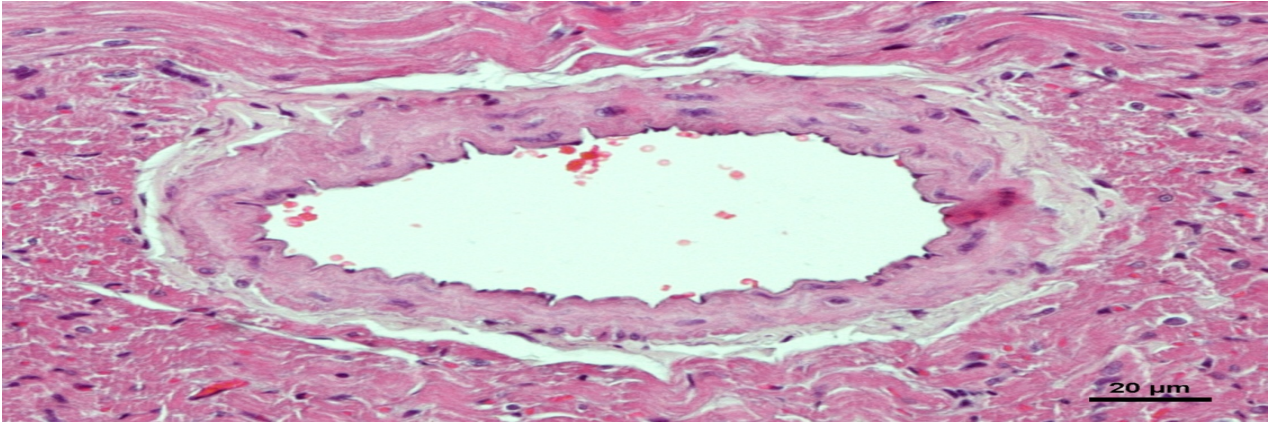
**Tablo 2.** Koroner damarların histolojisine ait bulgular, (n=10) (X±Sx)

Parametreler	Kontrol	CCl <sub>4</sub>	K	CCl <sub>4</sub> +K	P
Ortalama Koroner Arter çapı (µm)	110.19±6.92	109.81±8.86	112.12±9.18	105.19±6.78	ÖD
Ortalama Koroner Arter duvar kalınlığı (µm)	24.04±1.37	27.12±2.37	25.58±1.70	27.31±1.85	ÖD
Çeper kalınlığı (µm) x 100/Çap (µm)	22.21±1.05	25.38±1.98	24.66±2.24	27.36±1.96	ÖD

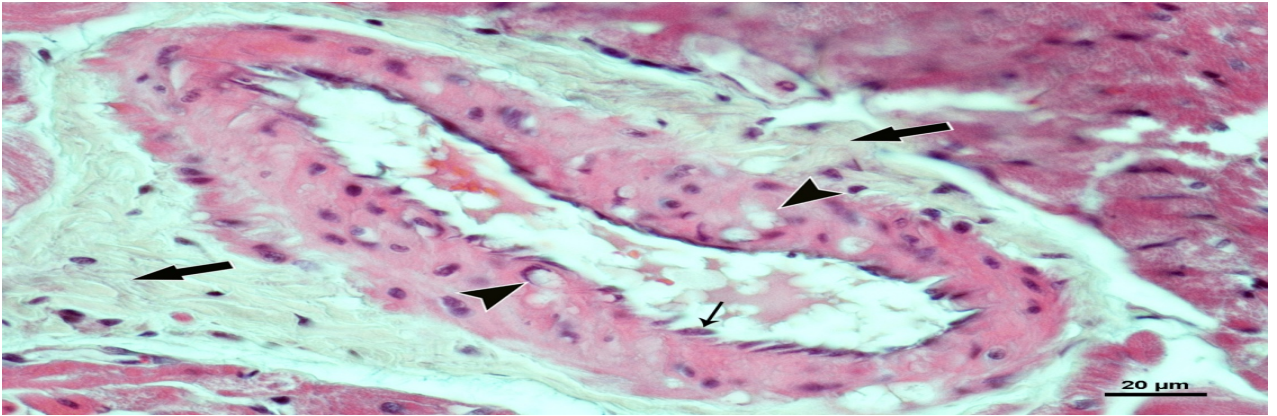
ÖD: P>0.05.



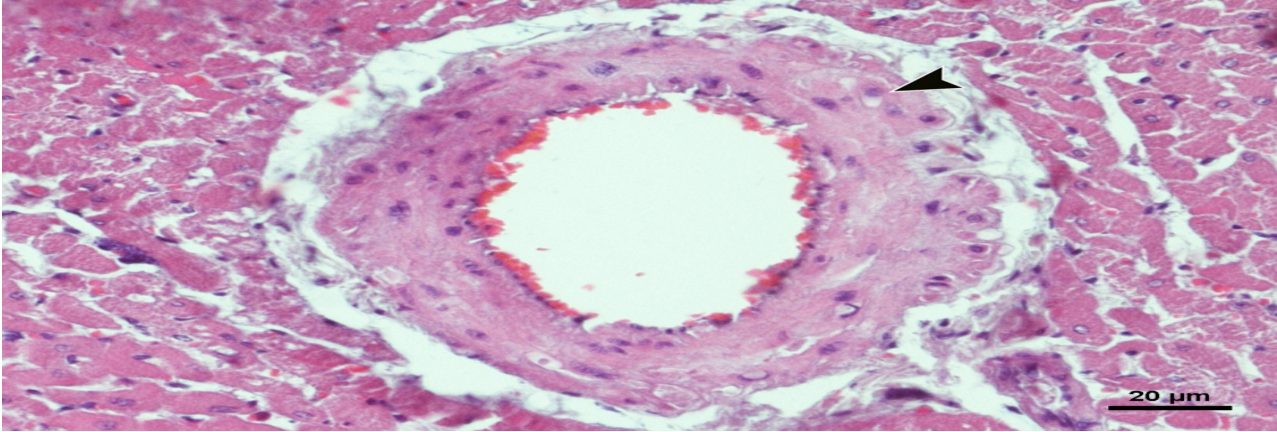
Şekil 2. Kontrol grubunda koroner arterin görünümü, H-E



Şekil 3. Kueretin grubunda koroner arter kesitinin görünümü, H-E



Şekil 4. CCl<sub>4</sub> grubunda muskuler tabakada şiddetli fibrinoid dejenerasyon ile birlikte kas hücrelerinde vakuoler dejenerasyon (ok başları), endotel hücrelerinde şişme (küçük ok) ve perivasküler bağ doku artışı (büyük ok), H-E



**Şekil 5.** CCl<sub>4</sub>+Kuersetin grubunda koroner arterin muskuler tabakasında hafif şiddette fibrinoid dejenerasyon ve kas hücrelerinde hidropik dejenerasyon (ok başı), H-E

### Tartışma

Kolesterol, diyabet, yüksek kan basıncı, alkol ve sigara kullanımı gibi kardiyolojik risk faktörleri bulunmadığı halde kalp damar rahatsızlığı oluşan kişilerde değişik nedenler üzerine yoğunlaşmış ve günümüzde özellikle homosistein düzeyleri damar tıkanıklığının oluşumu yönünden önem kazanmıştır (19-21). Homosistein, özellikle diyetle fazla et tüketimi ile birlikte kandaki seviyesi artan bir aminoasittir. Koroner arter ve periferel damarların iç yüzeyini döşeyen hücrelere zarar verir ve kanın pıhtılaşma mekanizmasını etkileyerek kalp krizi ve üreme riskini artırır. Kandaki homosistein artışının, erken yaşta başlayan ve tekrarlayıcı nitelikte olan tromboembolik damar hastalıklarının zeminini "tek başına" oluşturduğunu göstermiştir. Homosistein seviyesinin hafif düzeyde bile artması bu tıkaçıcı mekanizmaları uyarabilmektedir. Homosistein normal plazma düzeyi 5-15 µmol/L olarak kabul edilmektedir. Bu düzey; gerek metabolizmadaki genetik bozukluklara (enzim defektleri gibi), kronik hastalıklar; yaş cinsiyet gibi kişisel özellikler, gerekse vitamin ve beslenme eksiklikleri ve bazı ilaçların alımından etkilenmektedir. Tıp dünyasında kolesterol kadar, hatta ondan daha tehlikeli görülen homosistein, vasküler hastalıkların oluşumunda gittikçe önem kazanmaktadır. Vasküler rahatsızlıkların da ölüm ve diğer hastalıkların oluşumunda en önemli risk faktörleri olduğu bilinmektedir (22, 23).

Metiyonin metabolizmasının esansiyel ara metaboliti olan homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğer önemli bir rol oynamaktadır. Metiyoninin büyük kısmı bu organda metabolize edilir. Karaciğer, metiyonin ve homosistein metabolizmasında etkili genlere sahiptir. Özellikle homosisteinin metabolizmasında rol oynayan MAT sadece karaciğerde bulunurken, BHMT ve CBS'nin büyük kısmı karaciğerde sentezlenmektedir. Bunlardan dolayı karaciğer rahatsızlıkları homosistein metabolizmasını önemli derecede bozmaktadır (24, 25).

Bu bilgiler ışığında, CCl<sub>4</sub> kullanılarak ratlarda karaciğer fibrozisi oluşturulmuştur. Karaciğer hasarına bağlı olarak homosistein düzeylerindeki ve kalp damarlarının morfolojik yapılarındaki değişimler incelenmiş ve antioksidan özelliği bilinen kuersetinin bu değişimler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

CCl<sub>4</sub>'ün vücutta değişime uğradığı ve işlendiği en önemli organın karaciğer olduğu ve bu yüzden CCl<sub>4</sub>'den en fazla karaciğerin etkilendiği birçok literatür bilgiyle desteklenmektedir (26-30). Karaciğerde CCl<sub>4</sub> ile aktif hale gelen sitokrom P450 enziminin etkisiyle triklormetil radikalinin oluştuğu ve oluşan triklormetil radikalinde oksijen ile reaksiyona girerek yüksek toksisiteye sahip ve karaciğer dokusuna zarar veren bir madde olan reaktif triklormetil peroksil radikaline dönüşerek etkiler oluşturduğu belirtilmiştir (31). Karaciğer dejenerasyonunun değişik şekilleri, oksidatif stres ve buna bağlı oluşan serbest radikallerle oluşmaktadır (32, 33). Oluşan bu zararlı maddelerin lipid peroksidasyonu artırdığı ve bu yolla hepatositlerin hücre membranlarının yıkılmasına sebep oldukları bilinmektedir (34). Çalışmada karaciğerin histolojik kesitleri incelendiğinde (Şekil 1), CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub> ile birlikte kuersetin uygulanan gruplarda karaciğerde histopatolojik olarak bazı değişimler belirlenmiştir. Tek başına CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerlerde periportal daha hafif şiddette ise periasiner ve postnekrotik fibrozis, periportal bölgede safra kanalı proliferasyonu ile birlikte oval hücre proliferasyonları ve rejeneratif nodül formasyonları baskın değişimler olarak belirlenmiştir (Şekil 1A). Periportal alanlarda daha yoğun olmakla birlikte tüm fibrotik alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonunun mevcut olduğu ve ek olarak periportal bölgede belirgin Kupffer hücre aktivasyonları izlenmiştir. Hepatositlerde tek hücre nekrozu, makroveziküler yağ dejenerasyonu, karyomegali, intranükleer inklüzyon cisimciği, apoptozis, asinüs formasyonları ile birlikte hidropik dejenerasyon dikkati çekmiştir. Ayrıca periportal bölgedeki hepatositlerin çift çekirdeğe sahip olduğu görülmüştür. Periportal bölgede hepatosit sitoplazmalarında ve

serbest halde sarı renkte safra pigment birikimleri belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular CCl<sub>4</sub> uygulaması sonrası akut karaciğer toksisitesine ait literatür bildirimleriyle paralellik göstermektedir (35-37).

CCl<sub>4</sub>'ün karaciğerde işlenmesi sırasında oluşan reaktif triklormetil peroksil radikali (31), özellikle doymamış yağ asitlerini içerenler başta olmak üzere membran lipidlerini etkileyerek, enerji metabolizmalarının ve protein sentezinin bozulmasına neden olarak karaciğer hasarının ilerlemesine sebep olmaktadır (18, 38). Lipid peroksidasyon, serbest radikallerin oluşturmuş olduğu en önemli etkidir (39). Hem deneysel hem de klinik çalışmalar lipid peroksidasyonun karaciğer fibrozis gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (40). Çalışma sonuçları incelendiğinde (Tablo 1), CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplardaki MDA düzeylerinin, kontrol ve kuersetin gruplarına kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir (P<0.05). Elde edilen bu bulgular CCl<sub>4</sub>'ün lipid peroksidasyonu artırdığı yönündeki literatür bilgileri ile uygunluk göstermektedir (41-46).

Homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğerin önemli bir yeri vardır. Çünkü homosisteinin metabolizmasında rol oynayan MAT sadece karaciğerde bulunurken, BHMT ve CBS'nin büyük çoğunluğu karaciğerde sentezlenmektedir. Bu nedenlerle karaciğer hasarı oluştuğunda homosisteinin metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir (24, 25). Çalışma sonuçları incelendiğinde (Tablo 1), plazma homosistein düzeyi, CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplarda, kontrol ve kuersetin gruplarına kıyasla anlamlı şekilde (P<0.01) yüksek bulunmuştur. Karaciğer hasarı bulunan canlılarda homosistein düzeylerinin yüksek olduğunu belirten literatür bildirimleriyle bulguların benzer olduğu görülmektedir (47-50).

Plazma homosistein düzeylerinin artışına bağlı olarak kardiyovasküler sistemlerdeki değişimlerin incelendiği bazı çalışmalarda; karotid arterlerde intimal hiperplaziye ve hücre proliferasyonuna sebep olduğu (51), plazma total homosistein miktarları ile karotid arterlerin duvar kalınlığı arasında pozitif bir ilişkinin var olduğu (52), atheroskleroz riskinin ve lipid peroksidasyonun artmış olduğu (53), kardiyovasküler hastalıkların artışı, plazma homosistein ve koagülasyon etmenleriyle birlikte olduğunu (54), homosisteinin endotelial hücrelerde yaşlanmayı önemli oranda hızlandırdığı (55) belirtilmiştir.

## Kaynaklar

1. Gupte P, Amarapurkar D, Agal S, et al. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 854-858.
2. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; 14: 173-94.
3. Sonsuz A, Caner M, Gırakar M. Fibrojenin hücresel temelleri ve karaciğer sirozu. *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi* 1992; 23: 79-85.

Çalışmadaki damarlarının patolojik bulguları incelendiğinde (Tablo 2, Şekil 4 ve 5) en belirgin bulguların sadece CCl<sub>4</sub> verilen gruba ait hayvanlarda kaydedildiği ve koroner damarların musküler katmanında fibrinoid dejenerasyon ile birlikte kas hücrelerinde vakuoller dejenerasyon tespit edildiği, ayrıca belirgin perivasküler bağ doku artışının şekillendiği gözlenmiştir (Şekil 4). Aynı koroner arterlerin intima tabakasındaki endotel hücrelerinin bulanık şişme nedeniyle bazal membranda ayrılmanın olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu bulgular, plazma homosistein düzeyinin artışına bağlı olarak damar yapısında meydana gelen patolojik değişimlerin incelendiği çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (51-55).

Kuersetinin antioksidan özelliğinden dolayı koroner arter rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, atheroskleroz ve kalp krizleri gibi kardiyovasküler sistem rahatsızlıkları üzerine olumlu etkileri olduğu ayrıntılı bir şekilde olmasa da birçok çalışmada belirtilmiştir (56-61). Homosistein MDA düzeyinin artması ve bunun sonucu oluşan oksidatif stresin farklı organlarda endotel hasarına yol açtığı belirtilmiştir (56, 57). Etkili bir antioksidan olan kuersetin, oksijen radikalleri süpürücüsü, lipid peroksidasyonu ve şelat metal iyonlarına karşı hücreleri koruması gibi özellikleriyle oksidan hasar ve hücre ölümlerini engellediği belirtilmiştir (62-64). Çalışma sonuçları incelendiğinde (Tablo 1) CCl<sub>4</sub> uygulanan gruptaki ratların plazma MDA değerlerinin, kontrol ve kuersetin gruplarına kıyasla artış gösterdiği, buna karşılık kuersetin uygulanan gruplarda ise plazma MDA değerlerinin anlamlı bir azalış gösterdiği tespit edilmiştir. CCl<sub>4</sub> ile birlikte kuersetin verilen ratların damar patolojisine ait bulguların sadece CCl<sub>4</sub> verilerek karaciğer hasarı oluşturulan ratlar ile karşılaştırıldığında daha hafif şiddette olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5).

Sonuç olarak; çeşitli sebeplerden dolayı lipid peroksidasyon oluşumunun artması karaciğer hasarına ve bu hasarında plazma homosistein düzeyinde artışa ve koroner damarlarda patolojik lezyonlara sebep olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan özelliği bulunan kuersetin maddesinin ise lipid peroksidasyon ürünleri üzerine indirgeyici bir etki gösterdiği ve ayrıca kalp damarlarında oluşabilecek dejeneratif değişiklikleri önleyebileceği kanaatine varılmıştır.

4. Scheuer PJ, Lefkowitz JH. The normal liver. In: Scheuer PJ, Lefkowitz JH. (Editors). *Liver Biopsy Interpretation*. 5th Edition, London: WB Saunders 2000: 36-50.
5. Ko SF, Lee TY, Ng SH, et al. Unusual liver MR findings of Wilson's disease in an asymptomatic 2-year-old girl. *Abdom Imaging* 1998; 23: 56-59.
6. Hoofnagel JE, Alter HJ. Chronic viral hepatitis. In: Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagel JH. (Editors). *Viral Hepatitis and Liver Disease*. New York: Grune and Stratton 1984: 97-113.

7. De La Haba G, Cantoni GL. The enzymatic synthesis of S-Adenosyl-L-Homocysteine from adenosine and homocysteine. *J Biol Chem* 1959; 234: 603-608.
8. Paxton R, Scislowski PWD, Davis EJ, Harris RA. Role of branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase in 2-oxobutyrate metabolism. *Biochem J* 1986; 234: 295-303.
9. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128.
10. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded findings 356222 primary screeners of the multiple risk factor intervention trial (MRFIT). *JAMA* 1986; 256: 2823-2828.
11. Morita H, Taguchi J, Kurihara H. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 1997; 95: 2032-2036.
12. Fang Z, Zhang M, Wang L. HPLC-DAD-ESI-MS analysis of phenolic compounds in Bayberries (*Myrica rubra Sieb. et Zucc.*). *Food Chem* 2007; 100: 845-852.
13. Karakaya S, El SN. Flavonoidler ve sağlık. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 1997; 26: 54-60.
14. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63: 1035-1042.
15. Erkoç Ş, Erkoç F, Keskin N. Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. *J Mol Struct* 2003; 631: 141-146.
16. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
17. Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 3th Edition, London: Churchill Livingstone, 1990.
18. Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu VD. *Bioistatistik 4*. Baskı Özdemir Yayıncılık LTD. ŞTİ. Ankara 1993.
19. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease probable benefits of increasing folic acid intakes. *J Am Med Assoc* 1995; 274: 1049-1057.
20. Chen P, Poddar R, Tipa EV, et al. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: Implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Advan Enzyme Regul* 1999; 39: 93-109.
21. Refsum H, Ueland P, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62.
22. James DF, John JM. Homocysteine. *Int J Biochem Cell B* 2000; 32: 385-389.
23. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.
24. James DH, Rene LJ, Lori MS, Margaret EB, John TB. Regulation of homocysteine metabolism. *Advan Enzyme Regul* 1999; 39: 69-91.
25. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228-237.
26. Allison JM. Microbiology of rumen and small and large intestines. In: Swenson MJ. (Editor). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. 10th Edition. USA: Vail-Ballow 1984: 262- 398.
27. Altunbaş Y, Güven M, İnce E, et al. The in vitro effects of captopril on the levels of lipid peroxidation and glutathion of erythrocytes in type II diabetics. *Tr J Med Sci* 1996; 26: 139-142.
28. Amatayakul K, Uttaravichai C, Singkamani R, Ruckphaopunt S. Vitamin metabolism and the effects of multivitamin supplementation in oral contraceptive users. *Contraception* 1984; 30: 179-196.
29. Aqel NM, Ball RY, Waldman H, Mitchinson MJ. Identification of macrophages and smooth muscle cell in human atherosclerosis using monoclonal antibodies. *J Pathol* 1985; 146: 197-200.
30. Arendt J, Deacon S, English J, Hampton S, Morgan L. Melatonin and adjustment to phase shift. *J Sleep Res* 1995; 4: 74-79.
31. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, et al. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 704-709.
32. Brattin WJ, Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1985; 1: 27-28.
33. Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest* 1985; 53: 599-623.
34. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219: 1-14.
35. Hu YY, Liu P, Liu C, et al. Actions of salvianolic acid A on CCl4-poisoned liver injury and fibrosis in rats. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 1997; 18: 478-80.
36. Natsume M, Tsuji H, Harada A, et al. Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbon tetrachloride-treated IL-6-deficient mice. *J Leukoc Biol* 1999; 66: 601-608.
37. Rivera CA, Bradford BU, Hunt KJ, et al. Attenuation of CCl4-induced hepatic fibrosis by GdCl(3) treatment or dietary glycine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: 200-207.
38. Arthur JR. Nutritional interrelationships between selenium and vitamin E. *Rep Rowett Inst* 1982; 38: 124-135.
39. Bast A, Haenen G, Daelman J. Oxidants and antioxidants. *State Art Am J Med* 1991; 91: 2-13.
40. Baydas G, Ercel E, Canatan H, Donder E, Akyol A. Effect of melatonin on oxidative status of rat brain, liver and kidney tissues under constant light exposure. *Cell Biochem Funct* 2001; 19: 37-41.
41. Abraham P, Wilfred G, Cathrine SP. Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. *Clin Chim Acta* 1999; 289: 177-179.
42. Fadhel ZA, Amran S. Effects of black tea extract on carbon tetrachlorideinduced lipid peroxidation in liver, kidneys and testes of rats. *Phytother Res* 2002; 16: 28-32.



43. Castilla-Cortazar I, Diez N, Garcia-Fernandez M, et al. Hematotesticular barrier is altered from early stages of liver cirrhosis: effect of insulin-like growth factor 1. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2529-2534.
44. Khan RA. Protective effects of *Launaea procumbens* on rat testis damage by CCl<sub>4</sub>. *Lipids Health Dis* 2012; 11: 103.
45. Khan MR, Ahmed D. Protective effects of *Digera muricata* (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1393-1399.
46. Soliman AM, Fahmy SR. Protective and curative effects of the 15 KD isolated protein from the *Peganum harmala* L. seeds against carbon tetrachloride induced oxidative stress in brain, testes and erythrocytes of rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 888-899.
47. Canoruç N, Canoruç F, Çetin A, ve ark. Karaciğer hastalıklarında (Siroz veya Hepatit) homosistein ve selenyum düzeyleri. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2006; 5: 26-30.
48. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine a risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 473-501.
49. Stickel F, Choi SW, Kim YI, et al. Effect of chronic alcohol consumption on total plasma homocysteine level in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 259-264.
50. Ji C, Kaplowitz N. Hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and alcoholic liver injury. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1699-1708.
51. Chen C, Surowiec SM, Morsy AH, Ma M. Intraperitoneal infusion of homocysteine increases intimal hyperplasia in ballooninjured rat carotid arteries. *Atherosclerosis* 2002; 160: 103-114.
52. Tsai MY, Arnett DK, Eckfeldt JH, Williams RR, Ellison RC. Plasma homocysteine and its association with carotid intimal-medial wall thickness and prevalent coronary heart disease: NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 2000; 151: 519-524.
53. Toborek M, Kopieczna-Grzebieniak E, Drozd M, Wieczorek M. Increased lipid peroxidation as a mechanism of methionineinduced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1995; 115: 217-224.
54. Kario K, Duell PB, Matsuo T, et al. High plasma homocysteine levels in elderly Japanese patients are associated with increased cardiovascular disease risk independently from markers of coagulation activation and endothelial cell damage. *Atherosclerosis* 2001; 157: 441-449.
55. Xu D, Neville R, Finkel T. Homocysteine accelerates endothelial cell senescence. *FEBS Letters* 2000; 470: 20-24.
56. Lin R, Liu J, Gan W, Ding C. Protective effect of quercetin on the homocysteine-injured human umbilical vein vascular endothelial cell line (ECV304). *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2007; 101: 197-202.
57. Gan WJ, Liu JT, Lin R. The protective effect of quercetin on the vascular endothelial cells injured by homocysteine in rabbits. *Chinese Pharmacol Bull* 2004; 20: 647-651.
58. Safari MR, Sheikh N. Effects of flavonoids on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 69: 73-80.
59. Lin CM, Chen CT, Lee HH, Lin JK. Prevention of cellular ROS damage by isovitexin and related flavonoids. *Planta Med* 2002; 68: 365-367.
60. Perez-Vizcaino F, Ibarra M, Cogolludo AL, et al. Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302: 66-72.
61. Kempuraj D, Madhappan B, Christodoulou S, et al. Flavonols inhibit proinflammatory mediator release, intracellular calcium ion levels and protein kinase C phosphorylation in human mast cells. *Br J Pharmacol* 2005; 145: 934-944.
62. Decharneux T, Dubois F, Beauloye C, et al. Effect of various flavonoids on lysosomes subjected to an oxidative or an osmotic stress. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1243-1248.
63. Erden IM, Kahraman A. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet induced oxidative stress in rats. *Toxicology* 2000; 154: 21-29.
64. Molina MF, Sanchez-Reus I, Iglesias I, Benedi J. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 1398-402.