

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA SUBAKUT ALKOL KULLANIMINA BAĞLI
GELİŞEN KARACİĞER FİBROZİSİNDE İDEBENON VE
KOENZİM Q10'UN ETKİSİNİN NLRP3 İNFLAMAZOM
AKTİVİTESİ ÜZERİNDEN İNCELENMESİ**

Ecz. Fatma Betül YOLADI

**Farmasötik Toksikoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2024**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA SUBAKUT ALKOL KULLANIMINA BAĞLI
GELİŞEN KARACİĞER FİBROZİSİNDE İDEBENON VE
KOENZİM Q10'UN ETKİSİNİN NLRP3 İNFLAMAZOM
AKTİVİTESİ ÜZERİNDEN İNCELENMESİ**

Ecz. Fatma Betül YOLADI

Farmasötik Toksikoloji Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Terken BAYDAR

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Şaziye Sezin YÜCELİK

ANKARA

2024

ONAY SAYFASI**SIÇANLARDA SUBAKUT ALKOL KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN
KARACİĞER FİBROZİSİNDE İDEBENON VE KOENZİM Q10'UN
ETKİSİNİN NLRP3 İNFLAMAZOM AKTİVİTESİ ÜZERİNDEN
İNCELENMESİ****Ecz. Fatma Betül YOLADI****Danışman: Prof. Dr. Terken BAYDAR****II. Danışman: Prof. Dr. Şaziye Sezin YÜCELİK**

Bu tez çalışması 12/06/2024 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Toksikoloji Doktora Programı"nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Aylin GÜRBAY
Hacettepe Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Pınar ERKEKOĞLU
Hacettepe Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ
Ankara Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Hande SİPAHI
Yeditepe Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Gözde GİRGİN
Hacettepe Üniversitesi

13 Haziran 2024

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren .. ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

13/06/2024

Ecz. Fatma Betül YOLADI

1 “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*”

- (1) *Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.*
- (2) *Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.*
- (3) *Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir*

** Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.*

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurullar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Terken BAYDAR ve Prof. Dr. Şaziye Sezin YÜCELİK danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Ecz. Fatma Betül YOLADI

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca çok kıymetli bilgi, birikim ve deneyimlerini benden esirgemeyen, öğrencisi olmaktan büyük bir onur ve mutluluk duyduğum çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Terken BAYDAR'a,

Doktora eğitimimin ilk gününden itibaren bana her yönüyle destek olan ve en ufak sorunlarımda bana yol gösteren, değerli zamanını, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, öğrencisi ve asistanı olmaktan her zaman gurur duyduğum değerli hocam ve ikinci danışmanım Prof. Dr. Şaziye Sezin YÜCELİK'e,

Tez çalışmam kapsamında laboratuvar çalışmalarımı yapabilmem için her türlü imkanı sağlayan ve tezime bilimsel katkıları ile destek veren Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Elif ÇADIRCI'ya ve Prof. Dr. Yasin BAYIR'a,

Beni koşulsuz sevgi ve fedakarlıkla yetiştirerek bugünlere getiren, bana her zaman güvenen, inanan ve destek olan, hayattaki en büyük şansım sevgili annem Ayşe İSPİR ve babam Prof. Dr. Naci İSPİR'e, sonsuz motivasyon ve destekleri ile yanımda olan canım kardeşlerim Uzm. Dyt. Kübra İSPİR ve Yusuf Onur İSPİR'e,

Bu süreçte stresimi, sevincimi, üzüntümü paylaştığım, tezi bitirebilmem için her anlamda yanımda olan değerli eşim Mehmet YOLADI'ya ve varlığıyla hayatıma anlam katan oğlum Talha YOLADI'ya,

Sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmektedir. Proje no: TDK-2021-9019

ÖZET

YOLADI, F.B., Sıçanlarda Subakut Alkol Kullanımına Bağlı Gelişen Karaciğer Fibrozisinde İdebenon ve Koenzim Q10'un Etkisinin NLRP3 İnflamazom Aktivitesi Üzerinden İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Ciddi bir sağlık sorunu olan karaciğer fibrozisinin temel nedenlerinden biri aşırı miktarda kronik alkol tüketimidir. Koşullara bağlı olarak geri döndürülebilir bir süreç olan karaciğer fibrozisin ilerlemesini yavaşlatabilen, durdurabilen veya tersine çevirebilen anti-fibrotik tedaviler oldukça önemlidir. Kronik etanol tüketimi, aşırı NLRP3 inflamazom aktivasyonu yoluyla karaciğer hasarını tetikler. Koenzim Q10 (CoQ10) ve onun sentetik analogu olan idebenonun (İDE) güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir; ancak, CoQ10 ve İDE'nin etanole bağlı karaciğer fibrozisinde NLRP3 inflamazom yolağı üzerindeki hepatoprotektif etkileri araştırılmamıştır. Bu doktora tez çalışması kapsamında, CoQ10 ve İDE'un etanolün neden olduğu karaciğer fibrozisine karşı koruyucu etkilerinin sıçanlarda NLRP3 inflamazom yolağı üzerinden araştırılması amaçlanmıştır. 30 gün boyunca kademeli olarak artan dozlarda (2-6 g/kg/gün) oral etanol uygulanarak Wistar sıçanlarda karaciğer fibrozisi oluşturulmuştur. Fibroz oluşturulan sıçanlarda CoQ10'un (10 ve 20 mg/kg) ve İDE'un (50 ve 100 mg/kg) etkileri hepatotoksisite serum belirteçleri (ALT, AST, GGT, ALP ve TBIL) ve doku oksidatif stres belirteçleri olan süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD) ve glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) düzeyleri değerlendirilmiştir. Karaciğer dokusunda fibrozisi histopatolojik olarak değerlendirmek için Masson'un trikrom boyaması kullanılmıştır. Moleküler analiz için TGF- β , NF- κ B, IL-1 β , IL-18, NLRP3 ve kaspaz-1'in mRNA ekspresyonları RT-PCR yöntemiyle ölçülmüştür. Elde edilen bulgular, etanol maruziyetinin hepatotoksisiteye yol açarak NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β yolağını aktive ettiğini göstermiştir. CoQ10 ve İDE'nin ise değerlendirilen tüm parametrelerde doz bağımlı bir iyileşmeye neden olduğunu ancak CoQ10'un daha etkili olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, CoQ10 ve İDE'nin, NLRP3 aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla etanolün neden olduğu karaciğer fibrozisini önlediği yönünde yorumlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Etanol, karaciğer fibrozisi, koenzim Q10, idebenon, NLRP3

ABSTRACT

YOLADI, F.B., Investigation of the Effects of Idebenone and Coenzyme Q10 on Liver Fibrosis Due to Subacute Alcohol Use in Rats through NLRP3 Inflammasome Activity, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Pharmaceutical Toxicology Program PhD Thesis, Ankara, 2024. One of the main causes of liver fibrosis, a serious health problem, is excessive chronic alcohol consumption. Antifibrotic treatments that can slow, stop or reverse the progression of liver fibrosis are very important. Chronic ethyl alcohol consumption triggers liver damage through excessive NLRP3 inflammasome activation. Coenzyme Q10 (CoQ10) and its synthetic analogue idebenone (IDE) are known for their strong antioxidant effects. However, the hepatoprotective effects of CoQ10 and IDE on the NLRP3 inflammasome signalling pathway in ethyl alcohol-induced liver fibrosis have not yet been investigated. Liver fibrosis was induced in Wistar rats by oral administration of ethyl alcohol in gradually increasing doses (2-6 g/kg/day) over 30 days. The effects of CoQ10 (10 and 20 mg/kg) and IDE (50 and 100 mg/kg) on serum markers of hepatotoxicity (ALT, AST, GGT, ALP ve TBIL) and markers of tissue oxidative stress (superoxide dismutase, glutathione and malondialdehyde) were investigated in rats with fibrosis. Masson's trichrome staining was used to visualize fibrosis in liver tissue. For molecular analysis, mRNA expressions of TGF- β , NF- κ B, IL-1 β , IL-18, NLRP3 and caspase-1 were measured by RT-PCR method. The findings showed that ethyl alcohol exposure activated the NLRP3/caspase-1/IL-1 β pathway, causing hepatotoxicity. It was shown that CoQ10 and IDE caused a dose-dependent improvement in all evaluated parameters, but CoQ10 was more effective. The results were interpreted that CoQ10 and IDE prevented ethyl alcohol-induced liver fibrosis through inhibition of NLRP3 activation.

Keywords: Ethanol, liver fibrosis, coenzyme Q10, idebenone, NLRP3

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Etanol	4
2.1.1. Etanolün Oral Absorbsiyonu	4
2.1.2. Etanolün Dağılımı	5
2.1.3. Etanolün Biyotransformasyonu	5
2.1.4. Etanolün Eliminasyonu	7
2.1.5. Etanolün Toksikitesi	7
2.2. Karaciğerin Yapısı ve Fonksiyonları	9
2.3. Karaciğer Fibrozisi	11
2.3.1. Karaciğer Fibrozisinin Patojenezi	12
2.4. Karaciğer Hasarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler	14
2.4.1. Gama Glutamil Transferaz (GGT)	14
2.4.2. Alanin Aminotransferaz (ALT)	14
2.4.3. Aspartat Aminotransferaz (AST)	15
2.4.4. Alkalen Fosfataz (ALP)	15
2.4.5. Total Bilirubin (TBIL)	16
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	17
2.5.1. Endojen Antioksidanlar	17
2.5.2. Ekzojen Antioksidanlar	19

2.6. İnflamazomlar	20
2.6.1. NLR3 İnflamazomu ve Aktivasyonu	21
2.6.2. Karaciğer Fibrozisinde İnflamazomların Rolü	23
2.7. Koenzim Q10 (CoQ10)	25
2.8. İdebenon	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Gereçler	29
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	29
3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	30
3.2. Deney Hayvanları	31
3.3. Yöntemler	31
3.3.1. Deney Planı	31
3.3.2. Biyokimyasal Analizler	33
3.3.3. Moleküler Analizler	38
3.3.4. Histopatolojik Analizler	40
3.3.5. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1. Biyokimyasal Bulgular	42
4.1.1. Hepatotoksisite Belirteçleri	42
4.1.2. Oksidatif Stres Belirteçleri	51
4.2. Moleküler Bulgular	56
4.3. Histopatoloji Bulguları	66
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
7. KAYNAKLAR	80
8. EKLER	97
EK 1. Etik Kurul Onayı	
EK 2. Orjinallik Ekran Görüntüsü	
EK 3. Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	101

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADH	Alkol Dehidrojenaz
AIM	Melanomda Olmayan (<i>Absent in Melanoma</i>)
ALDH	Aldehit Dehidrojenaz
ALP	Alkalen Fosfataz
ALR	AIM Benzeri Reseptör
ALT	Alanin Aminotransferaz
ASC	Apopitoz İlişkili Benek Benzeri Protein (<i>Apoptosis-associated speck like protein</i>)
AST	Aspartat Aminotransferaz
BSA	Sığır Serum Albumin (<i>Bovine Serum Albumine</i>)
CARD	Amino Terminalinde Kaspaz Alımı
CAT	Katalaz
cDNA	Complementary DNA
CLR	C Tipi Lektin Reseptör
CO₂	Karbondioksit
CoQ10	Koenzim Q10
Cu	Bakır
CYP	Sitokrom
DAMP	Hasar İlişkili Moleküler Kalıplar (<i>Damage-Associated Molecular Pattern Molecules</i>)
dNTPaz	Deoksinükleotid Trifosfataz
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	5,5'-ditiyobis (2- nitrobenzoik asit)
ECM	Hücre Dışı Matriks (<i>Extracellular matrix</i>)
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
ETFDH	Elektron Transfer Flavoprotein-Ubikinon Dehidrojenaz
FA	Yağ Asitleri (<i>Fatty Acids</i>)
FAEE	Yağ Asidi Etil Ester (<i>Fatty Acid Ethyl Ester</i>)
GABA	Gama-aminobütirik Asit
GCL	Glutamin-sistein Ligaz
GGT	Gama-glutamil Transferaz

GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSS	Glutasyon Sentetaz
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HBV	Hepatit B Virüs
HCC	Hepatoselüler Karsinom
HCV	Hepatit C Virüs
HSC	Hepatik Yıldızsı Hücre (<i>Hepatic Stellate Cell</i>)
IL	İnterlökin
IRI	İskemi-Reperfüzyon Hasarı
İDE	İdebenon
LRR	Lösin Zengini Tekrarlar (<i>Leucine-rich Repeats</i>)
MDA	Malondialdehit
MEOS	Mikrozomal Etanol Oksitleyici Sistem
MMP	Matriks-metaloproteinaz
Mn	Manganez
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NAFLD	Alkolden Bağımsız Yağlı Karaciğer Hastalığı (<i>Nonalcoholic Fatty Liver Disease</i>)
NASH	Alkolden Bağımsız Steatohepatit (<i>Nonalcoholic Steatohepatitis</i>)
NBT	Nitroblue Tetrazolium
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
NLR	NOD Benzeri Reseptör
NLRP3	Nod Benzeri Reseptör Protein 3
NOD	Nükleotid Bağlı Oligomerizasyon Alanı
O₂	Oksijen
PAMP	Patojen İlişkili Moleküler Kalıplar (<i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>)
PBS	Fosfat Tamponlanmış Tuz (<i>Phosphate-Buffered Saline</i>)
PDGF	Trombosit Türevli Büyüme Faktörü (<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>)
PLD	Fosfolipaz D

p.o.	Ağızdan
PRR	Kalıp Tanıma Reseptörü (<i>Pattern Recognition Receptor</i>)
RIG-I	Retinoik Asitle İndüklenebilir Gen-I
RLR	RIG-I Benzeri Reseptör
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Se	Selenyum
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TBIL	Total Bilirubin
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktör-beta
TLR	Toll-benzeri Reseptör
TNF-α	Tümör Nekroze Edici Faktör-alfa
UDP	Uridindifosfo
Zn	Çinko

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	Karaciğer hücre türleri ve görevleri.	10
3.1.	Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler.	29
3.2.	Deneylerde kullanılan araç ve gereçler.	30
3.3.	Deneylerde kullanılan hayvanların sayıları ve uygulama dozları.	32
3.4.	cDNA sentez reaksiyonu.	39
3.5.	Histopatolojik skörlama sistemi.	41
4.1.	Hepatotoksisite belirteçlerinin sonuçları.	44
4.2.	Oksidatif stres belirtecinin ölçüm sonuçları.	51

1. GİRİŞ

Alkoller kimyasal olarak alifatik hidroksil gruplarından oluşan bileşiklerdir. Kimyasal formülü $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ olan etanol (etil alkol) ise alkollü içecek yapımında kullanılan bir alkoldür (1, 2). Alkollü içecekler olarak etanol dünyanın birçok yerinde yaygın tüketilmektedir ve aşırı, kronik etanol tüketimi ciddi bir küresel halk sağlığı sorunudur (3). Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre kronik etanol tüketimi kalp, gastrointestinal sistem ve karaciğer gibi organları etkileyen 200'den fazla hastalıkla ilişkilidir (3, 4). Etanol mide ve bağırsaklardan absorbe edildikten sonra tüm sıvı kompartmanlarında eşit dağılır ve portal ven aracılığıyla karaciğere gelir (5). Etanolü metabolize eden enzimler, karaciğerde yüksek oranda bulunduğu için karaciğer etanol metabolizmasında önemli bir rol oynar (5, 6). Biyotransformasyon sırasında etanolün oksidasyonu sonucu ana metabolit olan asetaldehit açığa çıkar. Kronik zehirlenme olan alkolizmde oluşan doku hasarının çoğu, yüksek dozlarda etanol alındıktan sonra karaciğerde biriken ve kana salgılanan asetaldehitten kaynaklanmaktadır. Asetaldehit son derece toksik ve reaktif bir moleküldür. Mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulmasına, serbest aminoasitlere bağlanarak enzim inhibisyonuna ve mikrotübüler protein atılımında bozulmaya neden olur (7). Okside/redükte glutatyon dengesinde ve antioksidan mekanizmalarda bozulma, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal artışına neden olarak oksidatif etki yapar. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranının kalsiyuma geçirgenliği artar, hücre içinde kalsiyum birikimi olur ve bu olaylar sonucu yağlanmış karaciğerde inflamasyon ve fibrozis başlar (8, 9). Karaciğer fibrozisi, karmaşık bir patogenezi olan ciddi bir sağlık sorunudur(10) ve sıklıkla aşırı alkol tüketiminden kaynaklanır (11). Hepatik yıldız hücreler (Hepatic stellate cells, HSC'ler), karaciğer fibrozunun başlangıcında önemli bir rol oynar (12). Normal karaciğerde HSC'ler aktif değildir. Etanol metabolizmasında meydana gelen lipid peroksidasyon ürünleri, reaktif oksijen bileşikleri ve çeşitli toksik ksenobiyotiklerin etkisiyle aktive olurlar (8, 9). Buna ek olarak oksidatif stres sırasında reaktif oksijen bileşikleri Kupffer hücrelerini stimüle ederek HSC aktivasyonunu indükleyebilir ve fibriler kollajen ve fibronektin gibi çok çeşitli kemokinler ve hücre dışı matriks (Extracellular matrix, ECM) proteinleri, hareketsiz HSC aktivasyonundan sonra salınır, karaciğer hasarıyla uyarılır ve bunu karaciğerde fibroz gelişimi takip eder (13, 14). Hepatit B virüs (HBV) veya hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonu, safra tıkanıklığı

veya alkol bağımlılığı olan bazı hastalardaki birçok klinik araştırmada ve kemirgenlere alkol veya karbon tetraklorür (CCl₄) uygulaması veya safra kanalı ligasyonu gibi deneysel model oluşturma çalışmalarında hepatik fibrozisin geri döndürülebilir olabileceğini gösterilmiştir (15-17). Karaciğer fibrozisi, ilerleyici olmadığı ve siroza yol açmadığı sürece geri döndürülebilir bir süreçtir. Fibrotik yanıtı neden olan etkenin ortadan kaldırılması, karaciğer ileri siroz aşamasında olmadığı sürece fibrozisin gerilemesine yardımcı olur (18, 19). Dolayısıyla fibrozisin ilerlemesini yavaşlatabilen, durdurabilen veya tersine çevirebilen anti-fibrotik tedaviler önem arz etmektedir.

İnflamazomlar, enfeksiyona neden olan mikrobiyal moleküllere ve konakçı proteinlere maruz kaldıktan sonra inflamasyonu başlatan çoklu protein kompleksleridir (20, 21). Hemen hemen tüm tehlike sinyali türlerini tanıyabilen nükleotid bağlı oligomerizasyon alanı (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD), lösin zengini tekrarlar (leucine-rich repeats, LRRs) ve pirin alanı (pyrin-domain) içeren protein 3 (NLRP3) inflamazomları, günümüze kadar üzerinde en çok çalışılan inflamazomlardır (21). NLRP3 inflamazomları patojen ilişkili moleküler kalıplar (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) ve hasar ilişkili moleküler kalıpların (damage-associated molecular pattern molecules, DAMP) yer aldığı hücrelerde endojen sinyaller tarafından aktive edilir (20, 22). NLRP3 aktivasyonu, kaspaz-1 aktivasyonu yoluyla hepatik steatoz, fibroz ve siroza katkıda bulunan interlökin (IL) 1 β ve IL-18 salınımına yol açar (22-24). İnflamazomlar hepatositlerde, karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinde, hepatik yıldız hücrelerinde ve makrofajlarda aktif olarak eksprese edilir. Karaciğerdeki patojenlere ve tehlike sinyallerine karşı savunma için gerekli olan inflamazom aktivasyonunun aşırısı, çeşitli karaciğer hastalıklarının patogeneğinde rol oynar (22, 25, 26). Kronik etanol tüketimi, aşırı NLRP3 inflamazom aktivasyonu yoluyla karaciğer hasarını tetikler. Bu toksisite mekanizması ile etanol kaynaklı hepatotoksisite tedavisi için NLRP3 inflamazom yolunu hedef alan çeşitli stratejileri geliştirilmiş ve rapor edilmiştir (22, 23, 27).

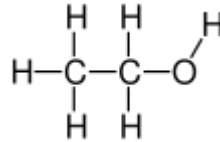
Koenzim Q10 (CoQ10), mitokondriyal solunum zincirinde bir elektron taşıyıcısı olarak işlev gören endojen, yağda çözünebilen bir benzokinondur (28, 29). CoQ10 hepatoprotektif potansiyele sahip güçlü bir antioksidandır; dolaylı ve doğrudan serbest radikalleri temizleyebilir ve böylece hücre zarlarında lipid peroksidasyonunun başlatılmasını ve yayılmasını önleyebilir (30-37). CoQ10'un sentetik bir analogu olan

idebenon (İDE) da güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu sayede çeşitli mekanizmalar yoluyla organ hasarına karşı koruma sağlar (38-40). Bununla birlikte, kronik etanol maruziyetinin neden olduğu aşırı inflamazom aktivitesine ve karaciğer fibrozisine karşı İDE ve/veya CoQ10'un olası koruyucu etkileri incelenmemiştir. Çok az çalışma CoQ10'un inflamazomlarla ilişkisine odaklanmıştır; ancak bu çalışmalarda CoQ10'un alkole bağlı karaciğer fibrozisinde hepatoprotektif etkileri araştırılmamıştır (41, 42). Bu nedenlerle, sunulan bu tez çalışması kapsamında sıçanlarda oluşturulan etanol kaynaklı karaciğer fibrozis modelinde İDE ve CoQ10'un karşı koruyucu etkileri NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β yolağı üzerinden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etanol

Alkoller kimyasal olarak alifatik hidroksil gruplarından oluşan bileşiklerdir. Kimyasal formülü Şekil 2.1'de verilen etil alkol (etanol, CH₃-CH₂-OH) molekül ağırlığı 46,07 g/mol olan primer alkollerden biridir. Kaynama noktası 78,5°C, erime noktası -114°C ve yoğunluğu 0,789 g/cm³'tür. Etanol renksiz, kendine has kokulu, uçucu ve yanıcı bir sıvıdır. Etanolün cilt antiseptiği olarak kullanılması dışında, etken madde olarak çok önemi yoktur; beşeri tıbbi ürünler içerisinde yardımcı maddeler sınıfında yer alır. Diğer taraftan, alkollü içeceklerin içinde olmasından dolayı bu şekilde kullanıldığı için bazı kişiler için ilaçtan daha sık kullanılır (1, 2).



Şekil 2.1. Etanolün kimyasal yapısı.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, alkol bağımlılığı dünyada yılda üç milyon ölüme neden olan çok büyük sosyal, ekonomik ve klinik sonuçları ile küresel bir halk sağlığı sorunudur (43). Aşırı alkol tüketimi karaciğer, beyin, kardiyovasküler sistem, endokrin sistemi, sinir sistemi veya gastrointestinal sistem gibi birçok organ ya da sistemi etkilemektedir (44-47). Bununla birlikte, etanol biyotransformasyonunun birincil veya esas bölgesi olan karaciğer, en erken maruz kalan ve en büyük doku hasarı oluşan organdır (48).

2.1.1. Etanolün Oral Absorbsiyonu

Primer alkollerin oral absorpsiyonu ağız mukozasından başlar. Oral yoldan alındıktan sonra etanol, gastrointestinal sistemden pasif difüzyonla hızlı bir şekilde kolayca emilir. Etanolün küçük moleküllü olması ve iyonize olmaması absorpsiyonunun hızlı gerçekleşmesine sebep olur. Kandaki en yüksek etanol konsantrasyonuna genellikle 30-90 dakika içerisinde ulaşılır (49). Tüketilen etanolün yaklaşık %20'si mideden emilirken geri kalan kısım ince bağırsaktan absorbe edilir.

Duodenum ve jejunumda emilim oranı daha hızlıdır. Bu nedenle mide boşalma hızı, etanolün mide-bağırsak kanalından emilim hızını düzenlemede önemli bir faktördür. Eğer mide dolu ise mideden absorpsiyon yavaşlar ve bu durumda mide boşalma süresi uzayacağından ince bağırsağa geçiş gecikir. Dolayısıyla etanol aç karnına tüketildiğinde doruk plazma konsantrasyonuna daha hızla ulaşılır (1, 50). İnce bağırsağa geçen etanolün tamamı buradan absorbe edilir ve bu nedenle alkol kolona ulaşamaz (1). Konsantrasyon gradyanı sebebiyle etanolün emilim hızı, tüketilen alkol konsantrasyonu ile ilişkilidir. Alkol içeriği %20-30 arasında olan içecekler en hızlı şekilde emilirken, alkol içeriği yüksek olan içecekler daha yavaş emilir; çünkü, %30'un üzerindeki alkol içeriğinde mide mukozası tahriş olur, mukus salgısı artar ve mide boşalması yavaşlar (49, 51).

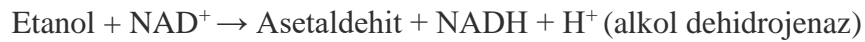
2.1.2. Etanolün Dağılımı

Etanol, plazma proteinlerine bağlanmaz ve vücutta tüm sıvı kompartmanlarına kolayca difüze olur. Anne sütüne, plasentaya ve fetal dolaşıma geçer. Düşük lipid/su partiyon katsayısı nedeniyle yağ dokusunda toplanmaz. Kadınlarda genellikle vücut yağ oranı daha yüksek olduğu için erkeklere göre etanolün sanal dağılım hacmi daha küçüktür. Kadınlara, vücut ağırlığının kg'ı başına gram (g) cinsinden aynı dozda alkol verildiğinde, kandaki en yüksek alkol düzeyleri erkeklerden daha yüksek olur; ancak, vücut sıvısının litresi başına aynı dozda verildiğinde herhangi bir farklılık ortaya çıkmaz (1, 5, 52).

2.1.3. Etanolün Biyotransformasyonu

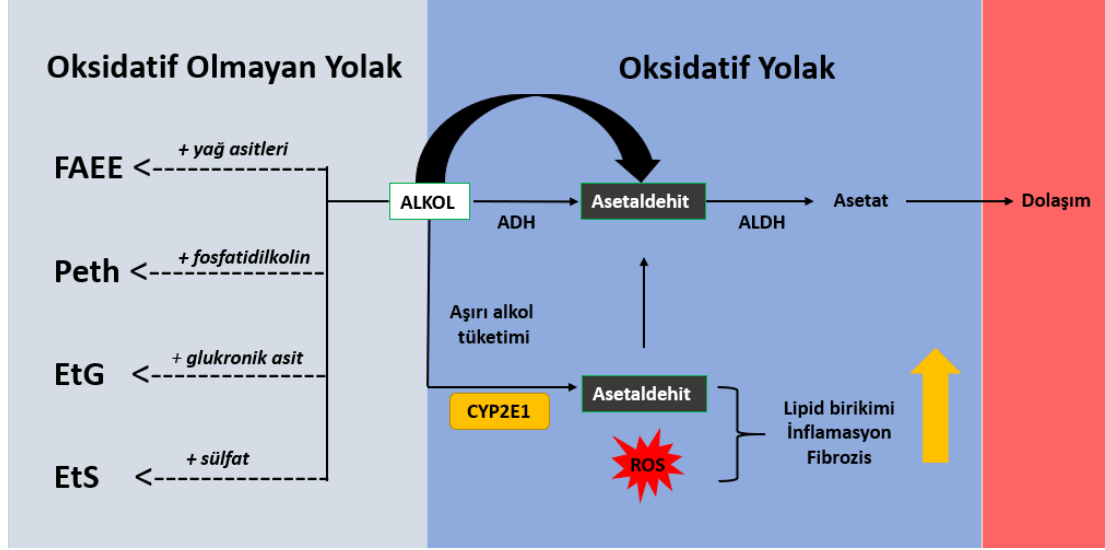
Gastrointestinal kanaldan emilen etanolün %10'dan azı nefes, ter ve idrarla atılır. Dolayısıyla emilen alkolün %90'dan fazlası vücutta dolaşır ve sonunda portal ven yoluyla karaciğere taşınır (5). Etanolün biyolojik etkileri metabolizması ile yakından ilişkilidir (53). Etanol biyotransformasyonunda rol alan enzimler, karaciğerde yüksek oranda bulunur. Dolayısıyla karaciğer, etanol metabolizmasında oldukça önemlidir ve etanol karaciğerde, oksidatif ve oksidatif olmayan yollarla biyotransforme edilir (6). Alınan etanolün %90'ından fazlası hepatik etanol oksidasyonu yoluyla metabolize edildiği için oksidatif yol, alkol metabolizması için ana yoldur ve iki aşamadan oluşur (54). İlk önce, etanolün oksidatif

metabolizmasından sorumlu ana enzim olan alkol dehidrojenaz (ADH) tarafından etanol asetaldehite oksitlenir (5, 55). Oksidatif yoldaki ikinci adım, asetaldehitin aldehit dehidrojenaz (ALDH) tarafından hızlı bir şekilde asetata dönüştürülmesini içerir. Oluşan asetat ise periferik dokularda karbondioksit (CO₂), yağ asitleri (fatty acids, FA) ve suya (H₂O) metabolize edilir (5). Aynı zamanda etanol oksidatif yolda sitokrom P450 (CYP) enzimlerinin oluşturduğu mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS) tarafından da metabolize edilir ve bu sistemdeki enzimler etanol metabolizmasının yaklaşık %10'undan sorumludur (56). Etanol metabolizmasının ilk fazında yer alan CYP2E1'in ana CYP enzimi olduğu düşünülmektedir (57). CYP2E1, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve oksijen (O₂) kullanarak etanolü asetaldehite ve ardından asetaldehiti asetata dönüştürür. Asetaldehit, etanolün toksisitesine önemli ölçüde katkıda bulunan reaktif oksijen türleri (ROS) üretir (58).



CYP2E1 uyarılabilir bir enzim olduğu için kronik etanol tüketimi sırasında hepatoselüler içeriği artar (59). CYP2E1 indüksiyonu kronik etanol tüketenlerde metabolik tolerans geliştirir; yani daha önce daha az alkollü içecek içtikten sonra oluşan merkezi sinir sistemi etkisine (sarhoşluk düzeyine) ulaşmak için daha fazla alkol içilmesi gerekir. Ayrıca, daha yüksek CYP2E1 seviyeleri nedeniyle hızlanan alkol metabolizması, karaciğer hücrelerini metabolik tehlikeye sokar; çünkü, daha fazla CYP2E1 daha fazla asetaldehit üretir ve oksidatif stres meydana gelir (59). ROS üretim hızı, karaciğerin bunları glutatyon (GSH) ve E, A ve C vitaminleri gibi doğal antioksidanlarla nötralize etme veya antioksidan enzimler kullanarak bunları ortadan kaldırma kapasitesini aşar ve karaciğer hasarının ortaya çıkmasına ve ilerlemesine neden olur (60). Etanolün oksidatif olmayan metabolizması ise, etanol biyotransformasyonunun küçük bir bölümünü oluşturur; farklı enzimler tarafından çeşitli endojen metabolitlere oksidatif olmayan bir şekilde etanol metabolize edilir. Örneğin, etanolün yağ asitleriyle reaksiyonu sonucu yağ asidi etil ester (fatty acid ethyl ester, FAEE) sentaz enzimi tarafından katalize edilen bir reaksiyon gerçekleşir ve FAEE'ler olarak bilinen moleküller oluşur veya fosfolipaz D (phospholipase D, PLD)

enzimi ile gerçekleşen reaksiyon sonucu, fosfatidil etanol olarak bilinen bir fosfolipid oluşur (6). Şekil 2.2.'de etanol biyotransformasyonu gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Karaciğerde alkol metabolizması (61).

ADH, Alkol dehidrogenaz; ALDH, Aldehit dehidrogenaz; EtG, Etil glukuronid; EtS, Etil sülfat; FAEE, yağ asidi etil esteri; Peth, Fosfatidiletanol; ROS,

2.1.4. Etanolün Eliminasyonu

Absorbe edilen etanolün çoğunluğu (~%98) biyotransformasyon ile vücuttan uzaklaştırılırken, küçük bir kısmı ise (%2-5) değişmeden idrarla, terle veya nefesle atılır (1).

2.1.5. Etanolün Toksisitesi

Etanolün toksisitesi genel olarak akut toksisite ve kronik toksisite olmak üzere iki kısımda incelenmektedir.

Akut Etanol Toksisitesi

Akut alkol zehirlenmelerinin temel sebebi yüksek miktar alkol alımı olsa da hipnotik ilaçlarla, anksiyolitiklerle veya narkotik analjeziklerle birlikte alkolün mutad miktarlarda alınması da zehirlenmelere sebep olabilir. Alınan alkol miktarına göre aşırı sarhoşluk veya alkol koması şeklinde kendini gösterir (1).

Hafif orta zehirlenmede; yargı bozukluğuna, disinhibisyona, ajitasyona ve bazen saldırganlığa yol açar. Hastalarda bulantı, kusma, karın ağrısı, baş ağrısı ve baş dönmesi, nistagmus, ataksi, diplopi, logore (tutarsız konuşkanlık), konsantrasyon ve duruş bozukluğu, konfuzyon ve konuşma bozukluğu gözlemlenir. Şiddetli zehirlenmede; uyku hali, koma, nöbetler, solunum bozukluğu, hipotansiyon, bradikardi, hipotermi ve hipoglisemi ortaya çıkabilir. Göz bebeği kueilebilir ve hastalar hareketsizlikten rabdomiyoliz riski altındadır (1, 62).

Etanolün depresan noropsişik etkileri iyi bilinmektedir ve bu etki gama-aminobütirik asit (GABA)-A reseptörleriyle ilişkilidir. Bu reseptörler, memeli merkezi sinir sistemi içinde hızlı nöronal tepkiler sağlayan ligand bağımlı transmembran iyon kanalları ailesine aittir. Çoğu GABA-A reseptoru postsinaptiktir ve 19 farklı alt tipi bulunmaktadır. GABA-A inhibitör bir nörotransmitterdir. GABA-A reseptorunun postsinaptik nöron üzerindeki etkilerinden dolayı inhibitör bir nörotransmitter olarak sınıflandırılır. Bu nedenle, etanolün GABA-A reseptorunun α -alt ünitesine bağlanması allosterik modülasyon yoluyla postsinaptik nöronu inhibe eder ve dolayısıyla merkezi depresyondan sorumludur (63).

Kronik Etanol Toksisitesi

Kronik etanol maruziyeti birçok farklı organ için toksiktir ve özellikle sindirim sistemini (steatoz, hepatik siroz, kronik gastrit ve pankreatit), sinir sistemini (polinörit, serebellar atrofi ve hafıza bozuklukları) ve kardiyovasküler sistemi etkiler. Etanolün ayrıca kronik hematolojik, kanserojenik ve reprotoksik etkileri bulunmaktadır (64). Etanolün insan vücuduna zararlı olmasının en buyuk nedeni sistemik toksisitesidir ve en çok etkilediği organ ise karaciğerdir. Etanole bağlı karaciğer hasarı 3 faz olarak sınıflandırılabilir:

Faz 1 (hepatik steatoz), hepatositlerde lipitlerin birikmesini içerir. Bu durum genellikle geri döndürülebilir ve etanolün oksidatif metabolizmasıyla yakından ilişkilidir. Kronik alkol tüketimi, adipositlerde lipolizi indükleyerek karaciğer de yakalanan yağ asiti fraksiyonunu artırmaktadır (65, 66).

Faz 2'de steatozu steatohepatit takip eder. Steatohepatit, karaciğer yağlanması takip eden karaciğer iltihaplanmasıdır. Hepatositlerde biriken lipitler

peroksidasyona ve oksidatif hasara uğrar. Pro-inflamatuvar sitokinlerin de büyük miktarda salınmasıyla hepatositlerin ölümü ve alkolik hepatit gelişir (67).

Faz 3, inflamatuvar steatohepatitin fibrotik ilerleyişini yansıtır. Hepatositler kendilerini eskisi gibi yenileyemezler. Hepatik lezyonlar, fibrozisi karakterize eden ECM birikiminin ana kaynakları olan HSC aktivasyonuna yol açar. Fibrozisin ilerlemesiyle karaciğerin parankim dokusu, karaciğerin metabolik işlevleri ve hemostazisiden sorumlu dokular, skar dokusuyla yer değiştirir. Sonuç olarak da hepatoselüler karsinom (hepatocellular carcinoma, HCC), portal hipertansiyon gibi komplikasyonlar gelişir (68).

2.2. Karaciğerin Yapısı ve Fonksiyonları

Karaciğer, ortalama vücut ağırlığının %2 ile %3'ünü oluşturan, erişkin bir bireyde yaklaşık 1.500 g ağırlığında, biyotransformasyondan esas sorumlu ve vücuttaki en büyük organdır (69). Karaciğer, karın boşluğunun sağ üst tarafında ve diyaframın alt kısmında bulunur. Göğüs kafesi tarafından korunur (70). Glisson kapsülü olarak bilinen fibröz bir zarla çevrilidir. Karaciğer ayrıca, doğrudan diyaframa bitişik olduğu alan dışında, ön ve arka visseral periton ile kaplıdır. Üstte sağ ve sol üçgen bağları oluşturmak için dışa doğru devam eden koroner bağ ile ve önde falsiform bağ ile ve porta hepatisde gastrohepatik ve hepatoduodenal bağlar tarafından diyaframdan asılır. Hepatoduodenal bağ, hepatic arter, portal ven ve ekstrahepatik safra kanallarını içeren porta hepatisi sarar (71). Karaciğer, %25'i hepatic arterden ve %75'i portal venden olmak üzere ikili bir kan besleme sistemine sahiptir (72). Karaciğerin yapısal birimi olan karaciğer lobülleri santral ven etrafında tipik olarak altıgen bir şekilde organize edilen hepatosit plakalarından oluşur. Bu altıgenin köşelerinde portal triad adı verilen hepatic arter, portal ven ve safra kanalları bulunur. Santral ven ve portal triad arasında ise lobülün büyük çoğunluğunu oluşturan hepatositler plakalar şeklinde yayılır. Hepatosit plakaları içindeki dolaşım birimleri, karaciğerin endotel hücrelerinin sıkı bağlantılar oluşturmaması nedeniyle tipik bir kılcal yataktan farklıdır. Bu durum, hepatositler ile sinüzoidden geçen kan arasındaki engelleri en aza indiren sinüzoidal bir ağ oluşturur (73). Sinüzoidal endotel tabakasının organize bir bazal membranı olmadığından, hepatosit plakaları ile sinüzoidler arasında Disse boşluğu adı verilen bir boşluk oluşur (72). Karaciğer temel olarak parankimal

ve parankimal olmayan tipler olarak sınıflandırılabilen hepatositler, safra epitel hücreleri (kolanjiyositler), stellat hücreler, Kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri dahil olmak üzere beş özelleşmiş hücre türünden oluşur (74). Bu hücre tiplerinin her biri farklı fonksiyonlara sahiptir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Karaciğer hücre türleri ve görevleri (74).

Hücre	Görevi
Hepatik yıldızlı hücre	A vitamini deposu Karaciğer hasarını takiben rejenerasyona katkı
Hepatosit	Protein sekresyonu Safra sekresyonu Kolesterol metabolizması Detoksifikasyon Üre metabolizması Glikoz/glikojen metabolizması Akut faz yanıtı Kan pıhtılaşması
Karaciğer sinüzoidal endotel hücresi	Sinüzoidal pleksus oluşturur Portal kanın hepatositlerle iletişimini sağlar Sitokin sekresyonu
Kupffer hücresi	Karaciğer fagositleri Sitokinleri serbest bırakır
Safra epitel hücresi/kolanjiyosit	Safra kanalları oluşturur Safra akışının hızını kontrol eder Safranin pH'ını kontrol eder Su ve bikarbonat salgılar

Hepatositler karaciğer hacminin yaklaşık %80'ini oluşturan karaciğerdeki ana hücre tipidir. Hepatositler, sentez, metabolizma ve detoksifikasyon da dahil olmak üzere karaciğerin birçok işlevinden sorumludur. Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri karaciğerde en çok bulunan ikinci hücre türüdür; kan ile hepatositlerin arasında yer alır ve sıradışı özelliklere sahip özelleşmiş bir endotel popülasyonudur. Bu hücreler, sinüzoidal lümende delikli plakaları oluşturur. Safra epitel hücreleri ise safrayı taşır ve

pH'ını korur. Kupffer hücreleri, immünolojik ve fagositik fonksiyonlara sahip özelleşmiş karaciğer makrofajlarıdır. Bu hücreler, portal dolaşım yoluyla ortaya çıkan birçok patojenik uyaranı tanır ve bir dizi katkıda bulunan faktöre bağlı olarak, karaciğer yara iyileşmesinde pro- veya anti-inflamatuar roller üstlenebilir. Toplam karaciğer hücrelerinin küçük bir kısmını (%5-8) oluşturan HSC Disse boşluğunda bulunur. HSC'ler pasif veya aktif durumda olabilen hücrelerdir. Normalde pasif olarak bulunan HSC'ler, A vitaminini depolar. Karaciğer hasarı durumunda ise HSC'ler aktive olurlar ve bu aktivasyon sonucu HSC'ler çoğalır. Hasarlı karaciğer de kolajenin birikmesine sebep olur ve böylece siroza kadar ilerleyebilen karaciğerin skarlaşmasına katkıda bulunurlar (72-74).

2.3. Karaciğer Fibrozisi

Karaciğer fibrozisi, HSC'lerin aktivasyonu ve karaciğerin fizyolojik yapısını tahrip eden ECM bileşenlerinin aşırı birikimi ile karakterize bir hastalıktır ve kronik karaciğer hastalıklarının artan prevalansına katkıda bulunmaktadır(75). Kronik karaciğer hastalıkları önemli bir küresel sağlık yüküdür ve dünya çapında yılda yaklaşık 2 milyon ölüme neden olmaktadır (76). Organ fibrozisi, kronik inflamatuvar hastalıklarda hastalığın ilerlemesini karakterize eder ve dünya çapında tüm nedenlere bağlı ölümlerin %45'ini oluşturur (77). Benzer şekilde karaciğerde fibrozis gelişimi esas olarak yaşam kalitesini ve prognozu belirler (78). Bu nedenle, fibrozis düzeyi karaciğer fonksiyonuyla ilişkilidir ve HCC gelişimi için ana risk faktörüdür (79).

Karaciğer fibrozisi alkol tüketimi, alkolsüz steatohepatit, viral (B ve C) hepatit, otoimmün hepatit, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı ve kolestatik karaciğer hastalıkları gibi çeşitli faktörlere bağlı kronik karaciğer hasarının bir sonucu olarak oluşur (80). Tüm bu faktörlerin karaciğer üzerindeki ortak etkisi, normalin dışında/aşırı yara iyileşme reaksiyonuna yol açan kronik inflamasyonun oluşmasıdır. Karaciğerde fibrotik tepkinin oluşması, hücre dışı matriks bileşenlerinin birikmesine yol açarak fibröz skar oluşumuna yol açar (11). Birçok klinik çalışmada, HBV veya HCV enfeksiyonu veya safra tıkanıklığı olan hastalarda, alkolü suiistimal edenlerde, CCl₄ toksisitesi veya safra kanalı ligasyonu olanlarda hepatik fibrozisin geri döndürülebilir olabileceğini gösterilmiştir (15-17). Karaciğer fibrozisi, ilerleyici olmadığı ve siroza yol açmadığı sürece kalıcı olmayabilir bir süreçtir. Eğer karaciğer ileri siroz

aşamasında değil ise fibrotik yanıtı neden olan etkenin ortadan kaldırılması fibrozisin gerilemesine yardımcı olur (18, 19). Dolayısıyla fibrozisin ilerlemesini yavaşlatabilen, durdurabilen veya tersine çevirebilen tedavi yaklaşımları anti-fibrotik etkili olabilmektedir. Hepatik fibrozisin patogenezi belirsizdir; buna rağmen, erken tanı alma ve tedavi stratejileri mortalite oranını azaltabilir.

2.3.1. Karaciğer Fibrozisinin Patojenezi

Karaciğerde tekrarlanan yaralanmalara/hasarlara/toksik etkilere karşı geliştirilen doğal iyileştirici bir reaksiyonun sonucu olarak karaciğer fibrozu oluşur (11). Akut karaciğer hasarından sonra parankimal hücreler yenilenir ve nekrotik veya apoptotik hücrelerin yerini alır. Bu süreç, inflamatuvar bir yanıt ve sınırlı bir ECM birikimi ile ilişkilidir. Karaciğer hasarı devam ederse, sonuçta karaciğer rejenerasyonu başarısız olur ve hepatositler, fibriler kollajen de dahil olmak üzere bol miktarda ECM ile yer değiştirilir (81). Karaciğer fibrozisi, belirgin inflamatuvar lezyonlar ve yapısal değişikliklerle birlikte anormal fibroblast birikimi ve karaciğerin fizyolojik yapısını tahrip eden ECM'nin hem miktarında hem de bileşiminde büyük değişikliklerle ilişkilidir (82, 83). Fibrozun ileri evrelerinde karaciğer, kollajenler (I, III ve IV), fibronektin, undulin, elastin, laminin, hiyaluronan ve proteoglikanlar dahil olmak üzere normalden yaklaşık 6 kat daha fazla ECM içerir (84).

Hepatik yıldızlı hücreleri, karaciğer hasarı sırasında öncelikle fibrojenez katkıda bulunan ve hasarlı karaciğerde ECM üreten ana hücrelerdir (85). Bu oval şekilli HSC'ler, sağlıklı karaciğerde hepatik sinüzoidal boşlukta ve disse alanında bulunur (86). HSC'lerin sitoplazmasında çok sayıda retinoid lipid damlacığı gözlemlenebilir; bu, HSC'lerin birincil işlevlerinin A vitamini depolamak ve metabolize etmek, ECM salgılamak ve kollajenaz üretmek olduğunu gösterir. Bu nedenle, bu hücreler öncelikle karaciğerdeki kollajen sentezinde rol oynarlar. HSC'lerin aktivasyonu ve çoğalması hepatik fibrozda önemli olaylardır (87). Yin ve ark.ları, HSC aktivasyonunun başlangıç aşaması, kalıcı aşama ve inflamasyonun çözülme aşaması olmak üzere üç önemli basamağı içerdiğini öne sürmüşlerdir (88). Başlangıç aşamasında, hasarlı hepatositlerden ECM ve peroksitler dahil diğer ürünler salınır. Kalıcı aşamada, hücresel davranışlar en az altı türe ayrılır: Proliferasyon, kemotaksis, fibrojeniz, kasılma, ECM bozulması ve A vitamini tükenmesi.

inflamasyonun çözümlenme aşamasında, HSC apoptozu teşvik edilir veya HSC'ler pasif duruma dönüştürülebilir. Karaciğer dokularındaki inflamatuvar yanıt da dahil olmak üzere toksik ve/veya metabolik etkenler veya viral hastalıklar, hepatositlerin hasar görmesine yol açar ve proinflamatuvar sitokinleri salgılamak için Kupffer hücrelerini aktive eder. Bu sitokinler, HSC'leri aktive eder ve miyofibroblastlara dönüştürür, bu da HSC'lerin fonksiyonel fenotipinde bir değişikliğe yol açar (89, 90). Fizyolojik olarak doku onarımında yer alan, kısa süreli hasarlanma durumunda bu süreç, anti-fibrotik mekanizmaların etkisiz hale getirilmesiyle dengelenir ve miyofibroblastların inaktivasyonu veya apoptozuyla sonuçlanır. Bunun aksine, kronik karaciğer hastalıklarında pro-fibrojenik ve anti-fibrojenik mekanizmaların dengesizliği, aşırı ECM üretimine yol açan çoğalan, kasılabilen ve göç eden miyofibroblastların kalıcı aktivasyonuna neden olur (90, 91).

Karaciğerin anti-fibrotik mekanizması esas olarak Kupffer hücreleri ve diğer bağışıklık hücreleri de dahil olmak üzere parankimal olmayan hücreler tarafından düzenlenir (92). Bu nedenle, hepatosit apoptozu ve hepatositler tarafından hasarla ilişkili modellerin salınması, yalnızca HSC'leri doğrudan aktive etmekle kalmaz, aynı zamanda proinflamatuvar ve pro-fibrojenik sitokinler üreterek HSC trans-farklılaşmasının ve miyofibroblast aktivasyonunun desteklenmesine katkıda bulunan lenfositlerin ve makrofajların alımını ve aktivasyonunu da indükler (93). Dolayısıyla aktive edilmiş HSC'ler, parakrin veya otokrin mekanizmalar yoluyla miyofibroblastların çoğalmasını destekleyebilir, böylece büyük miktarlarda kollajen lifleri ve diğer ECM bileşenlerini sentezleyebilir. Bu işlem sırasında, tümör nekroze edici faktör-alfa (TNF- α), transforme edici büyüme faktör-beta (TGF- β) ve trombosit türevli büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF) dahil olmak üzere düzenleyiciler ve ECM, karmaşık bir ağ oluşturmak ve hepatik fibrojenizde rol oynamak için birbirleriyle etkileşime girer (94-96). Öte yandan, farklı makrofaj alt popülasyonları, matriks-metaloproteinazların (MMP'ler) ekspresyonu nedeniyle fibrozisin iyileşmesine katkıda bulunur (97).

2.4. Karaciğer Hasarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler

2.4.1. Gama Glutamil Transferaz (GGT)

Gama glutamil transferaz, serumda ve birçok hücrenin dış yüzeyinde bulunan, aminoasit veya küçük peptidlerin gama glutamil artıklarının transferini katalizleyen bir enzimdir. GGT, moleküler ağırlığı 68.000 dalton olan ve birbirine benzemeyen glikoprotein yapısında iki alt üniteden oluşmuştur (98). Çoğunlukla hepatositler ve safra kanalı hücreleri, safra kesesi, pankreas, dalak, böbrek, kalp, beyin ve seminal veziküller gibi birçok hücrenin plazma membranlarında bulunan bir enzimdir. Serumdaki GGT'nin en önemli kaynağı karaciğerdir ve üretimi hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenir (99, 100). GGT aktivitesi, ekstraselüler GSH'nin parçalanmasında ilk adımı yani glutamat ve sistein arasındaki γ -glutamil bağının hidrolizini katalize eder. Bunu yaparken GGT, glutamil kısmını transfer ederek ve hücre içi antioksidan aktivite-oksidatif stres homeostazını korumak için sistein ürününü bırakarak glutatyonun hücre dışı katabolizmasında önemli bir rol oynar (101). Etanolün mikrozomal sentezi uyararak GGT aktivitesini artırdığı düşünülmektedir. GGT, özellikle alkole bağlı oluşan karaciğer hastalıklarının tanısında yaygın olarak kullanılan bir biyomarkördür. Serum GGT seviyesindeki artış, karaciğer hasarının bir belirteci olarak kullanılmaktadır (100).

2.4.2. Alanin Aminotransferaz (ALT)

Alanin aminotransferaz enziminin serum aktivitesi tayini, karaciğer hasarını tespit etmek için birincil tarama aracı haline gelmiştir (102). ALT, 496 amino asitten oluşur; yarılanma ömrü 47 ± 10 saattir ve 8. kromozomun uzun kolunda bulunan ALT geni tarafından kodlanır (103). ALT, karaciğerde pirüvat ve L-glutamat oluşturmak üzere L-alanin ve α -ketoglutarat arasındaki geri dönüşümlü transaminasyonu katalize eder ve bu nedenle glukoneogenez ve amino asit metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Reaksiyon tersine çevrilebilir; ancak, ALT reaksiyonunun dengesi L-alanin oluşumunu destekler. ALT enzim aktivitesi öncelikle karaciğerde bulunur; bunun yanında, aktivitesi çok daha düşük olsa da iskelet kasında, kalp, böbrek, beyin ve yağ dokusu dahil olmak üzere diğer birçok organda da bulunur. ALT esas olarak

hepatositlerin sitozolünde toplanan bir enzimdir. Hepatik hücrelerdeki ALT aktivitesi, serum ALT aktivitesinden yaklaşık 3.000 kat daha yüksektir. Karaciğer hasarı meydana geldiğinde, hasar görmüş karaciğer hücrelerinden ALT salınır ve serum ALT aktivitesinde önemli bir artışa neden olur (104). Genel popülasyonda aşırı etanol alımı, ALT yükselmesinin nedenlerinden birisidir. 2003 yılında yayınlanan ABD ulusal nüfus araştırmasına göre, günde 1'den fazla alkollü içecek tüketilmesi ALT değerlerinin artmasında önemli bir nedendir (105).

2.4.3. Aspartat Aminotransferaz (AST)

Aspartat aminotransferaz, insan vücudunun birçok dokusunda bulunan, transaminasyonun geri dönüşümlü reaksiyonunu katalize eden, organa özgü olmayan bir enzimdir. Hepatositlerde, kalp kasında, iskelet kaslarında, böbrek dokusunda ve plasentada bulunur. Bu dokularda hasar meydana geldiğinde, serum AST konsantrasyonunda artış gözlenir. Genellikle birlikte ortaya çıkan ve birbirleriyle metabolik olarak etkileşime giren, biri çözünür formda sitoplazmada (c-AST) ve % 60-80'i mitokondride (m-AST) bulunan iki farklı AST izoformu vardır (106). AST'nin mitokondriyel formunun salınımı için membran geçirgenliğinde değişime neden olan harabiyetten daha şiddetli bir bozukluğun olması gereklidir. Bunun sonucu olarak AST aktivitesindeki artış, ALT artışından daha geç gerçekleşir. AST'nin konsantrasyonundaki artış en yaygın olarak hepatoselüler hastalıklarda görülür (107). Aspartat aminotransferaz tarafından katalize edilen genel reaksiyonda, L-aspartat ve α -ketoglutarat, geri dönüşümlü olarak oksaloasetat ve L-glutamat'a dönüştürülür. AST, piridoksal 5'-fosfata bağımlı bir transaminazdır (108). Piridoksal 5'-fosfat, B6 vitamininin aktif metabolitidir. Aynı zamanda AST'ye sıkıca bağlanan bir kofaktördür ve AST'nin aktivitesi için gereklidir. Dolayısıyla B6 vitamin eksikliği, AST enzim aktivitesinde azalmaya sebep olabilir (109).

2.4.4. Alkalin Fosfataz (ALP)

Alkalin fosfataz, alkali ortamda monofosfat esterlerin hidrolizini katalize eden glikoprotein yapıda bir enzimdir. Memelilerde ALP, serumda çözünebilir formdadır ve aynı zamanda vücudun birçok hücrel membranında da bulunur. ALP'ler kemik osteoblastlarının membranında, hepatositlerin kanaliküler yüzünde, biliyer epitelin

lümene bakan yüzünde, ince bağırsak mukozal hücrelerinin fırçamsı kenarlarında, böbrek proksimal tübüllerinde, plasenta ve lökositlerde bulunur (110). ALP'nin 4 farklı izoenzimi vardır. Bunlar (i) karaciğer, kemik ve böbrek de dahil olmak üzere hemen hemen tüm dokularda eksprese edilen, dokuya spesifik olmayan bir izoenzim; (ii) bağırsak mukozasının fırçamsı sınırında ifade edilen bir bağırsak izoenzimi; (iii) gebelik sırasında trofoblastlarda ve akciğer ve servikste küçük miktarlarda eksprese edilen bir plasental izoenzim; (iv) testislerde ve timusta küçük miktarlarda eksprese edilen bir germ hücresi veya plasental benzeri izoenzimdir (111). Serumdaki ALP'nin çoğu karaciğer, kemik ve bağırsaktan elde edilir. Serum ALP aktivitesinde artış öncelikle hepatik hastalığın bir göstergesi olarak kullanılmaktadır; ancak, serum ALP aktivitesinde artışa neden olan çok sayıda hepatik olmayan faktör de vardır (112). Fizyolojik olarak ALP özellikle gebeliğin üçüncü trimesterinde, plasental kaynaklı olarak ve gelişim çağındaki çocuklarda kemik kaynaklı olarak yükselebilir. Karaciğer kaynaklı ALP yüksekliğini ayırt etmek için GGT seviyesi ile birlikte değerlendirilmelidir (113).

2.4.5. Total Bilirubin (TBIL)

Bilirubin, *hem-* içeren proteinlerin katabolizması ile meydana gelen ve doğal olarak oluşan bir pigmenttir. Her gün üretilen 250 ile 300 mg bilirubinin çoğu, yaşlanan kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobinin parçalanmasından elde edilir. Geriye kalan kısım ise kemik iliğindeki eritroid hücrelerin vaktinden önce yok edilmesinden ve vücut dokularındaki hem içeren proteinlerin dönüşümünden elde edilir. Bilirubin oluşumu öncelikle karaciğer ve dalaktaki retikuloendotelyal hücrelerde meydana gelir (114). Konjuge bilirubin (bağlı, doğrudan bilirubin) ve konjuge olmayan bilirubin (serbest, dolaylı bilirubin) olmak üzere iki şekilde bulunur. Konjuge olmayan bilirubin suda çözünmez. Bu nedenle, kanda taşınabilmesi için konjuge olmayan bilirubinin, kovalent olmayan, geri dönüşümlü bir şekilde, oluşan albümine bağlanması gerekir. Konjuge olmayan bilirubin, serumda albümine bağlandıktan sonra karaciğere taşınır ve burada bilirubini suda çözünür hale getiren ve böylece safra içine atılımını sağlayan uridindifosfo (UDP)-glukuroniltransferaz enzimi ile konjuge edilir ve konjuge bilirubine dönüştürülür. Konjuge bilirubin suda çözünür ve bu nedenle böbrek tarafından atılabilir (115, 116). Yüksek serum bilirubin

düzeyleri, karaciğer hastalıkları için bir biyobelirteç olarak kabul edilir (116). Genellikle sağlıklı bireylerin idrarında bilirubin dahil protein bulunmaz ve bu nedenle idrarda bulunan konjuge bilirubin, karaciğer hastalığının varlığını gösterir (117).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, serbest radikallerin ve oksidanların etkisini engelleyen, azaltan, geciktiren veya tamamen temizleyen ve vücudu oksidatif hasardan koruyan moleküllerdir (118). Antioksidanlar, ROS'un kötüleştirici etkisini ortadan kaldırarak oksidatif stresle ilişkili hastalıkları önler veya ortadan kaldırır. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olarak ikiye ayrılırlar.

2.5.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen (doğal/dahili) enzimatik antioksidanlar glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazdan (CAT) oluşurken enzimatik olmayan antioksidanlar ürik asit, lipoik asit, bilirubin, glutatyon ve melatonindir (119).

Süperoksit Dismutaz (SOD)

1968 yılında Irvin Fridovich tarafından keşfedilen SOD, H_2O_2 'ye geçişi katalize eder (120). Memelilerde SOD'un, bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD), manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn-SOD) ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC-SOD) olmak üzere SOD'un üç izoformu vardır. Bu enzimler farklı yerlerde bulunur; Cu/Zn SOD sitozolde, Mn-SOD mitokondride ve EC-SOD hücre dışı sıvılarda bulunur (121).

Süperoksit dismutaz, ROS'a karşı ilk savunma hattını oluşturur. Süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, CAT ya da GPx ile ortamdaki uzaklaştırılır (122). SOD enzimleri, aktiviteleri aracılığıyla çeşitli ROS ve reaktif nitrojen türlerinin seviyelerini kontrol eder, böylece bu moleküllerin potansiyel toksisitesini sınırlandırır (123).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunup H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Böylece H_2O_2 'den hidroksil radikalinin oluşmasını engeller (124). Oksidatif strese karşı ikinci bir savunma hattı sağlarlar (125). Dört özdeş alt birimden oluşur ve her alt birim bir selenyum (Se) atomu içerir. GSH-Px, GSH'yi elektron kaynağı olarak kullanarak H_2O_2 'i H_2O 'ya metabolize eder. GPx Se bağımlı (Se-GPx) ve Se'den bağımsız (GST) olmak üzere iki biçimde sınıflandırılabilir. Hem sitozolde hem de mitokondride bulunurlar. Se-GPx, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. GST ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet gösterir (126). GPx'ler aynı zamanda ROS'un detoksifikasyonunda da önemli bir rol oynamaktadır ve yüksek ROS seviyeleri altında aktive olan ilk enzim olduğu bulunmuştur (127).

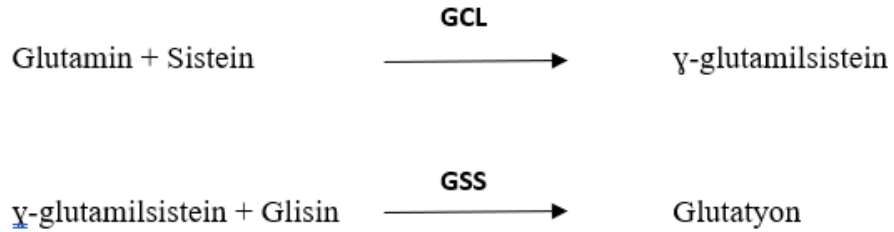
Katalaz (CAT)

Katalaz, esas olarak memeli hücrelerinin peroksizomlarında bulunan önemli bir antioksidan enzimdir. CAT, dört protein alt birimden meydana gelir. Her biri aktif bir hem grubu ve NADPH içeren, tetrahedral olarak düzenlenmiş alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir (128). Mitokondride bulunmasına rağmen CAT büyük ölçüde peroksizomlarda lokalizedir. H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye dönüşmesini katalize eder. CAT, H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak iki enzimatik aktiviteye sahiptir. H_2O_2 konsantrasyonu yüksekse CAT katalitik etki gösterir, yani H_2O ve O_2 oluşturarak H_2O_2 'yi uzaklaştırır (129). CAT, bilinen tüm enzimler arasında en yüksek devir hızlarından birine sahiptir; dakikada yaklaşık 6 milyon H_2O_2 molekülünü H_2O ve O_2 'ye dönüştürebilmektedir (130). CAT tüm dokularda bulunmasına rağmen, bu enzimin en yüksek aktivitesinin karaciğer ve eritrositlerde olduğu görülmektedir (131).

Glutasyon (GSH)

Glutasyon veya γ -glutamilsisteinilglisin, birçok hücrel fonksiyonda rol oynayan, enzimatik olmayan endojen bir antioksidandır. Hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerde sentezlenir ve birçok vücut dokusunda nispeten yüksek konsantrasyonlarda bulunur (132). GSH sistein, glisin ve glutamattan sentezlenen bir tripeptittir. Şekil

2.3'de gösterildiği üzere, ilk önce glutamin ve sistein, glutamin-sistein ligaz (GCL) aracılığıyla bağlanarak γ -glutamilsisteini oluşturur. Sonrada glutatyon sentetaz (GSS), γ -glutamilsisteine glisinini bağlayarak GSH molekülünü meydana getirir (133).



Şekil 2.3. Glutatyon sentezi (133).

GCL, Glutamin-sistein ligaz; GSS, Glutatyon sentetaz

GSH, hücre içi redoks homeostazını düzenleyen, her yerde bulunan bir tripeptittir ve indirgenmiş (GSH) veya oksitlenmiş formda (GSSG) bulunur. GSH, ksenobiyotiklerin güçlü bir detoksifikasyon maddesidir ve hidroperoksitin neden olduğu oksidasyona karşı bir engel görevi görür. Oksidatif stresin azaltılmasında, redoks dengesinin korunmasında, metabolik detoksifikasyonun artırılmasında ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (134).

2.5.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ekzojen (Sekonder/harici) antioksidanlar, hidroksil ve süperoksit radikal anyonlarını temizleyen C vitamini, hücre zarlarının lipit peroksidasyonuna karşı etkili olan α -tokoferol (E vitamini) ve stilben türevlerini içerenler (resveratrol, fenolik asitler ve flavonoidler), yağ lesitinleri, Se, Zn ve asetilsistein gibi ksenobiyotiklerdir (135). Askorbik asit olarak da adlandırılan C vitamini, taze meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan, suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. İnsan vücudu, L-gulonolakton oksidaz enzimi eksikliğinden dolayı C vitamini sentezleyememektedir ve bu nedenle gıda veya takviyeler yoluyla C vitamini vücuda alınır (136). C vitamini, biyolojik ortamdaki hidroksil, alkoksil ve süperoksit radikal anyonlarını temizler; aynı zamanda semidehidroaskorbik asit oluşturarak reaktif nitrojenlenmiş türleri de temizler ve dolayısıyla temel biyomoleküllerin oksidatif bozulmasını önler (131). C vitamini, lipofilik radikallerin doğrudan temizleyicisi olmasa da, E vitamini ile birlikte hareket

eder ve lipid peroksit radikallerinin uzaklaştırılmasında sinerjistik bir etki oluşur (119). α -tokoferol, hücre zarlarının lipid peroksidasyonuna karşı savaşır ve lipid substratlara saldıramayan düşük reaktiviteli bir türev oluşturarak radikal zinciri durdurabilir. Böylece E vitamini, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin neden olduğu serbest radikal hasarına karşı membranın korunmasında rol alır (137). Karotenoidler, birçok meyve ve sebze yaygın olarak bulunan izoprenoid pigmentli bileşiklerdir (138). Karotenoidler insanlar tarafından sentezlenemezler. α -, β -, γ - ve ζ -karotenler, nörosporen, fitoflügen, fitoen, α - ve β -kriptoksantinler, likopen, zeaksantin, lutein ve violaksantin en önemli karotenoidlerdir ve violaksantin hariç insan plazmasında bulunurlar. Karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesi olan β -karoten, A vitamini aktivitesine sahip başlıca karotenoidlerdendir. β -karoten, α -tokoferol ile sinerjistik olarak biyolojik membranlarda etkili radikal yakalayıcı antioksidan olarak görev yapar (139).

2.6. İnflamazomlar

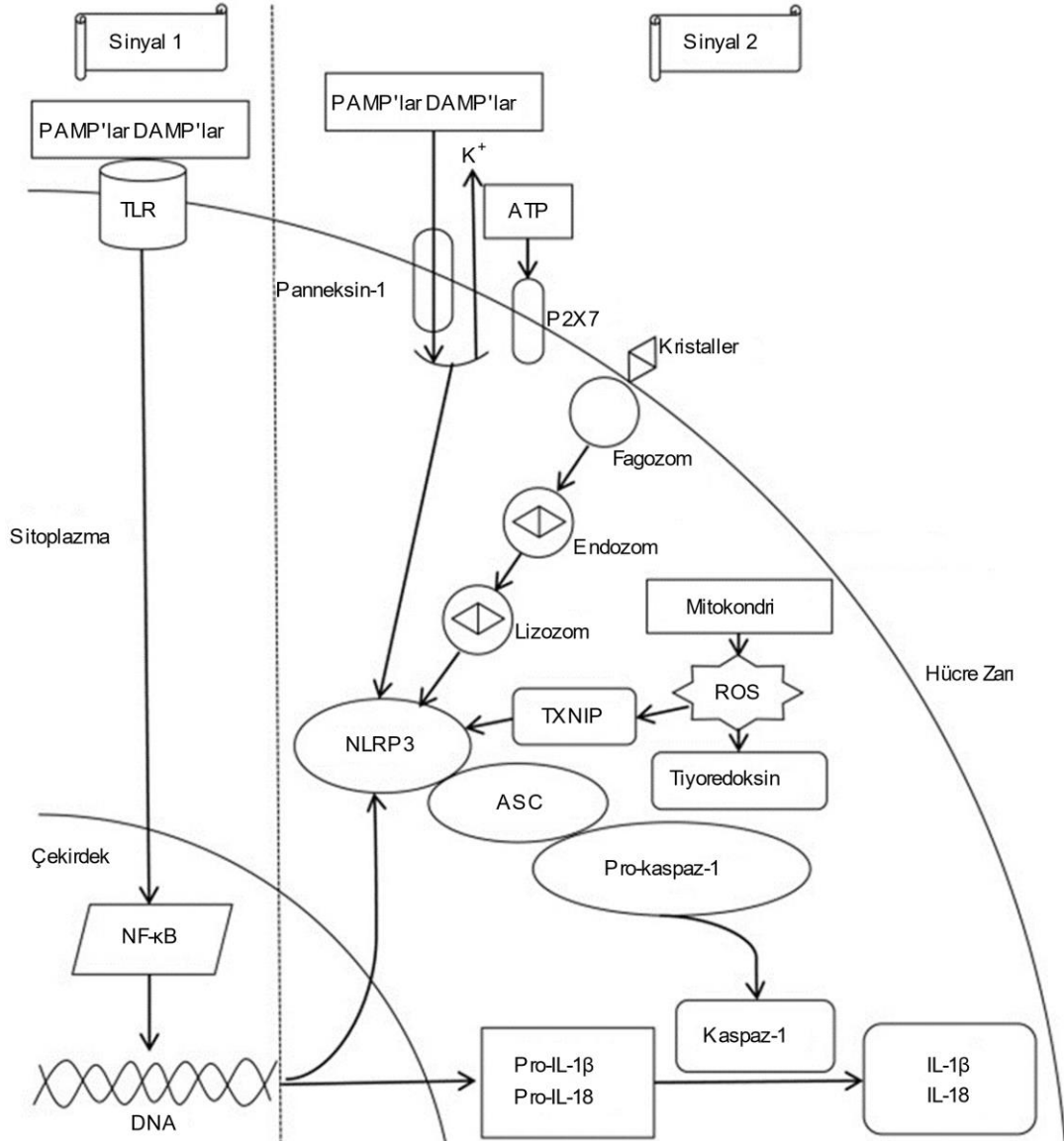
İlk kez 2002 yılında Tschopp ve ark. tarafından tanımlanan inflamazomlar, yüksek molekül ağırlıklı sitozolik protein kompleksleridir (140). İnflamazomlar, ekzojen patojenleri ve hasarlı veya ölen hücrelerin endojen sinyallerini içeren inflamasyonu tetikleyen çeşitli uyarımları tanıyarak bir kalıp tanıma reseptörü (pattern recognition receptor, PRR) olarak görev yapar ve IL-1 β ve IL-18 gibi önemli pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini düzenler (21). PRR'ler doğal immün yanıtın başlatılmasından sorumludur ve farklı genetik ve fonksiyonel farklılıklara dayanarak, Toll-benzeri reseptörler (TLR'ler), nükleotit bağlayıcı ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler (NLR'ler), retinoik asitle indüklenebilir gen-I (RIG-I) benzeri reseptörler (RLR'ler), C tipi lektin reseptörler (CLR'ler) ve melanomda olmayan (AIM) benzeri reseptörler (ALR'ler) olmak üzere 5 ana sınıfa ayrılmaktadır (141). TLR'ler ve CLR'ler hücre membranında bulunurken NLR'ler, RLR'ler ve ALR'ler hücre içinde bulunmaktadır. Hücre sitozolünde bulunan NLR'ler, PAMP ve DAMP'leri tanıyarak aktive olabilen ve böylece hem patojenle ilişkili hem de inflamasyon yanıtlarının başlatılmasında görev alan önemli bir PRR'dir (142). NLR'ler, karboksi terminalinde lösinden zengin tekrar yapısı, amino terminalinde kaspaz alımı (CARD) veya pirin (PYD) ile çevrelenen merkezi bir nükleotit bağlama

ve oligomerizasyon (NACHT) alanı olmak üzere üç temel yapıdan oluşmaktadır (21). NACHT alanı deoksinükleotid trifosfataz (dNTPaz) aktivitesi ve oligomerizasyonda rol oynarken, C-terminal LRR alanı, ligand bağlanmasında veya aktivatörün algılanmasında rol oynamaktadır. N-terminal alanı ise diğer proteinlerle etkileşime girerek efektör fonksiyonları yerine getirir. NLR ailesini sınıflandırmak için kullanılan tanınabilir dört N-terminal alanı vardır; asidik transaktivasyon alanı (NLRA), bakuloviral inhibitör tekrar benzeri alan (NLRB), kaspaz aktivasyonu ve alım alanı (NLRC), ve pirin alanı (NLRP) (143, 144). NLRP'ler inflamazom yapısı oluşturabilen, 14 farklı üye içeren, fonksiyonları en iyi aydınlatılmış en geniş NLR alt ailesidir (145). Normal koşullarda hücrede inaktif durumda bulunan NLRP'ler ve PAMP'lerden veya DAMP'lerden kaynaklanan tehlikeyi algıladıktan sonra aktive olurlar. NLRP'lerin aktive olması ile yapılarına apoptoz ilişkili benek benzeri protein (apoptosis-associated speck like protein, ASC) ve prokaspaz-1 bağlanır. Böylece multiprotein kompleks bir yapı olan inflamazomlar oluşur (146). İnflamazomların reseptör protein (NLR protein), adaptör protein ASC ve efektör (kaspaz-1) protein olmak üzere üç ana bileşeni vardır (21). NLRP inflamazom ailesi, NLRP1, NLRP3 ve NLRP6 dahil olmak üzere 20'den fazla türden oluşur (147). Şu anda en iyi şekilde karakterize edilen NLRP inflamazomu ise NLRP3'tür (21).

2.6.1. NLPR3 İnflamazomu ve Aktivasyonu

NLRP3 inflamazomu, neredeyse her türlü tehlike sinyalinin tanıma özelliğine sahip olmasıyla öne çıkan ve günümüze kadar en fazla araştırılan inflamazomdur (148). NLRP3 inflamazomu, bakterilerden (flagellin/çubuk proteinleri, muramil dipeptit, RNA ve DNA), virüslerden (RNA ve M2 proteini), mantarlardan (β -glukanlar, hif, mannan ve zimosan) ve protozoalardan (hemozoin) türetilen çeşitli PAMP'ler ve endojen DAMP'ler (adenozin trifosfat, ATP, ürik asit kristalleri, kolesterol kristalleri, monosodyum urat/kalsiyum pirofosfat dihidrat kristalleri, glikoz, amiloid β ve hyaluronan) ve eksojen DAMP'ler (şap, asbest, silika, alayım parçacıkları, UV radyasyonu ve cilt tahriş edici maddeler) dahil olmak üzere birden fazla agonist tarafından aktive edilebilir (149). PAMP veya DAMP varlığında NLRP3 inflamazom aktivasyonu iki sinyalli bir model ile gerçekleşmektedir (150). İlk sinyalde, PAMP'ler veya DAMP'ler hücre yüzeyindeki TLR'ler ile etkileşime girerek

nükleer faktör kappa B (NF- κ B) bağımlı transkripsiyona ve prointerlökin 1 beta (pro-IL-1 β) ve pro-IL-18 öncül sitokinlerinin translasyonuna yol açar (151). Ayrıca NF- κ B, NLRP3 gen transkripsiyonunu aktive eder (152). İnaktif durumdaki NLRP3 aktive olarak oligomerize olur, ASC ve pro-kaspaz-1 ile bağlanarak inflamazom oluşumu meydana gelir. Bu süreç için hücre sitozolüne ikinci bir sinyalin ulaşması gerekmektedir. İkinci sinyal eş zamanlı üç moleküler mekanizmayı içerir (153). İlk olarak; ATP, hücre membranında yerleşim gösteren katyon kanalı ile kenetli iyonotropik P2X purinoseptör 7 (P2X7)'nin aktive olmasını sağlar. Bu da hücreden K⁺ iyonu akışına, membran gözenek proteini panneksin 1'in toplanmasına ve NLRP3 aktivasyonuna yol açar (154). İnflamazom aktivasyonunun gerçekleştiği bu ikinci aşamada proteolitik özellik gösteren kaspaz-1 aktive olur ve pro-IL-1 β ve pro-IL-18'den aktif ve olgun formları olan IL-1 β ve IL-18 meydana gelir. Başka bir mekanizmada ise fagosite edilen kristal ya da partikül yapıda silika, ürik asit kristalleri gibi çeşitli DAMP'ler, lizozomal parçalanmaya neden olarak inflamazom aktivasyonuna yol açar (155). Üçüncü mekanizmada, tioredoksinle etkileşime giren proteinler, tioredoksinde ayrışır ve mitokondri fonksiyon bozukluğu sonucu sitozole salınan reaktif oksijen türlerinin etkisi altında NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetiklemek için NLRP3'e bağlanır. Daha sonra PAMP'ler veya DAMP'ler hücreye girer ve NLRP3 inflamazomunu aktive eder (156). Şekil 2.4.'de yukarıda anlatılan NLRP3 inflamazom aktivasyon mekanizmaları gösterilmiştir.



Şekil 2.4. NLRP3 inflamazom aktivasyon mekanizmaları (153).

ASC, Apoptoz ilişkili benek benzeri protein; ATP, Adenozin trifosfat; DAMP, Hasar ilişkili moleküler kalıplar; IL, İnterlökin; NF-κB, Nükleer faktör kappa B; NLRP3, NACHT, LRR ve PYD alanlarını içeren protein 3; PAMP, Patojen ilişkili moleküler kalıplar; P2X7, P2X purinoseptör 7; ROS, Reaktif oksijen türleri; TXNIP, Tioredoksin ile etkileşime giren protein.

2.6.2. Karaciğer Fibrozisinde İnflamazomların Rolü

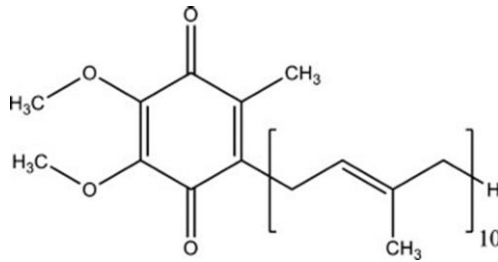
Karaciğer fibrozisi, siroz ve hepatoselüler karsinom gelişimine katkıda bulunduğu gösterilen ECM proteinlerinin birikmesi ile karakterize edilen kronik karaciğer hasarının ilerleyici bir şeklidir (8). Karaciğer fibrozisi, inflamazomlar tarafından hem doğrudan hem de dolaylı olarak düzenlenebilir. Doğrudan yola, karaciğerdeki ana profibrojenik hücre popülasyonu olan HSC'lerdeki inflamazom

ekspresyonu aracılık etmektedir. Ürik asit kristalleri gibi kanonik inflamazom aktivatörler, HSC'leri aktive edebilir. Ürik asit kristalleri, önemli bir profibrojenik sitokin olan TGF- β 1 ekspresyonunu yukarı regüle eder, HSC'leri aktive eder ve kollajen üretimini ve bunun ECM de birikmesini indükler (157, 158). Dolaylı yola ise Kupffer hücrelerinden türetilmiş IL-1 β ve IL-18 yoluyla HSC aktivasyonunun aracılık ettiği düşünülmektedir. PAMP'ler ve DAMP'ler, Kupffer hücrelerinde inflamazomları aktive eder ve Kupffer hücrelerinden türetilen IL-1 β , IL-1 β reseptörleri yoluyla HSC'lerin aktivasyonuna katkıda bulunur (159). Yapılan çalışmalar NLRP3 inflamazomlarının tüm bileşenlerinin, HSC'lerin çeşitli fonksiyonlarını düzenleyen ve HSC aktivasyonu ile ilişkili olan HSC'lerde mevcut olduğunu göstermiştir (157). NLRP3 inflamazomlarının aktivasyonundan sonra, kaspaz-1 aktive olur, pro-IL-18 ve pro-IL-1 β olgunlaşmış IL-1 β ve IL-18'e dönüşür. IL-1 β ve IL-18 ise HSC'lerin mekanositlere dönüşümünü destekleyebilir (160, 161). Yapılan birçok çalışma, karaciğer fibrozisinin gelişiminde NLRP3 aktivasyonunun ve kaspaz-1 aktivasyonu ve IL-1 β sinyali gibi aşağı akış efektörlerinin merkezi rolünü desteklemektedir (162-164). Watanabe ve ark. deneysel bir fare fibrozis modelinde IL-1 β seviyelerinin yükseldiği, IL-1ra'nın genetik tükenmesinin ise fibrotik fenotipe iyileşme ile sonuçlandığını göstermiştir (157). Ayrıca kaspaz-1, ASC ve NLRP3'ten yoksun farelerin, TGF- β ekspresyonunun azalmasıyla kanıtlandığı üzere çeşitli deneysel fare modellerinde fibrozis gelişimi üzerinde koruyucu bir etki gösterdiği bildirilmiştir (25, 165). Petrasek ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, yabani tip farelere kronik etanol verilmesi steatoz, karaciğer hasarı ve IL-1 β , pro-kaspaz-1, ASC ve NLRP3'ün hepatik ekspresyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, farelerin etanole maruz bırakılması karaciğerde kaspaz-1 aktivitesini artırmıştır, bu da inflamazom aktivasyonunun bir göstergesidir. IL-1r1-nakavt fareler ve kaspaz-1 veya ASC eksikliği olan fareler, etanolün indüklediği inflamazom ve IL-1 β aktivasyonundan korunmuş ve etanolün neden olduğu karaciğer hasarında ve steatozda azalma görülmüştür (26). Wree ve ark. NLRP3^{-/-} fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, kolon eksikliği olan aminoasit tanımlı diyetin neden olduğu karaciğer fibrozisinden neredeyse tamamen korunduğunu göstermiştir. Tamoksifen ile indüklenebilir fare modeli kullanılarak NLRP3 inflamazomunun geçici olarak kontrol edilen aktivasyonu, spontan karaciğer inflamasyonu ile sonuçlanmıştır. Alkolden bağımsız steatohepatit (nonalcoholic

steatohepatitis, NASH) hastaların karaciğerlerinde NLRP3 ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır. NLRP3 inflamazomunun, NASH gelişimi sırasında karaciğer hasarına ve özellikle karaciğer fibrozisine sebep olduğunu gözlemlenmiştir (166). CCl₄'ün veya tiyoasetamidin neden olduğu bir karaciğer fibrozis modelinde ise NLRP3 veya ASC bulunmayan farelerde TGF-β1 ekspresyonu önemli ölçüde azalmıştır (157). Mridha ve ark.'nın fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, NLRP3'ün *in vivo* inhibisyonunun, metabolik sendromla ilişkili alkolden bağımsız yağlı karaciğer hastalığında (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) karaciğer inflamasyonunu ve hepatosit hasarını azalttığı ve bunun sonucunda ortaya çıkan karaciğer fibrozisinde önemli bir azalma olduğunu tespit edilmiştir (167). Borau ve ark. da, diğer inflamazomların yanı sıra NLRP3 ekspresyon seviyesinin deneysel karaciğer fibrozisi sırasında arttığını göstermiştir (168).

2.7. Koenzim Q10 (CoQ10)

Koenzim Q10, insan vücudundaki hemen hemen her hücrede doğal olarak bulunan temel bir bileşiktir (31). 'Ubiquinone' olarak da adlandırılan CoQ10, Frederick Crane ve ark. tarafından 1957 de keşfedilmiştir (169, 170). CoQ10, Şekil 2.5.'de gösterildiği üzere uzun bir izoprenoid kuyruğu olan bir kinon türevidir.



Şekil 2.5. Koenzim Q10'un kimyasal yapısı (171).

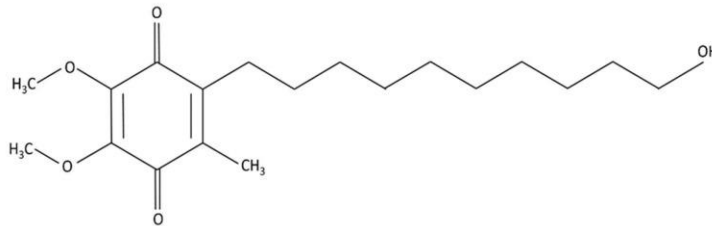
Kuyruğun uzunluğu türler arasında değişir, ancak insanlar dahil memelilerde en yaygını 10 izopren biriminden oluşur (31). CoQ10, en az üç mitokondriyal enzimin (kompleks I, II ve III) koenzimidir ve ATP üretimi için gereklidir (172). CoQ10, mitokondriyal solunum zincirinde difüze olabilen bir elektron taşıyıcısı olarak işlev gören, endojen, lipide çözünen bir benzokinondur (28, 29). CoQ10 mitokondrinin bol olduğu karaciğer, böbrek ve kalp gibi yüksek enerji gerektiren organlarda bulunur

(173). Hem doğrudan reaktif oksijen türlerini süpürme hem de dolaylı aktivite (hücrel vitamin E ve C rejenerasyonu ve GSH redüktaz ve SOD seviyelerinin artışı) ile CoQ10'un güçlü bir antioksidan olduğu ve hücrel membranlarda lipid peroksidasyonunu önleyebildiği gösterilmiştir (30). Dolayısıyla CoQ10 serbest radikalleri temizleyen, hücrel zarlarda lipid peroksidasyonunun başlamasını ve yayılmasını önleyen, güçlü bir antioksidan görevi görmektedir (31-33). Karaciğer dokusunda diklorvos kaynaklı oksidatif hasarı ve mitokondriyal disfonksiyonu hafifletmede CoQ10'un potansiyel rolünün araştırıldığı bir çalışmada CoQ10, ROS oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu etkili bir şekilde azaltarak hepatoprotektif özellik göstermiştir (174). Eftekhari ve ark. tarafından risperidonun sebep olduğu karaciğer hasarında CoQ10'un koruyucu rolünün olduğu hem in vitro hem de in vivo çalışmalarla tespit edilmiştir (37). Eghbal ve ark. da izole sıçan hepatositlerinde statinler tarafından oluşturulan sitotoksositeye karşı ROS oluşumu, lipid peroksidasyonu gibi parametreleri gözlemleyerek, koenzim Q10'un koruyucu etkisinin olduğunu bildirmiştir (175). Ayrıca CoQ10, NF- κ B gen ekspresyonunu inhibe ederek TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltan antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (176, 177). Fouad ve ark., asetaminofen tarafından indüklenen akut karaciğer hasarına karşı CoQ10 takviyesinin, TNF- α üretimini ve karaciğer aminotransferaz serum seviyelerini ve sıçanların karaciğerinde NF- κ B ekspresyonunu azalttığı gözlemlenmiştir (178). Kennedy ve ark., farelerde yaptıkları bir çalışmada CoQ10'un, psikoaktif bir madde olan khat'ın sebep olduğu TNF- α artışını azalttığını, karaciğer enzimlerinin serum seviyelerini düşürdüğünü gözlemiştir. Böylece khat kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarında CoQ10 kullanılmasının etkili olabileceği sonucuna varmıştır (179). Yapılan çalışmalar, çeşitli oksidatif ve inflamatuvar doku hasarı modellerinde CoQ10'un koruyucu etkilerini göstermiştir (180-183). Bu nedenle CoQ10, karaciğer dokusunu hasara karşı koruma potansiyeline sahiptir. Multipl açıl-KoA dehidrojenaz eksikliği hastalarından alınan elektron transfer flavoprotein-ubikinon dehidrojenaz (electron transfer flavoprotein-ubiquinone dehydrogenase, ETFDH) mutasyonlu lenfoblastoid hücrelerinin kullanıldığı çalışmada ETFDH disfonksiyonundan kaynaklı hasarda CoQ10 takviyesi ile mitokondriyal işlevin önemli ölçüde iyileştiği ve NLRP3 inflamazom oluşumunu protein düzeyinde inhibe ettiği ve IL-1 β ve hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (42). Başka bir

çalışmada ise Cordero ve ark. fibromiyaljide inflamazom aktivasyonunda mitokondri disfonksiyonunun olası bir sonucu olarak araştırılmasında, hem FM hastalarından alınan kan mononükleer hücrelerinde hem de CoQ10 eksikliğinin *in vitro* ve *in vivo* olmak üzere iki modelinde patolojik mekanizmalarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda CoQ10 takviyesinin serum IL-1 β ve IL-18 serum düzeylerini ve NLRP3 mRNA düzeylerini azalttığı gösterilmiş, CoQ10'un inflamazom aktivasyonunu azalttığı ve bu yolağın fibromiyalji tedavisinde yeni bir moleküler hedef olabileceği sonucuna varılmıştır (41). Zhang ve ark. tarafından CoQ10'un, hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı (IRI) ile indüklenen hepatik ROS üretimini ve karaciğer hasarını hafiflettiği ve NLRP3 inflamazom sinyallerini baskıladığı ve IL-1 β ve IL-18 seviyelerini düşürdüğü gözlemlenmiş, CoQ10'un hepatik IRI için umut verici bir tedavi olabileceği gösterilmiştir (27). Alanyazında bu üç çalışma dışında CoQ10'un inflamazom ile ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır; bununla birlikte alkole bağlı karaciğer fibrozisinde hepatoprotektif etkisinin inflamazom yolağı üzerinden değerlendirildiği mekanistik bir çalışma da yer almamaktadır.

2.8. İdebenon

İdebenon (İDE), 1980'lerde Takeda Pharmaceuticals tarafından nörodejeneratif durumların tedavisi için geliştirilen ve Japonya'da 1986 yılında onaylanan, CoQ10'un sentetik bir analogudur (31, 184). CoQ10, sulu çözeltilerde az çözünür ve bu nedenle farmakokinetiği iyileştirmek amacıyla CoQ10'un bir dizi kısa zincirli analogu olan İDE sentezlenmiştir (185). İDE, daha yüksek bir etkiye ve daha uygun farmakokinetik profile sahiptir (186, 187). Yapısal olarak, CoQ10 ve İDE aynı 1,4-benzokinon halkasını taşır, ancak karbon 2'de farklı bir yan zincire sahiptirler. İDE, Şekil 2.6.'da gösterildiği üzere bir hidroksidesil yan zincire (10 karbon atomu) sahipken CoQ10, izopren parçalarının uzun bir yan zincirine sahiptir (185).



Şekil 2.6. İdebenonun kimyasal yapısı (188).

CoQ10 ve İDE aralarındaki yapısal benzerliğe rağmen, her iki molekül de fizikokimyasal özellikleri bakımından önemli ölçüde farklılık gösterir (189). CoQ10'un kuyruğundaki 50 karbon atomu, bu molekülü suda çözünmez hale getirir. İDE ise çok daha kısa bir kuyruğa (10 karbon atomu) sahiptir ve CoQ10'dan farklı olarak, moleküle polarite sağlayan bir terminal hidroksil grubunu da barındırır (189). Dolayısıyla İDE, lipofilitesinin daha az olması ile CoQ10'dan farklıdır. Ancak yine de CoQ10 gibi suda çözünürlüğü azdır ve benzer şekilde sulu taşıyıcılarda çözülerek uygulanamaz (185, 189). Bununla birlikte, İDE herhangi bir organizma tarafından sentezlenemez ve bu nedenle doğal kaynaklardan izole edilemez (189). İDE, potent bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme kabiliyetiyle, hücre zarını ve mitokondriyi oksidatif hasardan korur (190). İDE'un oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerindeki bu etkileri çok sayıda çalışma ile araştırılmıştır (191-193). Antioksidan özelliği ile merkezi sinir sistemini sinir hasarı ve serebral iskemiye karşı korur (190). Günümüzde de yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle Freidrich ataksisi ve Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (194).

Oksidatif stres, karaciğer hastalıklarının da altta yatan mekanizmalarından biridir. Literatürde İDE'un karaciğer hasarında etkinliğinin antioksidan veya antifibrinojenik mekanizmalarla gösterildiği çalışmalar bulunmaktadır (38, 39, 195, 196). Yine İDE'un NLRP3 inflamazom aktivasyonu ile çalışmasının değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Peng ve ark.'nın yaptığı çalışma ile İDE'un iskemi reperfüzyon nöron hasarında NLRP3 aktivasyonu üzerinden nöronal hasarı önleyip önlemediği değerlendirilmiştir. İDE'un hem ROB hasarını azalttığı hem de iskemi reperfüzyonda NLRP3 aracılı inflamatuvar hasarı iyileştirdiği gösterilmiş ve iskemik hasarın tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşım olabileceği belirtilmiştir (197). Lee ve ark. da İDE'un NLRP3/IL-1 β yolağını inhibe ederek, vahşi tip farelerde lipopolisakkarit veya amiloid- β kaynaklı nöroglioz ve bilişsel işlev bozukluğunu giderdiğini göstermişlerdir (198). İDE'un mtROS ve NLRP3 inflamazom aktivasyonunu azaltarak apolipoprotein E nakavt (ApoE $^{-/-}$) farelerde aterogenezi inhibe ettiği bildirilmiştir (23). Yu ve ark. ise ApoE $^{-/-}$ fareler üzerinde yaptıkları çalışmada İDE'nin, oksidatif stresi ve NLRP3 aktivasyonunu baskılayarak ateroskleroza önlediğini raporlamışlardır (199).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.1.'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Deneyleerde kullanılan kimyasal maddeler.

Kullanılan Kimyasal Maddeler	Firma Adı
β-aktin primer prob	Applied Biosystems
cDNA sentez kiti	Applied Biosystems
CoQ10	DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti.
Etanol (%99,9)	Bio-Rad
Formaldehit	Merck
İdebenon	Neutec İlaç Sanayi Ticaret A.Ş.
İnterlökin-1β primer prob	Applied Biosystems
İnterlökin-18 primer prob	Applied Biosystems
Kaspaz-1 primer prob	Applied Biosystems
Ketamin	Vem İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.
Ksilazin (%2)	Bioveta
NF-κB primer prob	Applied Biosystems
NLRP3 primer prob	Applied Biosystems
PCR master mix	Taqman
RNA izolasyon kiti	Applied Biosystems

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tez çalışmasında kullanılan laboratuvar araç ve gereçleri, Tablo 3.2.'de listelenmiştir.

Tablo 3.2. Deneyleerde kullanılan araç ve gereçler.

Cihaz	Model ve Marka
Biyogüvenlik kabini	ESCO, Class II BSC, Sentinel Gold
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu (-20°C)	Siemens
Derin dondurucu (-80°C)	New Brunswick U410 Premium
Doku homejenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen, Almanya
Elisa okuyucu	Epoch Microplate Spect, BioTek, ABD
Etüv	BINDER
Hassas terazi	Shimadzu AUW220D
Kafes	Tecniplast, İtalya
Manyetik karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Almanya
Mikroplate yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, ABD
Nanodrop okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek
Otomatik pipet seti	Eppendorf, Research Plus
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Almanya
Real-Time PCR cihazı	Applied Biosystems
RNA izolasyon cihazı	QIAcube, Qiagen
Saf su sistemi	Ultrapure (type 1) Water-Merck Millipore
Sıvı Azot Tankı	Taylor Wharton, LS750
Soğutmalı santrifüj	Hettich Zentrifugen 320R, Almanya
Su banyosu	Memmert, SV1422
Thermal Cycler Veriti	Applied Biosystems, CA, ABD

3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Etanol çözeltisi: %99,9 (h/h) etanol distile suda çözülerek deney hayvanlarına oral olarak günde 2, 4 ve 6 g /kg etanol uygulanacak şekilde hazırlandı.

İdebenon çözeltisi: 2 ml distile suda 50 ve 100 mg/kg/gün dozlarında oral verilmek üzere hazırlandı.

CoQ10 çözeltisi: 2 ml distile suda çözülerek 10 ve 20 mg/kg/gün dozlarında oral verilmek üzere hazırlandı.

Ksilazin (%2): Sedasyon amacıyla kullanıma hazır ksilazin 15 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

Ketamin: Anestezi için 100 mg/kg intraperitoneal ketamin kullanıldı; anestezi sırasında ksilazin ile kombine olarak verildi.

3.2. Deney Hayvanları

Atatürk Üniversitesi Tıbbi ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (ATADEM) ağırlıkları 220-240 g arasında değişen 64 adet albino Wistar dişi sıçan temin edildi.

Sıçanlar standart plastik kafeslerde, iyi havalandırılan bir odada, 22 ± 1 °C sıcaklıkta, 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde barındırıldı. Sıçanlara yeterli kadar musluk suyu ve standart pelet yem sağlandı.

Tez çalışmasında uygulanan hayvan bakımı ve deney protokolleri, Avrupa Birliği (AB) Direktifi 2010/63/EU doğrultusunda faaliyet gösteren Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) 176 nolu etik kurul kararı, 30.11.2020 tarihli ve 75296309-050.01.04-E.2000302703 sayılı yazısı ile onaylanmıştır.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Deney Planı

Tez çalışmasında deney hayvanları 8 gruba ayrıldı. Deney hayvanlarına uygulamalar oral olarak verildi ve deney 30 gün boyunca gerçekleştirildi. Deney grupları Tablo 3.3.'deki gibi planlandı.

Tablo 3.3. Deneylerde kullanılan hayvanların sayıları ve uygulama dozları.

Grup numarası	Grup	Uygulanan doz(lar)
1	Kontrol	-
2	Etanol (EtOH)	6 g/kg
3	EtOH ve CoQ 10	6 g/kg ve 10 mg/kg
4	EtOH ve CoQ 20	6 g/kg ve 20 mg/kg
5	EtOH ve İDE 50	6 g/kg ve 50 mg/kg
6	EtOH ve İDE 100	6 g/kg ve 100 mg/kg
7	CoQ10	20 mg/kg
8	İDE	100 mg/kg

Sağlıklı kontrol (Grup 1), CoQ10 (Grup 7) ve İDE (Grup 8) haricindeki deney gruplarında hepatotoksisite, ağızdan (p.o.) uygulanan etanol ile indüklendi. Daha önce yapılan bir çalışmadaki yöntem kullanılarak 1-3. günlerde 2 g/kg/gün (p.o.) etanol, 4-6. günlerde 4 g/kg/gün (p.o.) etanol ve son olarak 7-30. günler boyunca 6 g/kg/gün (p.o.) etanol olacak şekilde artırılarak uygulandı (200). Grup 3, 4 ve 7'ye, 30 gün boyunca 2 mL distile su içerisinde farklı dozlarda CoQ10 (10 veya 20 mg/kg/gün, p.o.) gavajla uygulandı (201). Aynı zamanda Grup 5, 6 ve 8'e 30 gün boyunca 2 mL distile su içerisinde farklı dozlarda İDE (50 veya 100 mg/kg/gün, p.o.) uygulandı (40). CoQ10 ve İDE'nin olası etkilerini değerlendirmek için Grup 7 ve 8'e sırasıyla en yüksek CoQ10 (20 mg/kg/gün, p.o.) ve İDE (100 mg/kg/gün, p.o.) dozları uygulandı.

Deney süresinin tamamlanmasıyla birlikte (31. günde) 8 deney grubundaki sıçanlara (n=64), ketamin ve ksilazin kombinasyonu anestezi için uygulandı. İntrakardiyak yöntem ile her deney hayvanından kan örneği alındı. Toplanan kanlar, 4.000 rpm'de 4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve elde edilen serumlar -80 °C'de saklandı. Karaciğerler sakrifiye edildikten hemen sonra çıkarıldı; bir kısmı %10 (h/h) formalinde sabitlendi ve daha sonra histopatolojik analiz için parafine gömüldü. Kalan karaciğer dokusu homojenize edilerek biyokimyasal ve moleküler analiz için -80 °C'de saklandı.

3.3.2. Biyokimyasal Analizler

- **Serumda Yapılan Analizler**

Serum hepatotoksisite belirteçlerinin analizi, Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Biyokimya Laboratuvarlarında hizmet alımı şeklinde yapıldı. Serum GGT (ref: GT8320), ALT (ref: AL3801), AST (ref: AS8306), ALP (ref: AP8302) ve TBIL (BR8377) düzeyleri, Randox Laboratories (Country Antrim, UK) ticari kitleri kullanılarak, üreticinin talimatlarına göre bir RX Otomatik Kimya Analizöründe (Randox Laboratories) ölçüldü.

- **Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler**

Protein Tayini

Karaciğer dokusunda protein tayini, ticari protein standartları (Total protein kiti-TP0300-1 KT; Sigma Chemical Co., Münih, Almanya) ile Lowry yöntemine dayanarak gerçekleştirilmiştir (190).

Lowry yönteminde peptid bağları ile alkali bakır tartarat kompleks bileşik oluşturmaktadır. Bakır ile muamele edilen bu karışıma fenol ayırıcı eklendiğinde mor-mavi renk oluşumu gözlenir ve 650 nm dalga boyunda mor-mavi rengin absorbansı ölçülür.

Kullanılan Reaktifler

Protein Standartının Hazırlanması: 32 mg BSA 10 ml distile suda çözülerek hazırlanır.

Lowry Reaktif Çözeltisinin Hazırlanması: 2 g Lowry reaktifi üzerine 40 ml distile su eklenir ve iyice karıştırılarak çözelti hazırlanır.

Folin & Ciocalteu's Fenol Reaktif Çözeltisinin Hazırlanması: 450 µl Reaktifin üzerine 4,75 ml distile su eklenerek hazırlanır.

Deneyin Yapılışı

1. Standartların ekleneceği dışındaki kuyucuklara 95 µl distile su eklenir.
2. Kuyucuklara standartlardan 100'er µl ve örneklerden 5'er µl eklenir.

3. Plak çalkalayıcıda 10 dakika hafif çalkalanarak inkübe edilir.
4. 96 kuyucuğa 50 µl Lowry Reagent çözeltisi eklenir.
5. Oda sıcaklığında plak 20 dakika inkübe edilir.
6. Tüm kuyucuklara çalışma çözeltisinden 50 µl eklenir.
7. Oda sıcaklığında plak 30 dakika inkübe edilir.
8. ELISA plak okuyucuda 750 nm'de absorbans (Abs.) ölçümü yapılır.

Dokuda Protein Hesaplanması:

$$\mu\text{g protein / mL} = (\text{Örnek Abs. / Standart Abs.}) \times \text{Standart Konsantrasyonu}$$

Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Sun ve ark.'nın geliştirdiği yöntem ile SOD tayini yapıldı (202). Bu yöntemin ana prensibi nitroblue tetrazolium (NBT)'un süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Ksantin oksidaz ile ksantin oksidasyonu sırasında açığa çıkan O_2^- nin NBT'yi redükleyerek formazon oluşması yöntemin esasıdır. SOD aktivitesi yükseldikçe, NBT ile reaksiyona giren O_2^- miktarı ve formazon oluşumu azalır.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu olarak fosfat tamponlanmış tuz (Phosphate buffered saline, PBS)
2. Ölçüm karışımı: 40 mL Ksantin (0,3 mM), 20 mL etilendiamin tetraasetik asit (EDTA; 0,6 mM), 20 mL NBT (150 µM), 12 mL disodyum karbonat (Na_2CO_3 ; 0,4 M) ve 1,2 g/L konsantrasyonda olacak şekilde sığır serum albumini (Bovine serum albumine, BSA)
3. Ksantin oksidaz (167 U/L)
4. Tris-hidroklorik asit (50 mM, pH: 8): 0,0788 g Tris alınır. 9 mL distile suda çözülür. Çözeltinin pH'sı 8'e ayarlanır ve distile su ile 10 mL'ye tamamlanır.
5. 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2 ml)
6. SOD stok ve standart çözeltileri:
 - Stok 1: SOD standartları hazırlanırken ilk önce SOD (4557 U/mg) (S7571-75 KU, Sigma) katısından 50mM Tris-HCl ile çözülür. (4557 U/ml)

- Stok 2: Stok 1'den $\frac{1}{4}$ oranında 50mM Tris-HCl ile seyreltme yapılır. (182,28 U/ml)
- Hazırlanan stok 2 çözeltisinden seri dilüsyon ile standart çözeltiler hazırlanır.
- SOD standart çözeltilerinin konsantrasyonları sırasıyla 91 U/mL, 45,5 U/mL, 22,75 U/mL, 11,375 U/mL, 5,68 U/mL, 2,84 U/mL, 1,42 U/mL, 0 U/mL'dir.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonu:

1. Karaciğer dokuları PBS ile yıkandı.
2. Dokular, Qiagen Tissue Lyser II homojenizatöründe sıvı azot yardımı ile homojenize edildi.
3. Herbir karaciğer homojenatına 1 mL PBS eklenerek Qiagen Tissue Lyser II homojenizatörü ile 30 hertz'de 3 dk tekrar homojenize edildi.
4. Homojenat, 4°C'de 12.000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edildi.
5. Süpernatantlar alındı ve absorban ölçümleri yapıldı.

96 kuyucuklu plaklara uygulama basamakları aşağıdaki gibi yapıldı:

- I. Kuyucuklara 50 μ l örnek veya standart eklendi.
- II. Kör olarak kullanılacak kuyucuklara 50 μ l homojenat tamponu eklendi.
- III. Tüm kuyucuklara ölçüm karışımı 200 μ l eklendi.
- IV. Tüm kuyucuklara ksantin oksidaz 20 μ l eklendi.
- V. Kuyucuklara ksantin oksidaz eklendikten sonra 25 °C'de 20 dk boyunca karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
- VI. İnkübasyon sonrası 560 nm'de absorban değerleri ölçüldü.

SOD Enzim Aktivitesinin Hesaplanması:

Önceden hazırlanmış SOD standart çözeltileri ile oluşturulan standart doğru grafiği kullanılarak örneklerdeki bilinmeyen SOD enzim aktivitesi hesaplandı. SOD aktiviteleri U/mg protein şeklinde ifade edildi. Her bir örnek ile 3 defa tekrar yapılmış ve ortalama sonuç değerlendirmeye alındı.

Total Glutatyon (GSH) Tayini

Sedlak ve ark.'nın geliştirdiği yöntem ile GSH tayini yapılmıştır (203). Ölçüm ortamındaki 5,5'-ditiyobis (2- nitrobenzoik asit) (DTNB), yapısında disülfid [S-S] bulunduran kromojen bir maddedir ve sülfhidril grubuna sahip bileşikler ile reaksiyona girerek kolayca indirgenir. Ortaya çıkan sarı renk 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Kullanılan Reaktifler

1. PBS (Homojenat tamponu)
2. 0,2 mM EDTA içeren 200 mM pH 8,2 Tris-HCl (Ölçüm tamponu)
3. 10 mM DTNB ve metanol karışımı (h/h)
4. Standart GSH stok çözeltisi

Deneyin Yapılışı

Önceki analizde olduğu gibi doku homojenizasyonunu takiben yapılan santrifüj sonrası süpernatant kısım alınarak GSH ölçümü yapıldı.

Çalışma 96 kuyucuklu plaklarda, aşağıdaki basamaklara göre yapıldı:

- I. Kuyucuklara 25 µL örnek ve standartlar eklendi.
- II. 25 µL homojenat tamponu kör olarak kullanılacak kuyucuklara eklendi.
- III. Ölçüm tamponu tüm kuyucuklara 150 µL eklendi.
- IV. Kuyucuklara DTNB 10 µl eklendi ve 37°C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- V. İnkübasyonun ardından 412'nm de ELISA cihazında absorbans değerleri ölçüldü.

GSH Miktarının Hesaplanması:

Hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart doğrudan yararlanılarak ölçümler hesaplandı. GSH konsantrasyonları, nmol/mg protein şeklinde ifade edildi. Her bir karaciğer doku homejanatında GSH miktarı 3 tekrar yapılarak belirlendi ve sonuçların ortalamaları verildi.

Malondialdehit (MDA) Tayini

Ohkawa ve ark.'nın geliştirdiği yöntem kullanılarak lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA tayini yapılmıştır (204). Tiyobarbitürik asit (TBA) reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre MDA miktarı ölçüldü. Malondialdehit ile TBA 90-95°C'de reaksiyona girerek pembe renkli kromojen oluşturur.

Kullanılan Reaktifler

1. Homejanat tamponu olarak PBS kullanıldı.
2. Ölçüm tamponu olarak %8 sodyum lauril sülfat (SLS), %0,08 TBA, %20 asetik asit karışımı kullanıldı.
3. 1,1,3,3-Tetraetoksipropan (MDA) stok standart.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenizasyonunu takiben yapılan santrifüj sonrası süpernatantlar MDA ölçümü için kullanıldı.

Çalışma 96 kuyucuklu plak kullanılarak, aşağıdaki basamaklara göre yapıldı:

- Kuyucuklara standartlar ve örenkler sırasıyla 10 µL ve 50 µL eklendi.
- Plate'in kör kısmına 10 µL PBS eklendi.
- Tüm kuyucuklara 190 µL ölçüm tamponu konuldu.
- Elde edilen karışım, bir buçuk saat 90°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra plak, 4000 rpm de, 4°C'de, 15 dk santrifüjlendi.
- Süpernatantlar alındı ve 532 nm dalga boyunda absorbanları okundu.

MDA Miktarının Hesaplanması:

Standart doğru grafiği çizildi ve ölçüm sonuçları hesaplandı. Örneklerin MDA miktarı nmol/mg protein olarak verildi. Her bir örnek 2 tekrar ölçüldü ve ortalama verildi.

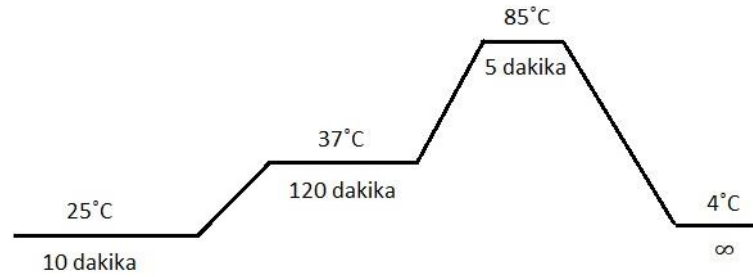
3.3.3. Moleküler Analizler

Total RNA İzolasyonu

-80 °C’de saklanan karaciğer dokuları çıkarılarak sıvı azot yardımıyla öğütüldü ve 30 mg doku tartıldı. Karaciğer dokularının tartımından sonra dokular vida kapaklı tüplere alındı ve üzerlerine steril bilye ile homojenat tamponu eklendi. Homojenat tamponu olarak RNeasy Mini Kit (Qiagen) protokolüne uygun bir şekilde her 30 mg dokuya 350 µl RLT tamponu kullanıldı. Eklemeler yapıldıktan sonra Tissue Lyser II (Qiagen) cihazında 30 hertz de 2 dk homojenizasyon yapıldı. Homojenatlar 14.000 rpm’de 3 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda mRNA izolasyonu QIAcube cihazında RNeasy Mini Kit (Qiagen) yardımıyla ve kit için önerilen protokol takip edilerek yapıldı. Elde edilen mRNA’ların miktarları nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3, Biotek) kullanılarak 260/280 nm de ölçüldü ve mRNA’lar -80°C’de saklandı.

Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi

Karaciğer dokularından elde edilen total RNA’lardan, High Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon 10 µL RNA ile gerçekleştirildi. cDNA sentezi Şekil 3.2.’deki sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile yapıldı. Tablo 3.4’de ki cDNA sentez reaksiyon değerlerine uyularak cDNA sentezi gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. cDNA sentez protokolü

Tablo 3.4. cDNA sentez reaksiyonu.

Master Karışım (Mix) İçeriği	Mix Miktarı (µL)
Total RNA	10
10 × RT Buffer	2
25 × dNTPs mix	0,8
10 × RT Random Primers	2
DEPC- H ₂ O	4,2
MultiScribe Reverse Transcriptase	1
Toplam	20

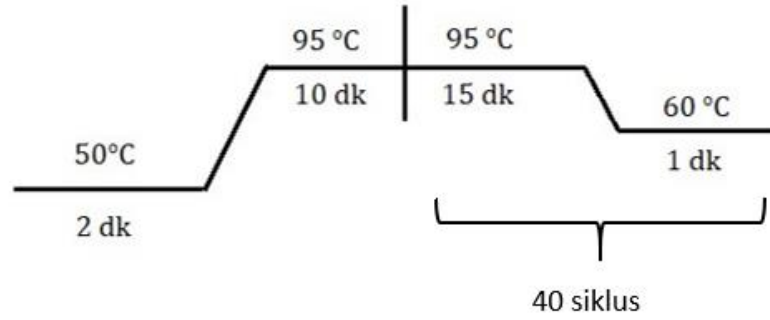
Real time PCR ile mRNA Ekspresyonlarının Kantitatif Olarak Belirlenmesi

StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems) cihazında sentezlenen cDNA'lar kullanılarak NF-κB, kaspaz-1, IL-18, IL-1β, NLRP3 ve TGF-β mRNA ekspresyonları ölçüldü.

Taq Man Gene Expression Master Mix kiti kullanılarak kantifiye edildi. Sıçanlara özgü NF-κB, Rn01399572_m1; kaspaz-1, Rn00562724_m1; IL-18, Rn01422083_m1; IL-1β, Rn00580432_m1; NLRP3, Rn04244622_m1; TGF-β, Rn00572010_m1; and β-actin, Rn00667869_m1 primerleri kullanıldı. β-actin endojen kontrol geni olarak kullanıldı ve her bir cDNA örneği için üç tekrar yapıldı.

96 kuyucuklu plaklarda 9 µL cDNA (100 ng), 10 µL TaqMan Master Miks, 1 µL Primer Perfect Probe mix olacak şekilde toplam reaksiyon hacmi her bir kuyucukta RNase free water ile 20 µl'ye tamamlandı.

Hazırlanan plak 2 dk 50°C, 10 dk 95 °C'de bir siklüs ve 15 sn 94 °C, 60 sn 60 °C'de 40 siklüs olacak şekilde yürütüldü (Şekil 3.3.). Tüm sonuçlar $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı ve kontrol grubuna göre kat-değişim (fold change) olarak ifade edildi (205).



Şekil 3.2. Gerçek zamanlı PCR reaksiyon ısı ve süreleri

3.3.4. Histopatolojik Analizler

Parafine gömülü karaciğer doku bloklarından mikrotom ile (Leica Microsystems, Almanya) 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Sinüzoidlerde ve portal alanlarda genişleme, konjesyon ve infiltrasyon dahil olmak üzere fibrozisi değerlendirmek için Masson Trichrome' ile boyandı.

Abromow ve ark.'nın (206) modifiye yöntemine göre değerlendirilen histolojik parametreler aşağıdaki gibidir:

- Portal alan ve vena sentralis çevresinde fibrozis, sinüzoidlerde ve sentral venlerde genişleme, konjesyon ve infiltrasyon değişmesi.
- Parametrelerin her biri 0 ile 3 arasındaki skorlama ile değerlendirilmesi; 0=yok, 1=en az (minimum), 2=orta, 3= en fazla (maksimum) (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Histopatolojik skorlama sistemi.

Değişken	Skor			
	0	1	2	3
Fibrozis (portal alan/vena sentralis çevresi)	Mavi alan yok	Portal alanının yakınında veya vena sentralis çevresinde nadir mavi alanlar	Portal alanının yakınında veya vena sentralis çevresinde orta derecede mavi alanlar	Portal alanının yakınında veya vena sentralis çevresinde şiddetli mavi alanlar
Sinüzoidal/ Vena sentralis dilatasyonu	Mavi alan yok	1,5 x kontrol grubu	2 x kontrol grubu	>2 x kontrol grubu
Konjesyon	Mavi alan yok	Birkaç eritrosit	Neredeyse yarı dolu damar lümeni	Tam konjesyonel lümen

3.3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS; sürüm 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. Tüm istatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. p değerinin $<0,05$ olması, gruplar arası anlamlı farklılıkların göstergesi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

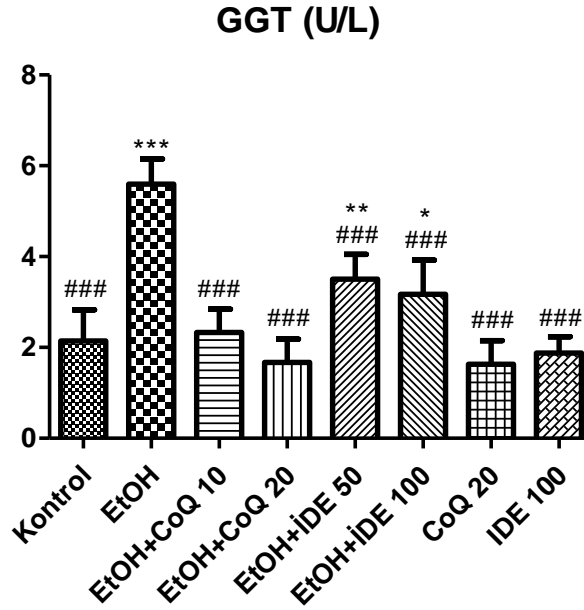
4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Hepatotoksisite Belirteçleri

Deneysel olarak etanol ile oluşturulan karaciğer hasarını göstermek ve CoQ10 ve İDE'nin, etanolün indüklediği karaciğer fibrozisine etkilerini değerlendirmek için saptanan serum GGT, ALT, AST, ALP ve TBIL düzeyleri Tablo 4.1'de sunuldu.

Kontrol olarak belirlenen Grup 1 ile karşılaştırıldığında, Şekil 4.1'de de gösterildiği üzere etanol uygulamasının (Grup 2) GGT düzeylerini önemli ölçüde artırdığı saptandı ($p=0.001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında CoQ10 verilen Grup 3 ve Grup 4 GGT düzeylerinde doz bağımlı azalma olsa da (her ikisi de $p=0,001$), bu dozlar arasında GGT düzeylerinde azalmanın istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında GGT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı (her ikisi de $p>0,05$) ve GGT düzeylerinin kontrol ile aynı düzeylere indiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, GGT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının GGT düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında GGT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu (her ikisi de $p>0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında GGT düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozlarının uygulanması (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) GGT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). GGT düzeyleri İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının GGT düzeylerini değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'daki GGT düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (sırasıyla $p=0,001$, $p<0,01$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında, Grup 3'ün GGT düzeylerini Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p<0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin

yüksek dozu arasında ise (Grup 3 ile Grup 6) GGT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün GGT düzeylerini Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0001$).



Şekil 4.1. Serum GGT düzeyleri.

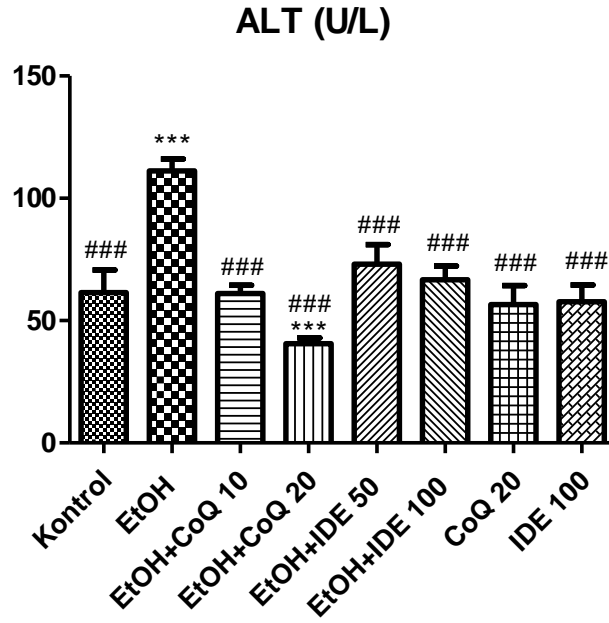
GGT, γ -glutamil transferaz; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$.

Tablo 4.1. Hepatotoksisite belirteçlerinin sonuçları.

GRUP	GGT (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	TBIL (μ mol/L)
1 (Kontrol)	2,14 \pm 0,69 ^{###}	61,4 \pm 9,2 ^{###}	243 \pm 21 ^{###}	175 \pm 26 ^{###}	2,93 \pm 0,83 ^{###}
2 (EtOH)	5,60 \pm 0,55 ^{***}	111 \pm 4,9 ^{***}	438 \pm 24 ^{***}	265 \pm 13 ^{***}	5,47 \pm 0,76 ^{***}
3 (EtOH + CoQ 10)	2,33 \pm 0,52 ^{###}	61,0 \pm 3,4 ^{###}	246 \pm 9 ^{###}	175 \pm 11 ^{###}	3,13 \pm 0,70 ^{###}
4 (EtOH + CoQ 20)	1,67 \pm 0,52 ^{###}	40,5 \pm 2,4 ^{###,***}	189 \pm 10 ^{###,***}	149 \pm 5 ^{###,*}	2,28 \pm 0,88 ^{###}
5 (EtOH + İDE 50)	3,50 \pm 0,55 ^{###,**}	73,0 \pm 8,0 ^{###}	260 \pm 5 ^{###}	184 \pm 3 ^{###}	4,27 \pm 0,94
6 (EtOH + İDE 100)	3,17 \pm 0,75 ^{###,*}	66,7 \pm 5,6 ^{###}	244 \pm 6 ^{###}	175 \pm 7 ^{###}	3,13 \pm 0,70 ^{###}
7 (CoQ 20)	1,63 \pm 0,52 ^{###}	56,6 \pm 7,7 ^{###}	238 \pm 23 ^{###}	179 \pm 10 ^{###}	2,13 \pm 0,79 ^{###}
8 (İDE 100)	1,88 \pm 0,35 ^{###}	57,6 \pm 6,9 ^{###}	205 \pm 21 ^{###,**}	160 \pm 16 ^{###}	2,13 \pm 0,79 ^{###}

EtOH: Etanol; CoQ: Koenzim Q10; İDE: İdebenon GGT: γ -glutamil transferaz ALT: Alanin transaminaz AST: Aspartat transaminaz ALP: Alkalın fosfat TBIL: Total bilirubin. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve Tukey testleri kullanılarak yapıldı; Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca *p<0,05; **p<0,01; ***p <0,001 ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca #p<0,05; ##p<0,01, ###p<0,001.

Kontrol grubu ile kıyaslayınca, etanol uygulaması yapılan Grup 2’de ALT düzeyinin daha yüksek olduğu bulundu (Şekil 4.2; $p=0,001$). Grup 2’ye kıyasla CoQ10 verilen Grup 3 ve Grup 4’ün ALT düzeylerinin doza bağımlı olarak önemli ölçüde azaldığı (her ikisi de $p=0,001$), aynı zamanda bu dozlar arasında da Grup 4’ün ALT düzeylerini Grup 3’e göre önemli ölçüde azalttığı saptandı ($p=0,001$). Grup 1 ile Grup 3 karşılaştırıldığında ALT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p>0,05$). Fakat Grup 1 ile Grup 4 karşılaştırıldığında, Grup 4’ün ALT düzeylerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, ALT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının ALT düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ALT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ise etanol ile birlikte uygulanan 20 mg/kg CoQ10 grubunun (Grup 4) ALT düzeylerini önemli ölçüde daha çok azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). Tek başına etanol ile verilen Grup 2 ile İDE’nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında ALT düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). Ancak İDE’nin farklı dozlarının uygulanmasının (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). ALT düzeyleri İDE’nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve Grup 6, kontrolle (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında da anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının ALT düzeylerini değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6’da ALT düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p<0,01$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE’nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) ALT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10’un yüksek dozu ile İDE’nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4’ün ALT düzeylerinin Grup 5 ve Grup 6’ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10’un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

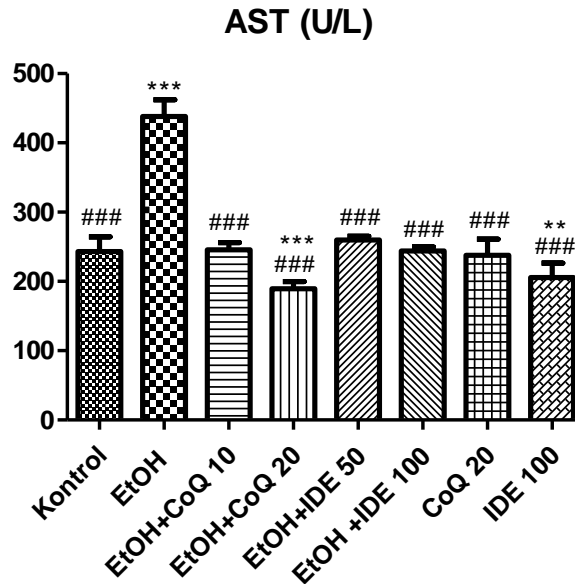


Şekil 4.2. Serum ALT düzeyleri.

ALT, Alanin transaminaz; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Etanol uygulaması yapılan grup (Grup 2), Grup 1 ile karşılaştırıldığında Şekil 4.2.'de de gösterildiği üzere Grup 2'nin AST düzeyini önemli ölçüde artırdığını gösterdi ($p=0,001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında farklı dozlarda CoQ10 uygulanan Grup 3 ve Grup 4 AST düzeylerinde doz bağımlı azalma olduğu (her ikisi de $p=0,001$) ve bu dozlar arasında AST düzeylerini Grup 4'ün önemli ölçüde daha fazla azalttığı tespit edildi ($p=0,001$). Grup 1 ile Grup 3 karşılaştırıldığında AST düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Fakat Grup 1 ile Grup 4 karşılaştırıldığında, Grup 4'ün AST düzeylerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, AST düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının AST düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında AST düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu ($p > 0,05$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ise etanol ile birlikte uygulanan 20 mg/kg CoQ10 grubunun (Grup 4) AST düzeylerini önemli ölçüde daha çok azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında AST

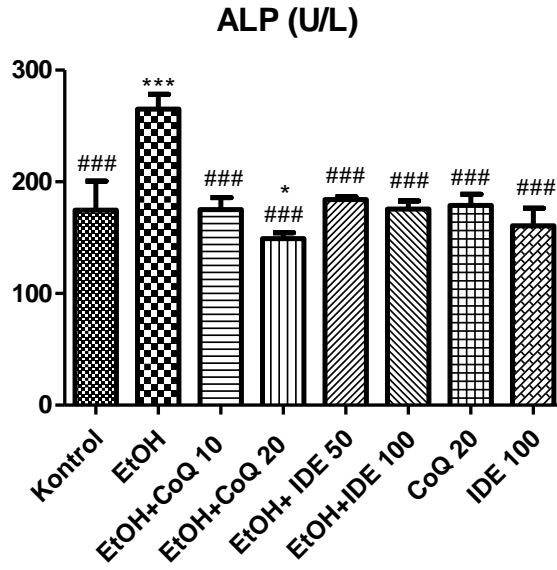
düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasının (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). AST düzeyleri İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve Grup 6, kontrolle (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının AST düzeylerini değiştirmediğini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da AST düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p<0,01$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) AST düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün AST düzeylerinin Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).



Şekil 4.3. Serum AST düzeyleri.

AST, Aspartat transaminaz; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$.

Ölçüm sonuçlarına göre, etanol uygulanan grupta ALP düzeyleri önemli ölçüde arttı ($p=0,001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında farklı dozlarda CoQ10 uygulanan Grup 3 ve Grup 4 ALP düzeylerinde doz bağımlı azalma olduğu (her ikisi de $p=0,001$) ve bu dozlar arasında ALP düzeylerini Grup 4'ün önemli ölçüde daha fazla azalttığı tespit edildi ($p=0,001$). Grup 1 ile Grup 3 karşılaştırıldığında ALP düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p>0,05$). Fakat Grup 1 ile Grup 4 karşılaştırıldığında, Grup 4'ün ALP düzeylerini önemli ölçüde azalttığı gözlemlendi ($p<0,05$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, ALP düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının ALP düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ALP düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ise etanol ile birlikte uygulanan 20 mg/kg CoQ10 grubunun (Grup 4) ALP düzeylerini önemli ölçüde daha çok azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında ALP düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasının (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) ALP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). ALP düzeyleri İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve Grup 6, kontrolle (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının ALP düzeylerini değiştirmediğini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da ALP düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p<0,05$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) ALP düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün ALP düzeylerinin Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

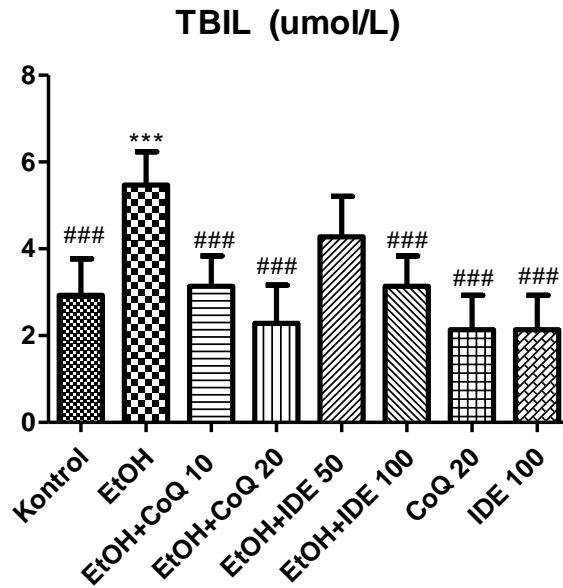


Şekil 4.4. Serum ALP düzeyleri.

ALP, Alkalin fosfataz; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Total bilirübin düzeyleri için Grup 1 ile yapılan karşılaştırmada, Grup 2'deki TBIL düzeyi ortalamasının önemli ölçüde fazla olduğu görüldü ($p=0,001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında CoQ10 verilen Grup 3 ve Grup 4 TBIL düzeylerinde doz bağımlı azalma olsa da (her ikisi de $p=0,001$) bu dozlar arasında TBIL düzeylerinde azalmanın istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında TBIL düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de $p > 0,05$) ve TBIL düzeylerinin kontrol ile aynı düzeylere indiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, TBIL düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının TBIL düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında TBIL düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu (her ikisi de $p > 0,05$). Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında TBIL düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (sırasıyla $p < 0,01$, $p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasının (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) TBIL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p > 0,05$). TBIL düzeyleri İDE'nin artan dozlarının

uygulandığı Grup 5 ve Grup 6, kontrolle (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının TBIL düzeylerini değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da TBIL düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) TBIL düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün TBIL düzeylerinin Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p<0,01$).



Şekil 4.5. Serum total bilirubin düzeyleri.

TBIL, Total bilirubin; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p<0,05$; ## $p<0,01$, ### $p<0,001$.

4.1.2. Oksidatif Stres Belirteçleri

Sıçan karaciğer dokularındaki oksidatif stres belirteçleri GSH ve MDA düzeyleri ile SOD aktivitesindeki değişiklikler Tablo 4.2'deki tüm gruplarda değerlendirilmiştir.

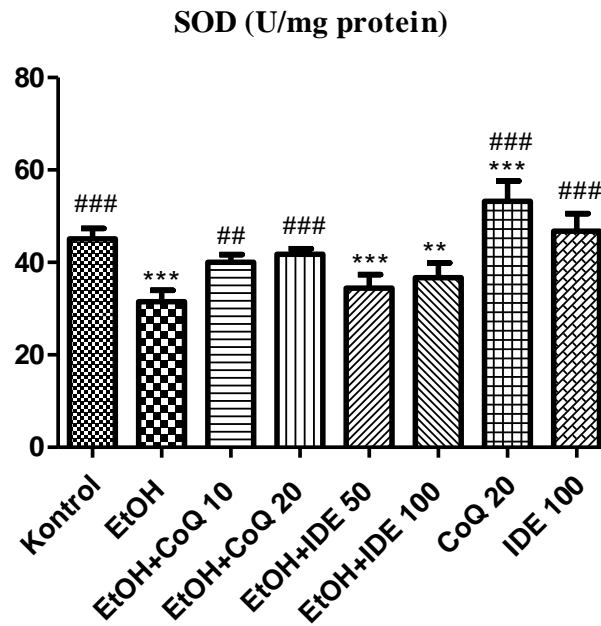
Tablo 4.2. Oksidatif stres belirtecinin ölçüm sonuçları.

GRUP	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA
1 (Kontrol)	45,1 ± 2,3 ^{###}	4,1 ± 0,2 ^{###}	2,0 ± 0,1 ^{###}
2 (EtOH)	31,5 ± 2,5 ^{***}	2,9 ± 0,2 ^{***}	4,0 ± 0,1 ^{***}
3 (EtOH + CoQ 10)	40,0 ± 1,7 ^{##}	3,6 ± 0,2 ^{###,**}	1,9 ± 0,1 ^{###}
4 (EtOH + CoQ 20)	41,8 ± 1,2 ^{###}	3,8 ± 0,4 ^{###}	1,8 ± 0,1 ^{###}
5 (EtOH + İDE 50)	34,4 ± 2,9 ^{***}	3,1 ± 0,2 ^{***}	3,9 ± 0,1 ^{***}
6 (EtOH + İDE 100)	36,7 ± 3,2 ^{**}	3,4 ± 0,2 ^{#,***}	3,7 ± 0,1 ^{##,***}
7 (CoQ 20)	53,2 ± 4,4 ^{###,***}	4,3 ± 0,2 ^{###}	2,0 ± 0,2 ^{###}
8 (İDE 100)	47,7 ± 3,8 ^{###}	4,2 ± 0,3 ^{###}	1,9 ± 0,1 ^{###}

SOD, Süperoksit dismutaz; GSH, Glutatyon; MDA, Malondialdehit; U, Ünite; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebeno. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve Tukey testleri kullanılarak yapıldı; Kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırılınca *p<0,05; **p<0,01; ***p <0,001 ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca #p<0,05; ##p<0,01, ###p<0,001. Değerler ortalama ± S.D. olarak verildi.

Ölçüm sonuçlarına göre, kontrole (Grup 1) kıyasla etanol uygulanan grupta (Grup 2) SOD aktiviteleri azaldı (p=0,001). Grup 2 ile karşılaştırıldığında, 10 mg/kg (Grup 3) ve 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) uygulaması, SOD aktivitelerinde doza bağımlı şekilde artış gösterebilir (sırasıyla p<0,01 ve p=0,001) bu dozlar arasında SOD aktivitelerindeki artışın istatistiksel olarak farklı olmadığı gözlemlendi (p>0,05). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında SOD aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de p>0,05) ve SOD aktivitelerinin kontrol ile aynı düzeylere çıktığı görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, Grup 7'nin SOD aktivitesinde anlamlı bir artış gösterdiği gözlemlendi (p=0,001). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında Grup 4'ün SOD aktivitesini önemli ölçüde daha çok artırdığı gözlemlendi (her ikisi de p=0,001). Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında SOD aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (p>0,05). İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasının da (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) SOD aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi (p>0,05). SOD aktiviteleri, İDE'nin

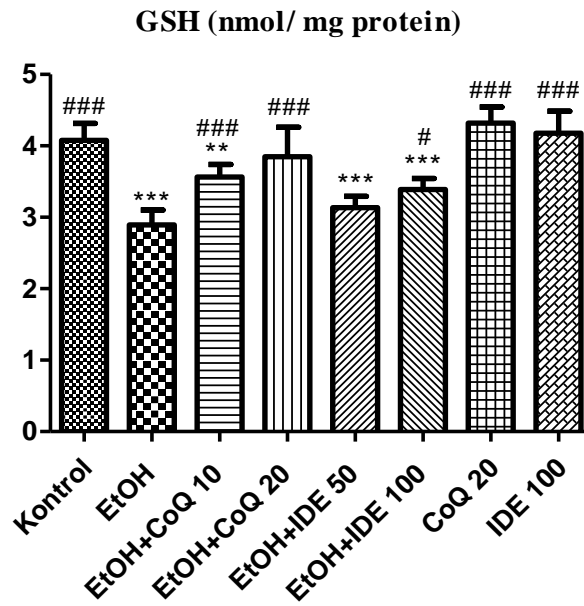
artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6’da, kontrole (Grup 1) kıyasla daha düşük bulundu (sırasıyla $p=0,001$, $p<0,01$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının SOD aktivitelerini değiştirmediğini gsterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6’da SOD aktivitelerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu gsterildi (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadiğı gsterildi ($p>0,05$). CoQ10 düşük doz ile İDE’nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) SOD aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik olmadiğı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10’un yüksek dozu ile İDE’nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4’ün SOD aktivitelerini Grup 5 ve Grup 6’ya gbre önemli ölçüde daha çok artırdiğı ve böylece CoQ10’un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p<0,01$).



Şekil 4.6. Sıçan karaciğer dokularındaki süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri.

SOD, Süperoksit dismutaz; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$.

Glutasyon düzeyleri değerlendirildiğinde (Şekil 4.7), Grup 1'e göre etanol uygulanan grupta (Grup 2) GSH düzeyleri azaldı ($p=0,001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında, 10 mg/kg (Grup 3) ve 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) uygulaması GSH düzeylerinde doz bağımlı artış gösterse de (her ikisi de $p=0,001$) bu dozlar arasında GSH düzeylerindeki artışın istatistiksel olarak farklı olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de $p>0,05$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, GSH düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının GSH düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında Grup 4'ün GSH düzeylerini önemli ölçüde daha çok artırdığı gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$, $p>0,01$). Grup 2 ile Grup 5 karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 2 ile Grup 6 karşılaştırıldığında ise Grup 6'nın GSH düzeylerini artırdığı gözlemlendi ($p>0,05$). İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasının da (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). GSH düzeyleri, İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da, kontrole (Grup 1) kıyasla daha düşük bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının GSH düzeylerini değiştirmediğini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da GSH düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında Grup 3'ün GSH düzeylerini Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok artırdığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p<0,05$). CoQ10 düşük dozu ile İDE'nin yüksek dozu arasında ise (Grup 3 ile Grup 6) GSH düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün GSH düzeylerini Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok artırdığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$, $p<0,05$).

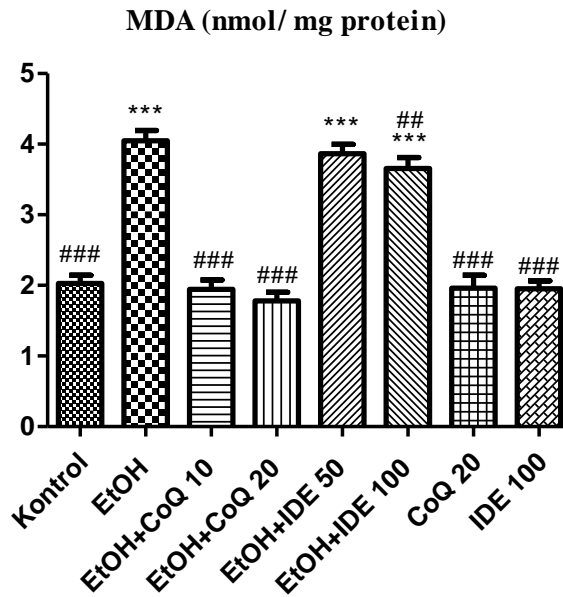


Şekil 4.7. Sıçan karaciğer dokularındaki glutatyon düzeyleri.

GSH, Glutatyon; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

Şekil 4.8’de görüldüğü üzere, MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre etanol uygulanan hayvanlarda (Grup 2) arttığı saptandı ($p=0,001$). Grup 2 ile karşılaştırıldığında, 10 mg/kg (Grup 3) ve 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) uygulaması MDA düzeylerinde doz bağımlı bir şekilde azalmaya neden olsa da (her ikisi de $p=0,001$) bu dozlar arasında MDA düzeylerinde azalmanın istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p > 0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (her ikisi de $p > 0,05$) ve MDA düzeylerinin kontrol ile aynı düzeylere geldiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının MDA düzeylerinde değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yoktu (her ikisi de $p > 0,05$). Grup 2 ile İDE’nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p < 0,01$). Ancak İDE’nin farklı dozlarının uygulanmasının (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) MDA düzeylerinde

istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi ($p>0,05$). MDA düzeyleri İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve Grup 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu ($p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının MDA düzeylerini değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da MDA düzeylerindeki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında Grup 3'ün MDA düzeylerini Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p=0,001$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün MDA düzeylerinin Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p<0,01$).



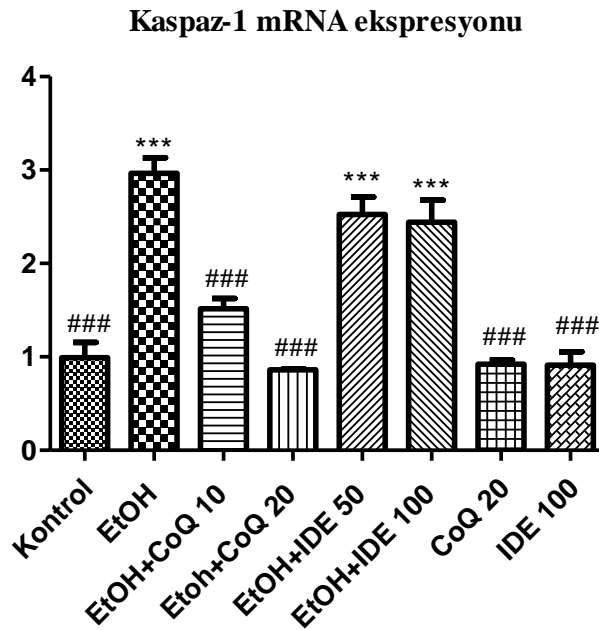
Şekil 4.8. Sıçan karaciğer dokularındaki malondialdehit düzeyleri.

MDA, Malondialdehit; EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca # $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$.

4.2. Moleküler Bulgular

NLRP3 inflamazom yolağı (NF- κ B, NLRP3, Kaspaz-1, IL-18 ve IL-1 β) ve fibrozis gelişimi (TGF- β) ile ilişkili proteinlerin mRNA ekspresyon düzeyleri incelendi ve deney grupları değerlendirildi (Şekil 4.9). Kontrol hayvanları (Grup 1) ile etanolün indüklediği fibrozis modeli (Grup 2) karşılaştırıldığında, sıçanların karaciğer dokularındaki kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarının artışı anlamlı olduğu saptandı ($p=0,001$). Etanol ile 10 mg/kg ve 20 mg/kg CoQ10 (sırasıyla, Grup 3 ve 4) uygulaması ve sadece etanol verilen Grup 2 karşılaştırıldığında, kaspaz-1 mRNA ekspresyonunda önemli bir azalma olduğu ve bu azalmanın doz bağımlı bir şekilde gerçekleştiği bulundu ($p=0,001$). Ancak bu dozlar arasında kaspaz-1 mRNA ekspresyonundaki azalmanın istatistiksel olarak farklı olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında kaspaz-1 mRNA ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmadığı (her ikisi de $p>0,05$) ve kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarının kontrol ile aynı düzeylere indiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının kaspaz-1 mRNA ekspresyonunda değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında kaspaz-1 mRNA ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında Grup 4'ün Grup 7'ye göre kaspaz-1 mRNA ekspresyonunu anlamlı ölçüde daha çok azalttığı gözlemlendi ($p<0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Ayrıca İDE'nin farklı dozlarının uygulanması (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadı ($p>0,05$). Kaspaz-1 mRNA ekspresyonları İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarını değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'daki kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5)

karşılaştırıldığında, Grup 3'ün kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarını Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p=0,001$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu karşılaştırıldığında (Grup 3 ile Grup 6) kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarını Grup 3'ün, Grup 6'ya göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün kaspaz-1 mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

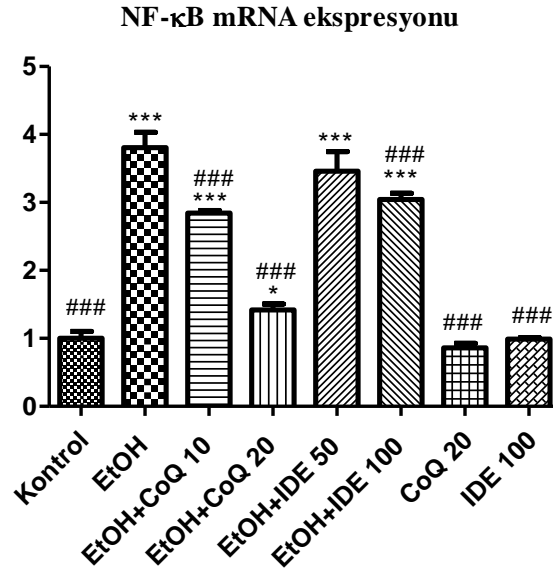


Şekil 4.9. Sıçanların karaciğer dokusundaki kaspaz-1 mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca *** $p<0,05$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca ### $p<0,001$.

Şekil 4.10'da gösterildiği üzere, negatif kontrol grubu (Grup 1) ile etanolün indüklediği fibrozis modeli (Grup 2), karşılaştırıldığında, sıçanların karaciğer dokularındaki NF- κ B mRNA ekspresyonlarının farklı olduğu ve ekspresyonun Grup 2'de anlamlı daha yüksek olduğu saptandı ($p=0,001$). Etanol ile 10 mg/kg (Grup 3) ve 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) tedavisi, Grup 2 ile karşılaştırıldığında doz bağımlı bir şekilde NF- κ B mRNA ekspresyonunda önemli bir azalma gösterdi (her ikisi de

$p=0,001$). CoQ10'un iki farklı dozu uygulanan Grup 3 ve Grup 4 karşılaştırıldığında ise Grup 4'de NF- κ B mRNA ekspresyonunda Grup 3'e göre önemli ölçüde azalma saptandı ($p<0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında NF- κ B mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de $p>0,05$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, NF- κ B mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının NF- κ B mRNA ekspresyonlarında değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında NF- κ B mRNA ekspresyonlarını Grup 7'nin önemli ölçüde daha çok azalttığı gözlemlendi (sırasıyla $p=0,001$, $p>0,01$). Grup 2 ile Grup 5 karşılaştırıldığında NF- κ B mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Grup 2 ile Grup 6 karşılaştırıldığında ise Grup 6'nın NF- κ B mRNA ekspresyonunu azalttığı belirlendi ($p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozlarının uygulanmasında (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında) Grup 6'nın NF- κ B mRNA ekspresyonunu Grup 5'e göre daha fazla azalttığı gözlemlendi ($p<0,05$). NF- κ B mRNA ekspresyonları İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve Grup 6, kontrolle (Grup 1) karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının NF- κ B mRNA ekspresyonlarını değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve 6'da NF- κ B mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında Grup 3'ün Grup 5'e göre NF- κ B mRNA ekspresyonlarını anlamlı düzeyde daha fazla azalttığı gözlemlendi ($p<0,01$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında da (Grup 3 ile Grup 6) NF- κ B mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün NF- κ B mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve Grup 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p<0,01$).

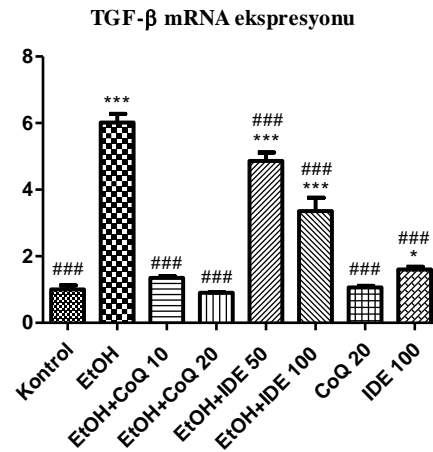


Şekil 4.10. Sıçanların karaciğer dokusundaki NF-κB mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca *** $p < 0,05$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca ### $p < 0,001$.

Şekil 4.11’de gruplarda belirlenen TGF- β mRNA ekspresyonları gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak da değerlendirebileceğimiz Grup 2 (etanolün indüklediği fibrozis modeli), negatif kontrol (Grup 1) ile karşılaştırıldığında sıçanların karaciğer dokularındaki TGF- β mRNA ekspresyonlarının anlamlı farklı olduğu ve Grup 2’de bir artışın söz konusu olduğu saptandı ($p=0001$). Etanol ile 10 mg/kg ve 20 mg/kg CoQ10 tedavisi (sırasıyla, Grup 3 ve 4), Grup 2 ile karşılaştırıldığında doz bağımlı bir şekilde TGF- β mRNA ekspresyonunda bir azalma olduğu bulundu; ancak, Grup 3 ve 4, TGF- β mRNA ekspresyonunda gruplar arası anlamlı bir fark gözlenmedi (her ikisi de $p > 0,05$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında TGF- β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı (her ikisi de $p > 0,05$) ve TGF- β mRNA ekspresyonlarının kontrol ile aynı düzeylere indiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, TGF- β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının TGF- β mRNA ekspresyonlarında değişikliğe neden olmadığı gözlendi ($p > 0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında TGF- β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yoktu (her ikisi de $p > 0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile İDE’nin iki

farklı dozu uygulanan Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında TGF- β mRNA ekspresyonlarında doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). İDE'nin farklı dozlarının uygulandığında (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında), Grup 6'nın TGF- β mRNA ekspresyonunu Grup 5'e göre daha fazla azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). TGF- β mRNA ekspresyonları İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise Grup 8'in TGF- β mRNA ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'daki TGF- β mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında, Grup 3'ün TGF- β mRNA ekspresyonlarını Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p=0,001$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu karşılaştırıldığında da (Grup 3 ile Grup 6) Grup 3'ün TGF- β mRNA ekspresyonlarını Grup 6'ya göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı belirlendi ($p=0,001$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün TGF- β mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0001$).

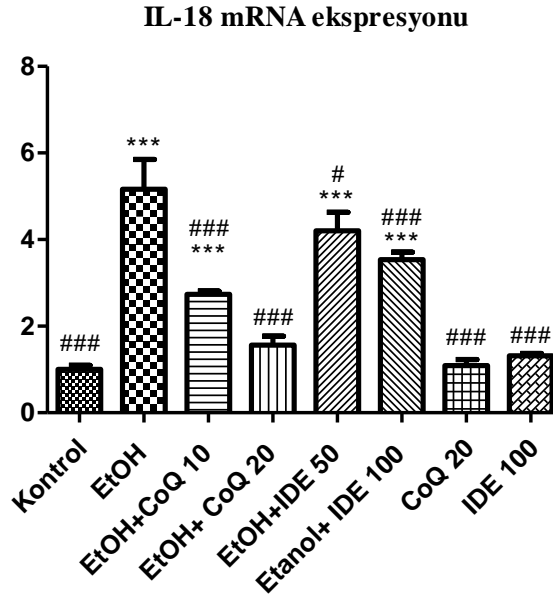


Şekil 4.11. Sıçanların karaciğer dokusundaki TGF- β mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca $***p<0,05$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca $###p<0,001$.

Etanolün indüklediği fibrozis modeli (Grup 2) ile negatif kontrol hayvanları (Grup 1) karşılaştırıldığında, sıçanların karaciğer dokularındaki IL-18 mRNA ekspresyonları anlamlı bir artış gösterdi ($p=0,001$; Şekil 4.12). Grup 2 ile karşılaştırıldığında etanol ile 10 mg/kg (Grup 3) ve 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) tedavisi, doz bağımlı bir şekilde IL-18 mRNA ekspresyonunda önemli bir azalmaya neden oldu ($p=0,001$). Ayrıca, Grup 3 ve 4’de IL-18 mRNA ekspresyonunda gruplar arası anlamlı bir farklılık gösterdi ($p<0,01$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de $p>0,05$). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının IL-18 mRNA ekspresyonlarında değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında, Grup 7’nin IL-18 mRNA ekspresyonlarını anlamlı düzeyde daha çok azalttığı görüldü ($p=0,001$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ise IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile Grup 5 karşılaştırıldığında IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 2 ile Grup 6 karşılaştırıldığında ise IL-18 mRNA ekspresyonlarında azalma olduğu belirlendi ($p=0,001$). İDE’nin farklı dozları uygulandığında (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında), IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü ($p>0,05$). IL-18 mRNA ekspresyonları İDE’nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6’da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise IL-18 mRNA ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının IL-18 mRNA ekspresyonlarını değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6’daki IL-18 mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında, Grup 3’ün IL-18 mRNA ekspresyonlarını Grup 5’e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p<0,01$). CoQ10 düşük doz ile İDE’nin yüksek dozu arasında ise (Grup 3 ile Grup 6) IL-18 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10’un yüksek dozu ile İDE’nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6)

karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün IL-18 mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi (p=0001).

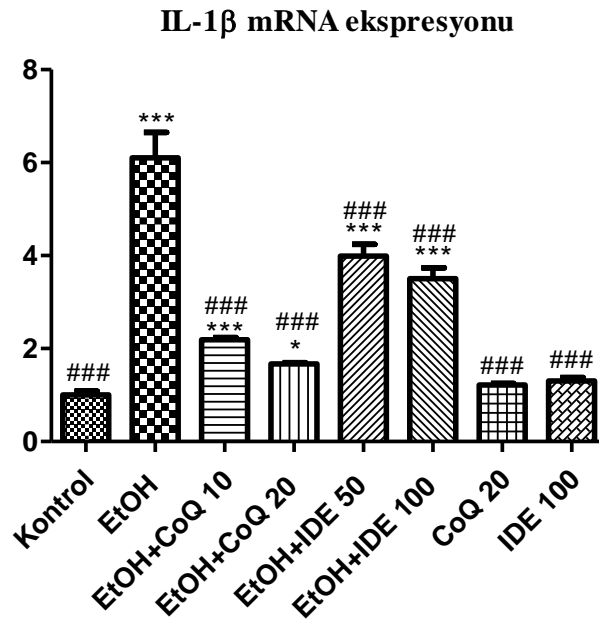


Şekil 4.12. Sıçanların karaciğer dokusundaki IL-18 mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca ***p<0,05 ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca ###p<0,001.

Negatif kontrol (Grup 1) ve etanolün indüklediği fibrozis modeli (Grup 2), karşılaştırıldığında, sıçanların karaciğer dokularındaki IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir fark olduğu ve Grup 2'de artış olduğu bulundu (p=0,001). Etanol ile 10 mg/kg ve 20 mg/kg CoQ10 tedavisi (sırasıyla, Grup 3 ve 4), Grup 2 ile karşılaştırıldığında doz bağımlı bir şekilde IL-1 β mRNA ekspresyonunda anlamlı bir azalma gösterdiği bulundu (p=0,001). Grup 3 ve 4 IL-1 β mRNA ekspresyonu değerlendirildiğinde, gruplar arası anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0,05). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (her ikisi de p>0,05). Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının IL-1 β mRNA ekspresyonlarında

değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Grup 3 ile Grup 7 karşılaştırıldığında, Grup 7'nin IL-1 β mRNA ekspresyonlarını anlamlı düzeyde daha çok azalttığı görüldü ($p<0,01$). Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında ise IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yoktu ($p>0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile İDE'nin iki farklı dozu uygulanan Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında IL-1 β mRNA ekspresyonlarında doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). Ancak İDE'nin farklı dozları uygulandığında (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında), IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü ($p>0,05$). IL-1 β mRNA ekspresyonları İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise IL-1 β mRNA ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının IL-1 β mRNA ekspresyonlarını değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'daki IL-1 β mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında, Grup 3'ün IL-1 β mRNA ekspresyonlarını Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p=0,001$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu arasında ise (Grup 3 ile Grup 6) IL-1 β mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p>0,05$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün IL-1 β mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

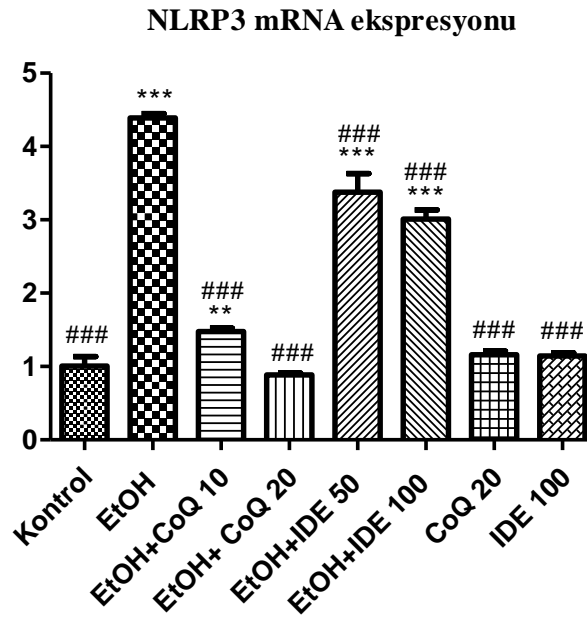


Şekil 4.13. Sıçanların karaciğer dokusundaki IL-1 β mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca *** $p < 0,05$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca ### $p < 0,001$.

Kontrol grubu (Grup 1) ile deneysel fibrozis modeli oluşturulan grup (Grup 2) NLRP3 mRNA ekspresyonları karşılaştırıldığında (Şekil 4.14), etanol indüksiyonunun sıçanların karaciğer dokularında anlamlı bir artışa neden olduğu saptandı ($p=0,001$). Grup 2 ve etanol ile 10 mg/kg ve 20 mg/kg CoQ10 tedavisi (sırasıyla, Grup 3 ve 4) uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, CoQ10 uygulamasının doz bağımlı bir şekilde NLRP3 mRNA ekspresyonunda anlamlı bir azalmaya neden olduğu bulundu (her ikisi de $p < 0,05$); Grup 3 ve 4'de NLRP3 mRNA ekspresyonu, gruplar arası anlamlı olarak farklıydı ($p=0,001$). Grup 1 ile Grup 3 veya Grup 4 karşılaştırıldığında NLRP3 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı (her ikisi de $p > 0,05$) ve NLRP3 mRNA ekspresyonlarının kontrol ile aynı düzeylere indiği görüldü. Grup 1 ile 20 mg/kg CoQ (Grup 7) karşılaştırıldığında, NLRP3 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik olmadığı ve tek başına CoQ uygulamasının NLRP3 mRNA ekspresyonlarında değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). Grup 3 ile Grup 7 ve Grup 4 ile Grup 7 karşılaştırıldığında NLRP3 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişiklik yoktu (her ikisi de $p > 0,05$). Tek başına etanol verilen Grup 2 ile İDE'nin iki

farklı dozu uygulanan Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında NLRP3 mRNA ekspresyonlarında doz bağımlı bir azalma olduğu belirlendi (her ikisi de $p=0,001$). İDE'nin artan dozları uygulandığında (Grup 5 ve 6 karşılaştırıldığında), Grup 6'nın NLRP3 mRNA ekspresyonunu Grup 5'e göre daha fazla azalttığı gözlemlendi ($p=0,001$). NLRP3 mRNA ekspresyonları İDE'nin artan dozlarının uygulandığı Grup 5 ve 6'da kontrole (Grup 1) kıyasla daha yüksek bulundu (her ikisi de $p=0,001$). Grup 1 ile İDE 100 mg/kg (Grup 8) karşılaştırıldığında ise anlamlı bir değişiklik olmaması tek başına İDE uygulamasının NLRP3 mRNA ekspresyonlarını değiştirmedini gösterdi ($p>0,05$). Tek başına İDE uygulaması (Grup 8) ile karşılaştırıldığında Grup 5 ve Grup 6'daki NLRP3 mRNA ekspresyonlarında ki farklılığın etanol toksisitesi kaynaklı olduğu görüldü (her ikisi de $p=0,001$). CoQ10 ve İDE arasındaki farklılıkları değerlendirdiğimizde ise her ikisinde düşük dozlar (Grup 3 ile Grup 5) karşılaştırıldığında, Grup 3'ün NLRP3 mRNA ekspresyonlarını Grup 5'e göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı ve daha etkili olduğu görüldü ($p=0,001$). CoQ10 düşük doz ile İDE'nin yüksek dozu karşılaştırıldığında da (Grup 3 ile Grup 6) Grup 3'ün NLRP3 mRNA ekspresyonlarını Grup 6'ya göre anlamlı düzeyde daha çok azalttığı belirlendi ($p=0,001$). CoQ10'un yüksek dozu ile İDE'nin düşük ve yüksek dozu (Grup 4 ile Grup 5 ve 6) karşılaştırıldığında da, Grup 4'ün NLRP3 mRNA ekspresyonlarını Grup 5 ve 6'ya göre önemli ölçüde daha çok azalttığı ve böylece CoQ10'un daha etkili olduğu gözlemlendi ($p=0,001$).

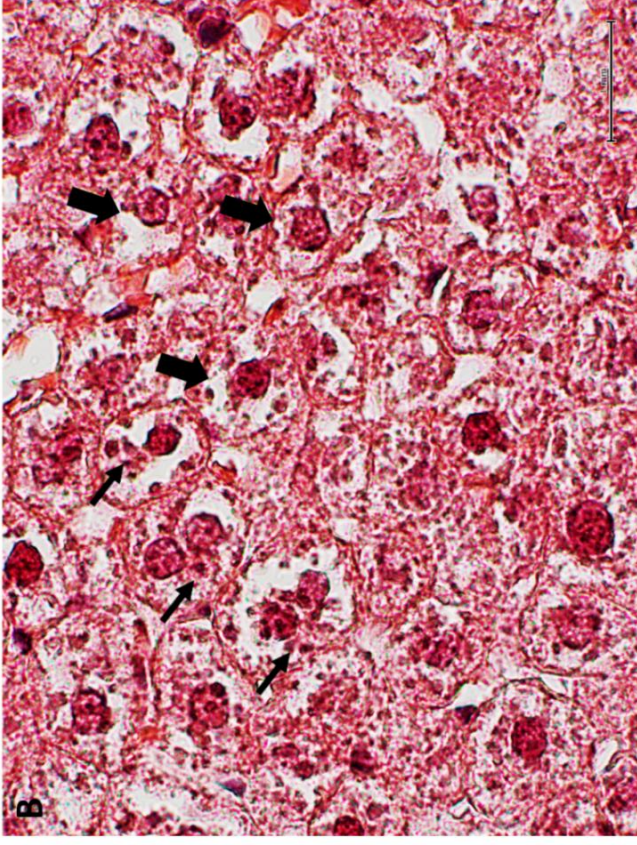
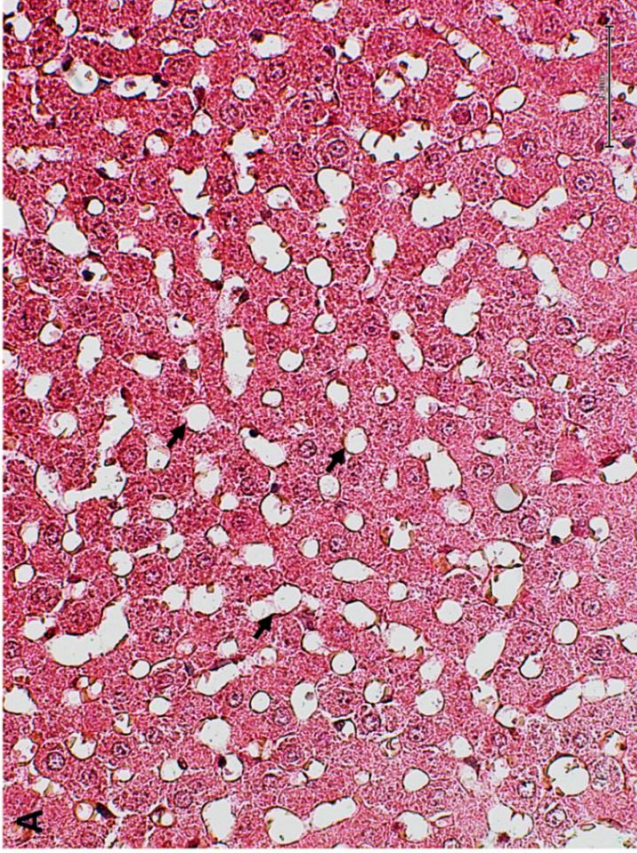


Şekil 4.14. Sıçanların karaciğer dokusundaki NLRP3 mRNA ekspresyonları.

EtOH, Etanol; CoQ, Koenzim Q10; İDE, İdebenon. Ekspresyonlardaki kat değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak verildi. Değerler ortalama \pm S.D. olarak verildi. İstatistiksel karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırılınca $***p<0,05$ ve etanol grubu (Grup 2) ile karşılaştırılınca $###p<0,001$.

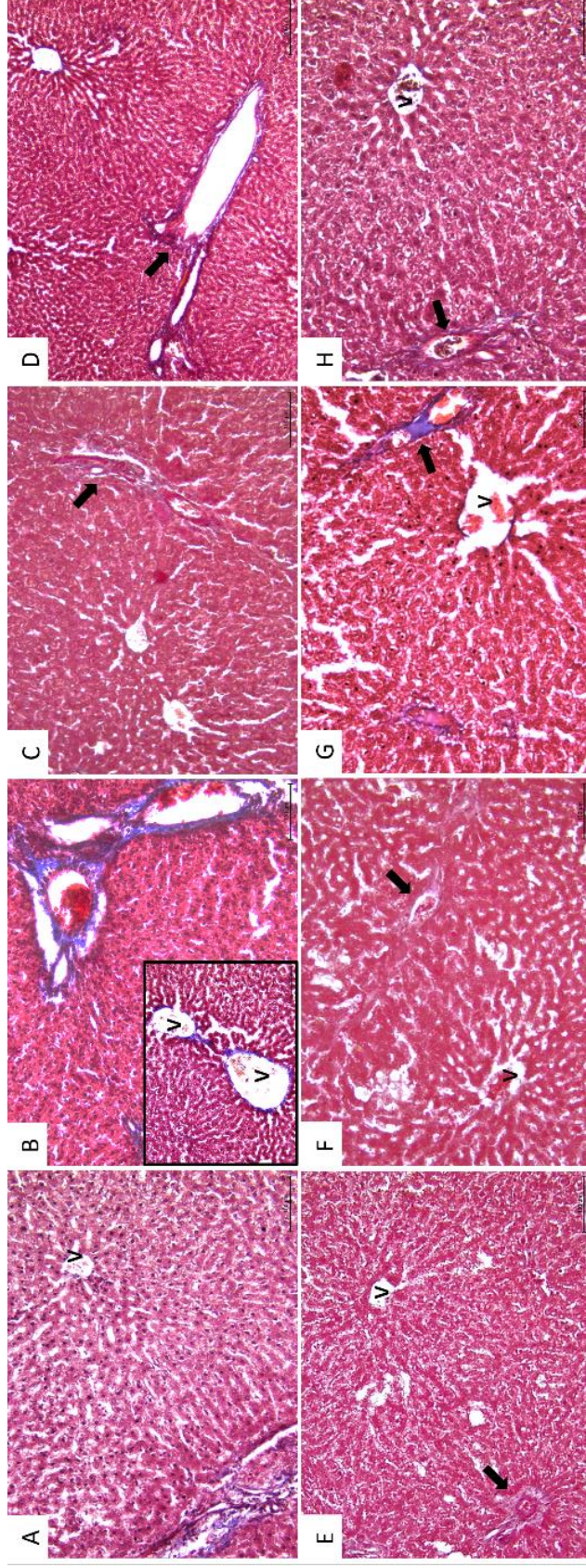
4.3. Histopatoloji Bulguları

Histopatolojik inceleme biyokimyasal ve moleküler bulguları doğrulamıştır. Grup 1'deki hayvanlardaki sağlıklı lobüllerde vena sentralis, sinüzoidler ve portal alanlar normal görünümündedir ve kesit örneği Şekil 4.16 (A) ve 4.17 (A) olarak gösterilmiştir. Grup 2 (etanolün indüklediği karaciğer fibrozis)'de vena sentralis ve portal alanda yaygın fibrozis, vena sentralis, sinüzoidler ve portal alanlarda genişleme ve konjesiyonel değişiklikler gözlenmektedir (örnek kesit, Şekil 4.16. B). En erken ve en sık görülen model makroveziküler steatoz ve Şekil 4.A ve B'de görüldüğü gibi içlerinde Mallory-Denk cisimcikleri adı verilen amorf eozinofilik kapanımlar bulunan hepatositlerin şişmiş, büyümüş ve balonlaşan dejenerasyonudur. 20 mg/kg CoQ10 ve 100 mg/kg İDE gruplarında (sırasıyla, Grup 7 ve 8) fibrozis, vena sentralis ve portal alanlarda genişleme yoktur; ancak, Grup 8'de sinüzoidlerde minimal genişlemeler gözlenmektedir (bakınız, Şekil 4.16. C ve D).



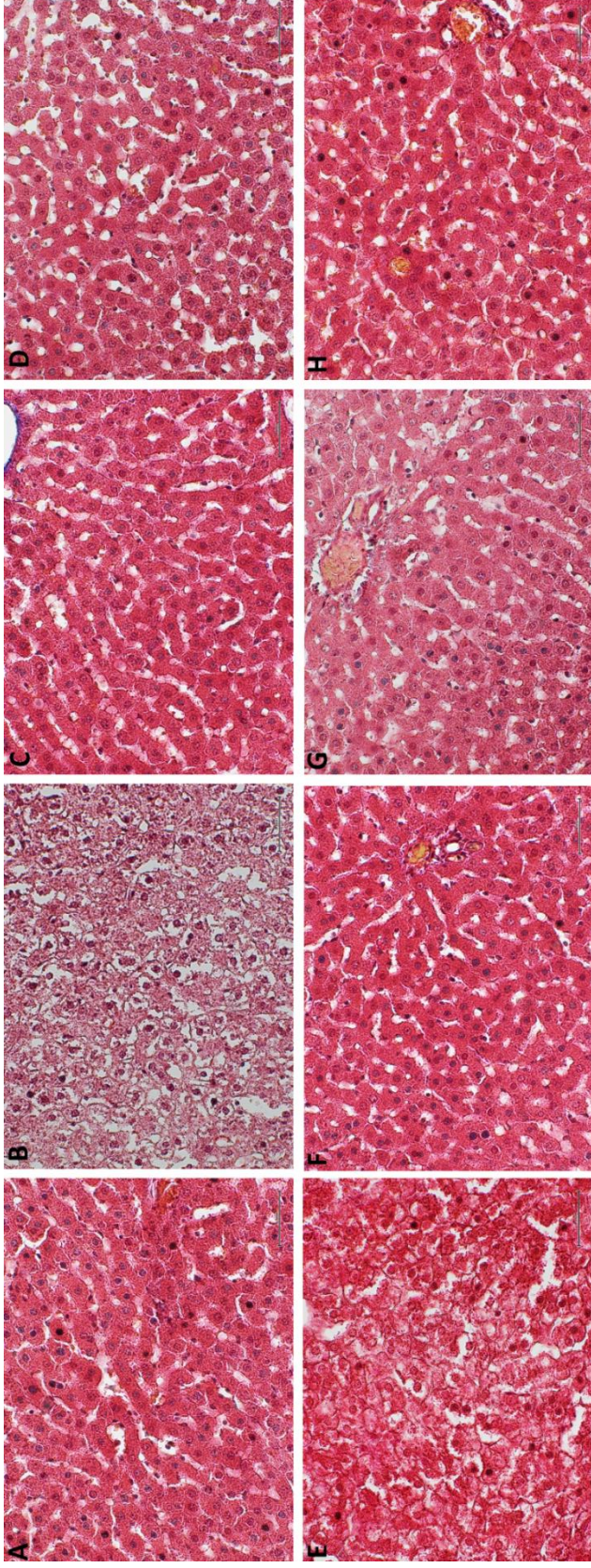
Şekil 4.15. Alkolik hepatitte karakteristik histopatolojik bulgular.

A: Steatoz en erken ve en sık görülen paternidir. B: Hepatositlerde balonlaşan dejenerasyon (kalın oklar)- şişmiş ve büyümüş hepatositler (ince oklar Mallory-Denk cisimciklerini gösterir) (Trikrom boyama, A: x200, B: x1000).



Şekil 4.16. Massone trikrom boyama ile saptanan histopatolojik bulgular.

Trikrom boyaması, x200. (A) Sağlıklı, (B) EtOH, (C) CoQ 20, (D) İDE 100, (E) EtOH + CoQ 10, (F) EtOH + CoQ20, (G) EtOH + İDE 50, (H) EtOH + İDE 100. Vena sentralis 'V' ile portal alanı ok işareti ile gösterilmiştir. (A) Vena sentralis, sinusoidler ve portal alan normal düzende gözlenmektedir. (B) Vena sentralis çevresi ve portal alanda fibrozis oluşmuştur; sinusoidlerde genişleme ve korjesyonel değişiklikler gözlenmektedir. (C) Yapılar normale yakındır. (D) Sinusoidlerde minimal genişleme gözlenmektedir. (E) Vena sentralis ve portal alanda fibrozis ve sinusoidlerde genişleme vardır. (F) Portal alan çevresinde hafif kollajen birikimi gözlenmektedir. (G) Fibrozis kaybolmuştur. (H) Sinusoidlerdeki hafif genişleme görülmektedir ve fibrozis yoktur.



Şekil 4.17. Hepatositlerin histopatolojik bulguları.

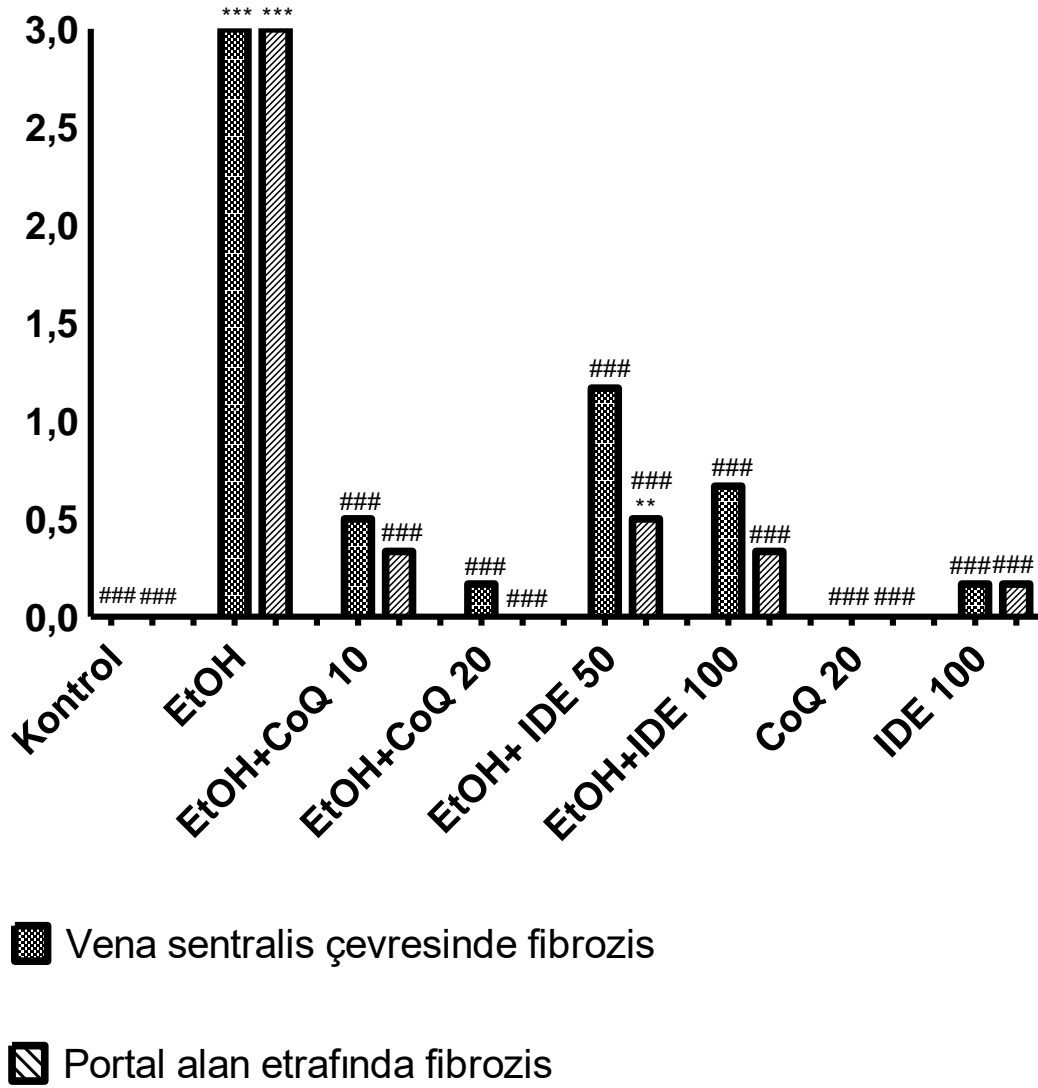
(A) Sağlıklı, (B) EtOH, (C) CoQ 20, (D) IDE 100, (E) EtOH + CoQ 10, (F) EtOH + CoQ 20, (G) EtOH + IDE 50, (H) EtOH + IDE 100. Hepatositler normalde sağlıklı grup gibi CoQ 20 ve IDE 100 gruplarında görüldü (Şekil C, D). EtOH + CoQ 10 ve EtOH + CoQ 20 gruplarında Grup 2'ye göre steatoz ve balonlaşma dejenerasyonunda belirgin bir azalma gözlemlendi. Bu gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında EtOH + CoQ 20 grubunda balonlaşma dejenerasyonunda belirgin bir azalma görüldü. Hepatositler kayboldu ve steatozda daha da azalma oldu. (Şekil 4E ve 4F). Hepatositlerin steatoz ve balonlaşma dejenerasyonu EtOH + IDE 50 ve EtOH + IDE 100 gruplarında Grup 2'ye kıyasla önemli ölçüde azaldı (Şekil 4G ve 4H). Bu gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında EtOH + IDE 100 grubunda hepatositlerde balonlaşma ve steatozun daha da azaldığı görüldü.

Hepatositler CoQ 20 ve İDE 100 gruplarında (Grup 7 ve 8), sağlıklı gruba benzer şekilde normal olarak gözlenmiştir (Şekil 4.17 C ve D). Buna karşılık CoQ10 ve İDE tedavileri bu histopatolojik değişiklikleri belirgin şekilde iyileştirmiştir. Etanol ile 10 mg/kg CoQ10 (Grup 3), Grup 2 ile karşılaştırıldığında fibrozis vena sentralis ve portal alan çevresinde azalmış, hatta birçok vena sentralis çevresinde yok olmuştur. Vena sentralis ve sinozoidlerde genişleme ve konjesyonel değişiklikler devam etmektedir (Şekil 4.16 E). Etanol ile 20 mg/kg CoQ10 Grup 4’de vena sentralis ve portal alan çevresinde fibrozis kaybolmuştur. Portal alanların bazılarında fibrozis olarak değerlendirilemeyecek kadar az miktarda kollajen birikimi mevcuttur. Vena sentralis ve portal alanlarda genişlemeler ve konjesiyonel değişiklikler minimal seviyeye inmiştir ve tıkanıklık görülmemiş veya belirlenmemiştir (Şekil 4.16 F). Etanol ile 10 mg/kg CoQ10 (Grup 3) ve etanol ile 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) gruplarında hepatositlerin steatoz ve balonlaşma dejenerasyonunda Grup 2’ye göre anlamlı azalma gözlenmiştir. Etanol ile 10 mg/kg CoQ10 (Grup 3) ve etanol ile 20 mg/kg CoQ10 (Grup 4) grupları birbiriyle karşılaştırıldığında etanol ile 20 mg/kg CoQ10 Grup 4’de hepatositlerde balonlaşmanın ortadan kalktığı ve steatozda daha da azalma olduğu görülmüştür (Şekil 4.17 E ve F). Etanol ile 50 mg/kg veya 100 mg/kg İDE gruplarında (sırasıyla, Grup 5 ve 6), genel yapı birbirine benzer şekildedir. Vena sentralis ve portal alan çevresinde, Grup 2 ile karşılaştırıldığında fibrozis azalmıştır. Bazı portal alanlarda az miktarda fibrozis ve kollajen birikimi bulunmaktadır. Vena sentralis ve portal alanlarda genişlemeler ve konjesyonel değişiklikler minimal seviyelere inmiştir (Şekil 4.16. G ve H). Grupların hiçbirinde infiltrasyon gözlenmemiştir. Grup 2 ile karşılaştırıldığında, diğer tüm gruplarda önemli ölçüde daha düşük miktarda fibrozis saptanmıştır; özellikle Grup 4 olarak adlandırılan etanol ile 20 mg/kg CoQ10 grubunda hiç fibrozis bulunmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.18). Hepatositlerin steatoz ve balonlaşma dejenerasyonu, Grup 2’ye kıyasla bu gruplarda önemli ölçüde azalmıştır (Şekil 4.17 G ve H). Etanol ile 50 mg/kg veya 100 mg/kg İDE grupları (sırasıyla, Grup 5 ve 6) birbirleriyle karşılaştırıldığında Grup 6’da hepatositlerde balonlaşma ve steatozun daha da azaldığı gözlenmiştir. Bu grupların hiçbiri infiltrasyon göstermemiştir.

Grup 2 ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda sinüzoidlerde ve santral venlerde genişleme ve konjesyonda anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Özellikle

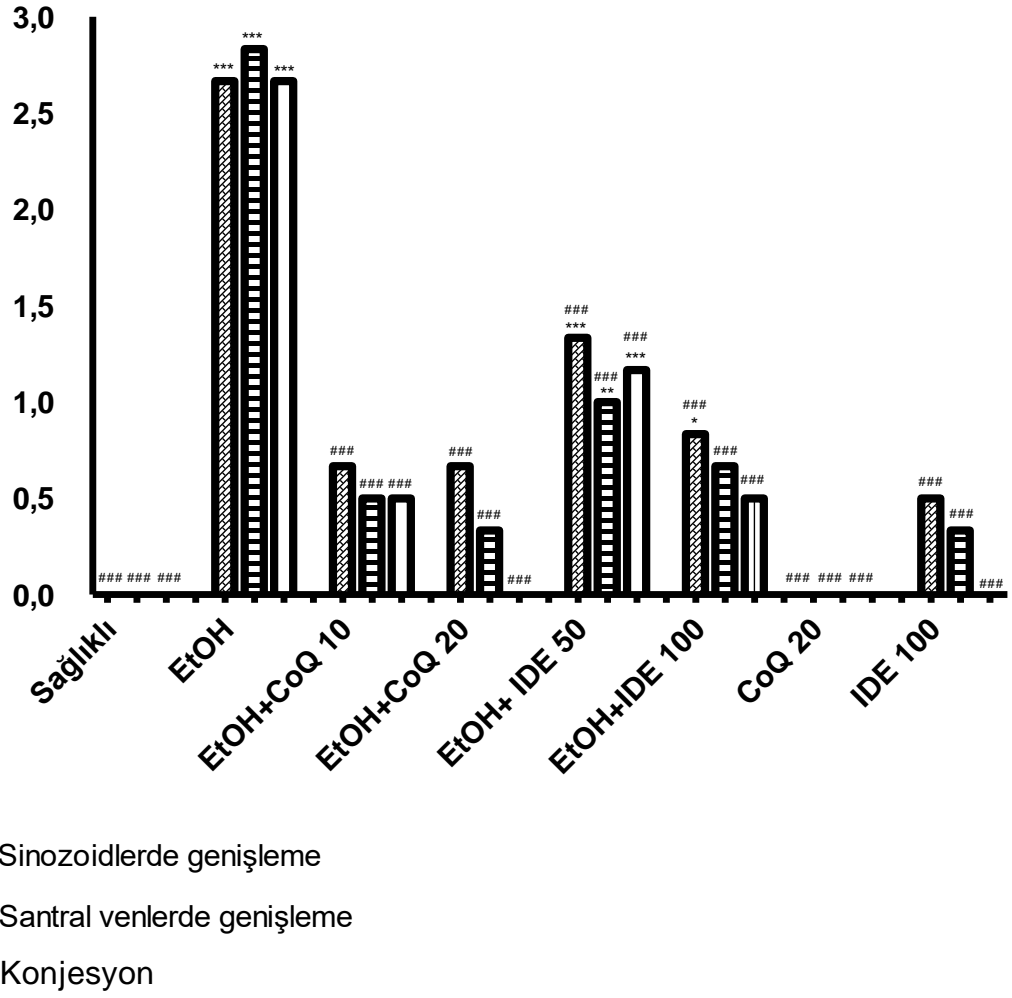
etanol ile farklı dozlarda CoQ10 (Grup 3 ve 4) ve etanol ile farklı dozlarda İDE (Grup 5 ve 6) gruplarında, Grup 2 ile karşılaştırıldığında, sinüzoidlerde ve santral venlerde daha az genişleme ve konjesyon saptanmıştır. Buna ilave olarak, etanol ile 20 mg/kg CoQ10 uygulanan Grup 4’de konjesyon olmadığı görülmüştür (Şekil 4.19).

Fibrozis Skorları

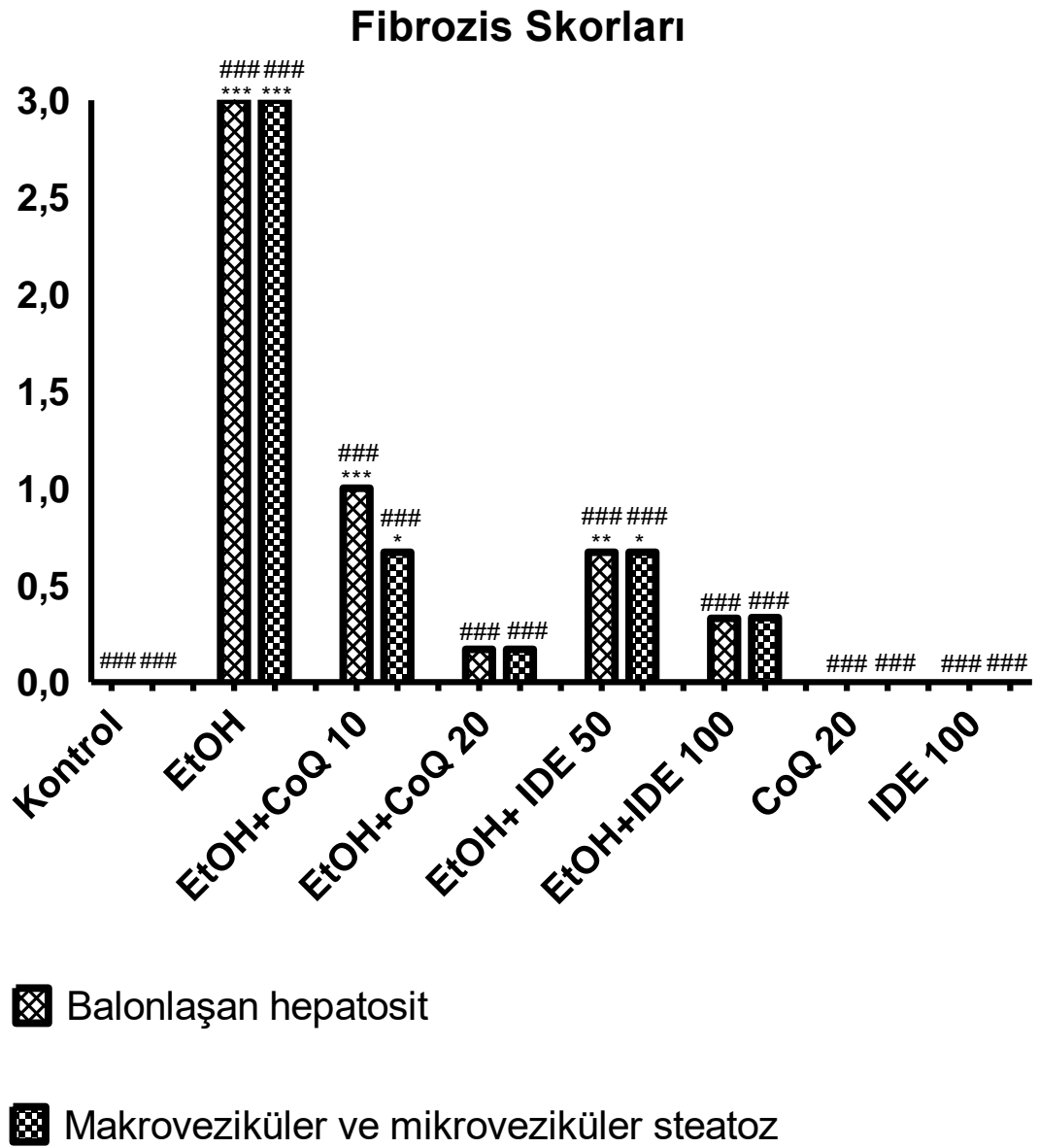


Şekil 4.18. Portal alan ve vena sentralis çevresinde ölçülen fibrozis alanı ölçüm skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması.

Fibrozis Skorları



Şekil 4.19. Gruplar arasında, damarlarda meydana gelen genişlemelerin ve konjesyon alanlarına ilişkin ölçüm sonuçlarının skorlarının karşılaştırılması.



Şekil 4.20. Hepatositlerin Histopatolojik bulguları-II

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında, öncelikle Wistar albino sıçanlarda 30 gün süresince oral yoldan etanol uygulaması ile indüklenen deneysel karaciğer fibrozis modeli oluşturulmuş ve bu hepatotoksik etki üzerine CoQ10 ve analogu İDE'nin farklı konsantrasyonlarda koruyuculuğu NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β aracılığıyla araştırılmıştır. Deneysel hayvanlarında, etanol ile indüklenen karaciğer fibrozisi modelinde CoQ10 ve İDE'nin olası etkilerini araştıran ilk çalışma olması, bu doktora tez projesinin özgünlüğüdür.

Karaciğer, alkol metabolizmasından sorumlu ana organdır, dolayısıyla aşırı ve kronik alkol tüketimi, karaciğer fibrozisinin en yaygın nedenleri arasındadır (55, 207-209). Ana biyotransformasyon organı olan karaciğerdeki fibrozis, karaciğerdeki kronik hasara tepki olarak ortaya çıkan, karaciğer sirozuna ve hatta HCC'ye kadar ilerleyebilen, ECM proteinlerinin birikmesini içeren bir yara iyileşme reaksiyonudur (8, 43, 49, 207). Bu nedenle, karaciğer fibrozisinin tanısı ve tedavisi veya bu hepatotoksositeye karşı korunma HCC'nin önlenmesinde etkili bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir.

Hepatotoksiteyi tanımlamak ve/veya karaciğer bozukluklarını belirlemek amacı ile en bilinen ve kullanılan biyokimyasal parametreler içerisinde serum ALT, AST, GGT, ALP ve TBIL değerlendirilmektedir (210). Bu tez çalışmasında da, etanol ile oluşturulan karaciğer hasarının gösterilmesi ve hasarın önlenmesi için araştırılan CoQ10 ve İDE'nin etkisi ALT, AST, GGT, ALP ve TBIL düzeyleri ile biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, etanolün neden olduğu karaciğer hasarının ALT, AST ve GGT düzeylerinde artışa yol açtığını göstermiştir (211, 212). Asetaminofen kaynaklı bir hepatotoksite modelinde CoQ10, serum ALT ve AST düzeylerini düşürerek karaciğer hasarını önemli ölçüde iyileştirmiştir (213). Hossain ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, Wistar sıçanlarında karbofuranın sebep olduğu hepatotoksite ve CoQ10 uygulaması serum ALT, AST ve ALP düzeyleri ile incelenmiş ve CoQ10'un bu serum parametrelerini azalttığı gösterilmiştir (214). CCl₄ kaynaklı karaciğer hasarının kullanıldığı bir başka sıçan modelinde, CoQ10'un yüksek serum ALT, AST ve ALP düzeylerini önemli ölçüde azalttığı raporlanmıştır (215). Ali ve ark., CCl₄ gibi halojenli alkanların neden olduğu karaciğer hasarında CoQ10'un, serum ALT ve AST aktivitelerini anlamlı derecede azalttığını belirlemişlerdir (172).

Ahmedvand ve ark., alloksan kaynaklı diyabetik sıçanlarda CoQ10'un hepatoprotektif rolünü araştırmış ve ALT, AST ve ALP aktivitelerini önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (216). Mohamed ve ark., sıçanlarda metotreksata bağlı akciğer ve karaciğer fibrozisi üzerinde CoQ10'un potansiyel koruyucu etkilerini araştırmıştır. CoQ10 ve metotreksatın eş zamanlı tedavisinin serum ALT ve AST düzeylerini azalttığını göstermişlerdir(217). Sodyum nitratın neden olduğu karaciğer hipoksisinde İDE'nin etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, yüksek ALT, AST ve ALP seviyelerinin İDE ile azaldığı kaydedilmiştir (218). İDE'nin titanyum dioksite maruz kalma nedeniyle artan serum ALT ve AST düzeylerini önemli ölçüde azalttığı da bildirilmiştir(38, 39). Gou ve ark., sepsisin neden olduğu karaciğer fonksiyon bozukluğunda, İDE tedavisinin serumdaki yüksek AST ve ALT seviyelerini azaltabildiğini, dolayısıyla karaciğer fonksiyonunu iyileştirebildiğini raporlamışlardır (196).

Sunulan bu tez çalışmasında, uygulanan etanol hepatotoksisite biyobelirteçlerini önemli düzeyde anlamlı olarak arttırmıştır; etanol ile indüklenen hepatotoksisite CoQ10 uygulaması ile önemli ölçüde tersine dönmüştür. Etanole maruziyet ile İDE uygulamasından sonra herhangi bir azalma göstermeyen TBIL düzeyi dışında, etanole maruziyet ile İDE uygulaması benzer sonuçlara neden olmuştur. Etanol ile indüklenen karaciğer fibrozu oluşturulan sıçanlarda karaciğer fonksiyon bozukluğu göstergesi olan serum ALT, AST, GGT ve ALP düzeyleri üzerine olumlu etki, CoQ10 uygulaması ile sağlanmıştır. Ancak, CoQ10 analogu olan İDE'nin ALT, AST, GGT ve ALP düzeyleri üzerine benzer etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Oksidatif stres ve antioksidan sistemlerin bileşenleri, alkole bağlı karaciğer hasarının patojenezinde rol oynayan önemli etkenlerdendir (219, 220). Normal koşullar altında vücutta ROS ve oksidatif stres oluşumu ve ortadan kaldırılması (antioksidan sistem) arasında bir denge vardır; ancak, etanol tüketimi gibi bazı durumlar, toksisite potansiyeli olan ksenobiyotiklere maruz kalmak, çevresel veya mesleki nedenle kirleticilere temas etmek gibi süreçler, bu homeostazın bozulmasına neden olmaktadır. Özellikle kronik alkol tüketimi, karaciğerde ROS üretimini artırarak veya antioksidan enzim aktivitelerini azaltarak oksidatif stresi tetikleyebilir ve böylece karaciğer fibrozisine sebep olabilir (221, 222). Lipid peroksidasyonunun son ürünü

olan MDA düzeyinin artması, antioksidan bir enzim olan SOD aktivitesinin ve GSH düzeylerinin azalması oksidatif stresin varlığına işaret eder (60, 223, 224). Etanolün, karaciğerde GSH düzeylerini ve SOD aktivitelerini azalttığı, MDA düzeylerini artırdığı ve bu şekilde oksidatif stresi indüklediği birçok çalışma ile gösterilmiştir (225-227). Benzer şekilde sunulan bu tez çalışmasında da, etanol uygulamasından sonra karaciğerde GSH düzeylerinin ve SOD aktivitelerinin azaldığı ve MDA düzeylerinin arttığı saptanmıştır.

Antioksidan özelliklere sahip ajanlar, karaciğerde oksidatif stres-antioksidan dengesizliğe neden olan etkenlere veya durumlara karşı karaciğeri etkili bir şekilde koruyabilir veya buradaki toksik etkinin geri dönmesini sağlayabilir. Daha önce yapılan pek çok çalışmada, hem CoQ10'un hem de analogu İDE'nin antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (33, 34, 36, 178, 194, 195, 215, 228, 229). Piroksikamın mide, karaciğer ve böbreklerde neden olduğu doku hasarına karşı CoQ10'un etkisini araştıran Abdeen ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, CoQ10'un artan MDA düzeylerini azalttığı ve GSH seviyesini artırdığı tespit edilmiştir (173). Alqarni ve ark., CoQ10'un epileptogenez ve valproik asit hepatotoksitesi üzerindeki etkisini sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada incelemiştir. CoQ10'un MDA düzeylerinde önemli bir azalmaya yol açtığını ve GSH seviyelerini artırdığını raporlamışlardır (230). Sutken ve ark. ise okratoksin A ile indüklenen karaciğer ve böbrek toksisitesinde CoQ10'un MDA düzeylerini önemli ölçüde azaltarak ve GSH seviyelerini artırarak, karaciğerdeki antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (231). Fouad ve ark., CoQ10'un HCC'li sıçanlardaki tedavi edici potansiyelini araştırmış ve yaptıkları çalışmada CoQ10'un lipid peroksidasyonu önemli ölçüde bastırdığını, azalmış GSH ve SOD aktivitesinin daha fazla tükenmesini önlediğini saptamışlardır (232). CoQ10 uygulamasını takiben oksidatif stres, antioksidan enzim aktivitesini araştıran Liu ve ark., HCC hastalarında cerrahi girişim sonrası CoQ10 takviyesinin SOD ve GSH seviyelerini önemli ölçüde artırdığını ve MDA düzeylerini azalttığını bildirmişlerdir (233). Bu tez çalışmasında da benzer şekilde sıçanlarda etanol maruziyet ile birlikte CoQ10 veya İDE uygulaması antioksidan savunma bileşenleri olan GSH düzeylerini ve SOD aktivitelerini artırırken, oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeylerini azaltmıştır. Etanol ile

indüklenen hepatotoksistelerde SOD, GSH ve MDA üzerine olumlu etkiler için CoQ10, İDE'den daha çok öne çıkmıştır.

Karaciğer patofizyolojisinin önemli bir düzenleyicisi olan TGF- β , HSC'leri aktive edebildiği için karaciğer fibrozisi ile yakından ilişkilidir (234, 235). TGF- β , HSC aktivasyonunu ve ECM üretimini kolaylaştırdığı için profibrojenik bir sitokindir (236). ECM proteinlerinin aşırı birikmesi karaciğer fibrozisine yol açar (237, 238). Oksidatif stres hepatosit hasarına yol açarak karaciğer fibrozisine sebep olabilir; ancak, TGF- β sinyalinin bloke edilmesi fibrojenezini azaltabilir ve antioksidan bileşikler oksidatif stresin azaltılması yoluyla iyileşmeyi kolaylaştırabilir (39, 235). Alkol maruziyetine bağlı karaciğer fibrozisinin TGF- β mRNA ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (239-241). Aynı zamanda, CoQ10'un TGF- β ekspresyonunu azaltarak ve HSC aktivasyonunu bloke ederek karaciğer fibrozisini önlediği bildirilmiştir (242). Nano boyutlu titanyum dioksitinin sebep olduğu karaciğer hasarında İDE uygulamasının, TGF- β ekspresyonunu azaltarak antifibrotik bir etki oluşturduğu da gösterilmiştir (39). Sunulan bu tez araştırmasında, karaciğer fibrozisinin bir göstergesi olarak TGF- β mRNA ekspresyonu değerlendirilmiş ve elde edilen bulguların daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır (39, 239-242). Etanole maruz kalmak sadece oksidatif stresi değil, aynı zamanda karaciğerde TGF- β mRNA ekspresyonunu da artırmaktadır. CoQ10 veya İDE uygulaması ise TGF- β mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı belirlendi. CoQ10, TGF- β mRNA ekspresyonunda İDE'den daha etkili bir azalmaya yol açtığı saptandı.

Özellikle transkripsiyon faktörlerindeki değişiklikler daha sonra hücreyel değişiklikleri etkileyebilir. Hem oksidatif stres hem de TGF- β , NLRP3 inflamazom yolağı ile ilgili parametrelerdir. NLRP3 inflamazomu kaspaz-1'in aktivasyonunu ve IL-1 β ile IL-18'in salınmasını sağlar, sonrasında TGF- β 1 aktivasyonunu destekler ve bu şekilde pozitif bir geri bildirim/besleme döngüsü yaratır (243, 244). NLRP3, diyabet ve iskemik inme dahil olmak üzere çeşitli bozuklukların patojenezinde rol oynar (245, 246). Kronik alkol tüketimi, ROS düzeylerini artırarak karaciğer hasarına katkıda bulunan NF- κ B ile birlikte NLRP3 inflamazomunu aktive eder. Aktive edilmiş bir NLRP3 inflamazomu, kaspaz-1'i aktive ederek ve IL-1 β ve IL-18'i serbest bırakarak karaciğer fibrozisini tetikler; böylece hücre hasarını ve apoptotik değişiklikleri başlatır (27, 140, 221, 247). Artan ROS seviyelerinin dışında, etanolün

metabolitlerinden biri olan asetaldehitin NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği ve kronik olarak alkole maruz kalan farelerin makrofajlarında proinflamatuvar etkiler oluşturduğu bildirilmiştir (248). CoQ10'un karaciğer dokularındaki NLRP3 inflamazom yolağı üzerindeki etkilerini veya çeşitli hedef organlarda İDE'nin NLRP3 inflamazom yolağı üzerindeki etkilerini araştırmış olmasına rağmen bu tez çalışması ile ilk defa CoQ10 ve İDE'nin karaciğer fibrozisi üzerindeki koruyucu etkilerini NLRP3 inflamazom yolağı üzerinden araştırmıştır. Zhang ve ark., fare hepatik iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde CoQ10'un NLRP3 ekspresyonunu inhibe ettiği ve IL-1 β ile IL-18 seviyelerini azalttığını göstermişlerdir (27). Li ve ark., akut septik karaciğer hasarından sonra CoQ10 uygulamasının NLRP3 ve IL-1 β ekspresyonunu önemli ölçüde azaltabildiğini bildirmiştir (41, 249). CoQ10 ve İDE'nin, NLRP3 inflamazom yolağını inhibe ederek etanolün neden olduğu karaciğer fibrozisin etkisini araştırmak için, NLRP3 inflamazom yolağı proteinleri NLRP3, kaspaz-1, NF- κ B, IL-18 ve IL-1 β 'nin mRNA ekspresyonu bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Etanole maruz kalan sıçanlarda CoQ10, yukarıda adı geçen tüm proteinlerin mRNA ekspresyonunu doz bağımlı bir şekilde ve önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır. Buna karşılık, CoQ10 analogu olan İDE de NF- κ B, IL-18, IL-1 β ve NLRP3'ün mRNA ekspresyonunu doz bağımlı bir şekilde ve önemli ölçüde azalttığı, ancak kaspaz-1 ekspresyonunu değiştirmedeği belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar ile daha önce yapılan çalışmaların bulguları uyumludur (27, 41, 249).

Sonuç olarak, sunulan bu tez çalışmasında yapılan histopatolojik incelemelerde elde edilen bulgular, moleküler ve biyokimyasal analizlerin sonuçlarını destekler niteliktedir. 30 gün boyunca ağızdan etanol uygulaması, ilgili gruplardaki sıçanların karaciğer histolojisini kötüleştirmiştir; ancak, bozulan karaciğer histolojisi CoQ10 ve İDE uygulaması sonrasında düzelmeye başlamıştır. Bu tez çalışmasında, hem CoQ10'un hem de İDE'nin doza bağlı bir şekilde karaciğer fibrozisini hafiflettiği saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, etanol ile indüklenen sıçan karaciğer fibrozis modeli uyarlanmış ve bu deneysel *in vivo* model tez araştırmasında kullanılmıştır.

Tez projesi çalışmasında biyokimyasal, moleküler ve histopatolojik bulgulara göre etanolün, NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β yolağı üzerinden karaciğer fibrozisini indüklediği gösterilmiştir.

Tez kapsamında elde edilen biyokimyasal, moleküler ve histopatolojik sonuçlara göre doz bağımlı olarak hem koenzim Q10 hem de analogu idebenonun, etanol kaynaklı hepatoksisitede koruyucu etkilidir.

Antioksidan özelliğe sahip CoQ10 ve analogu İDE, etanol maruziyetinin neden olduğu karaciğer fibrozisinde oksidatif stresi azaltarak koruyucu etki oluşturmaktadır.

Karaciğer fibrozisinde hepatoprotektif etki potansiyeli, analog İDE'ye kıyasla, CoQ10'da daha güçlüdür.

Sıçanlarda oluşturulan etanol kaynaklı karaciğer fibrozisine karşı NLRP3/Kaspaz-1/IL-1 β sinyal yolağı üzerinden CoQ10 ve İDE'nin yararlı olduğu bu tez çalışması ile ilk defa gösterilmiştir.

Özellikle koenzim Q10 ve idebenonun hepatoprotektif etkilerinin, NLRP3/kaspaz-1/IL-1 β yolağının inhibisyonu ve oksidatif stresin azaltılması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. CoQ10 ve İDE, etanolün neden olduğu karaciğer fibrozisinin tedavisi için dikkate değer adaylar olabilir. Antioksidan CoQ10 ve İDE'nin böbrek ve beyin gibi fibrozis için toksisitede hedef sistemlerde de araştırılmasının, yeni tedavi seçenekleri için ümit verici olabileceği önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Uzbay T. Alkoller. Kayaalp SO. Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 13. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2018.
2. Lide D. CRC Handbook of Chemistry and Physics 81st Edition. CRC Press, New York; 2000.
3. Organization WH. Global Status Report on Alcohol and Health 2018. World Health Organization; Geneva, Switzerland 2018 [Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf?sequence=1>].
4. Rehm J, Baliunas D, Borges GL, Graham K, Irving H, Kehoe T, et al. The relation between different dimensions of alcohol consumption and burden of disease: an overview. *Addiction*. 2010;105(5):817-43.
5. Cederbaum AI. Alcohol metabolism. *Clin Liver Dis*. 2012;16(4):667-85.
6. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health*. 2006;29(4):245-54.
7. Hoerner M, Behrens UJ, Worner T, Lieber CS. Humoral immune response to acetaldehyde adducts in alcoholic patients. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1986;54(1):3-12.
8. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*. 2005;115(2):209-18.
9. Boyer TD, Lindor KD. *Zakim and Boyer's hepatology: A textbook of liver disease e-book*: Elsevier Health Sciences; 2016.
10. Duval F, Moreno-Cuevas JE, González-Garza MT, Maldonado-Bernal C, Cruz-Vega DE. Liver fibrosis and mechanisms of the protective action of medicinal plants targeting inflammation and the immune response. *Int J Inflam*. 2015;2015:943497.
11. Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol*. 2003;38 Suppl 1:S38-53.
12. Tao Y, Wang N, Qiu T, Sun X. The Role of Autophagy and NLRP3 Inflammasome in Liver Fibrosis. *Biomed Res Int*. 2020;2020:7269150.
13. Kumar P, Smith T, Raeman R, Chopyk DM, Brink H, Liu Y, et al. Periostin promotes liver fibrogenesis by activating lysyl oxidase in hepatic stellate cells. *J Biol Chem*. 2018;293(33):12781-92.
14. Das SK, Vasudevan DM. Genesis of hepatic fibrosis and its biochemical markers. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008;68(4):260-9.
15. Lo RC, Kim H. Histopathological evaluation of liver fibrosis and cirrhosis regression. *Clin Mol Hepatol*. 2017;23(4):302-7.
16. Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, Dapito DH, Mu X, Hsu CC, et al. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice. *Gastroenterology*. 2012;143(4):1073-83.e22.

17. Kisseleva T, Cong M, Paik Y, Scholten D, Jiang C, Benner C, et al. Myofibroblasts revert to an inactive phenotype during regression of liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(24):9448-53.
18. Seki E, Brenner DA. Recent advancement of molecular mechanisms of liver fibrosis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2015;22(7):512-8.
19. Brenner DA. Reversibility of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2013;9(11):737-9.
20. Sharma D, Kanneganti TD. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *J Cell Biol*. 2016;213(6):617-29.
21. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010;140(6):821-32.
22. Szabo G, Csak T. Inflammasomes in liver diseases. *Journal of hepatology*. 2012;57(3):642-54.
23. Jiang W, Geng H, Lv X, Ma J, Liu F, Lin P, et al. Idebenone Protects against Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice Via Activation of the SIRT3-SOD2-mtROS Pathway. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2021;35(6):1129-45.
24. Ge Q, Chen X, Zhao Y, Mu H, Zhang J. Modulatory mechanisms of NLRP3: Potential roles in inflammasome activation. *Life Sci*. 2021;267:118918.
25. Dixon LJ, Berk M, Thapaliya S, Papouchado BG, Feldstein AE. Caspase-1-mediated regulation of fibrogenesis in diet-induced steatohepatitis. *Laboratory investigation*. 2012;92(5):713-23.
26. Petrasek J, Bala S, Csak T, Lippai D, Kodys K, Menashy V, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(10):3476-89.
27. Zhang S, Gan X, Gao J, Duan J, Gu A, Chen C. CoQ10 alleviates hepatic ischemia reperfusion injury via inhibiting NLRP3 activity and promoting Tregs infiltration. *Mol Immunol*. 2023;155:7-16.
28. Lenaz G, Fato R, Formiggini G, Genova ML. The role of Coenzyme Q in mitochondrial electron transport. *Mitochondrion*. 2007;7 Suppl:S8-33.
29. Martelli A, Testai L, Colletti A, Cicero AFG. Coenzyme Q(10): Clinical Applications in Cardiovascular Diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(4).
30. Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*. 2013;51:15-25.
31. Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr*. 2001;20(6):591-8.
32. Bentinger M, Brismar K, Dallner G. The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion*. 2007;7 Suppl:S41-50.
33. Lee BJ, Lin YC, Huang YC, Ko YW, Hsia S, Lin PT. The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:792756.

34. Abed Al-Kareem Z, Aziz ND, Ali Zghair M. Hepatoprotective Effect of Coenzyme Q10 in Rats with Diclofenac Toxicity. *Arch Razi Inst.* 2022;77(2):599-605.
35. Elshazly SM, Alsemeh AE, Ahmad EAA, Rezq S. CoQ10 exerts hepatoprotective effect in fructose-induced fatty liver model in rats. *Pharmacol Rep.* 2020;72(4):922-34.
36. Farsi F, Mohammadshahi M, Alavinejad P, Rezazadeh A, Zarei M, Engali KA. Functions of Coenzyme Q10 Supplementation on Liver Enzymes, Markers of Systemic Inflammation, and Adipokines in Patients Affected by Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. *J Am Coll Nutr.* 2016;35(4):346-53.
37. Eftekhari A, Ahmadian E, Azarmi Y, Parvizpur A, Hamishehkar H, Eghbal MA. In vitro/vivo studies towards mechanisms of risperidone-induced oxidative stress and the protective role of coenzyme Q10 and N-acetylcysteine. *Toxicol Mech Methods.* 2016;26(7):520-8.
38. Fadda LM, Hagar H, Mohamed AM, Ali HM. Quercetin and Idebenone Ameliorate Oxidative Stress, Inflammation, DNA damage, and Apoptosis Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles in Rat Liver. Dose Response. 2018;16(4):1559325818812188.
39. Abdelazim SA, Darwish HA, Ali SA, Rizk MZ, Kadry MO. Potential antifibrotic and angiostatic impact of idebenone, carnosine and vitamin E in nano-sized titanium dioxide-induced liver injury. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(6):2402-11.
40. Akpinar E, Kutlu Z, Kose D, Aydin P, Tavaci T, Bayraktutan Z, et al. Protective Effects of Idebenone against Sepsis Induced Acute Lung Damage. *J Invest Surg.* 2022;35(3):560-8.
41. Cordero MD, Alcocer-Gómez E, Culic O, Carrión AM, de Miguel M, Díaz-Parrado E, et al. NLRP3 inflammasome is activated in fibromyalgia: the effect of coenzyme Q10. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(8):1169-80.
42. Chokchaiwong S, Kuo YT, Lin SH, Hsu YC, Hsu SP, Liu YT, et al. Coenzyme Q10 serves to couple mitochondrial oxidative phosphorylation and fatty acid β -oxidation, and attenuates NLRP3 inflammasome activation. *Free Radic Res.* 2018;52(11-12):1445-55.
43. Organization WH. Global strategy to reduce the harmful use of alcohol: World Health Organization; 2010.
44. Grubb AF, Greene SJ, Fudim M, Dewald T, Mentz RJ. Drugs of Abuse and Heart Failure. *J Card Fail.* 2021;27(11):1260-75.
45. Farokhnia M, Abshire KM, Hammer A, Deschaine SL, Saravanakumar A, Cobbina E, et al. Neuroendocrine Response to Exogenous Ghrelin Administration, Combined With Alcohol, in Heavy-Drinking Individuals: Findings From a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Human Laboratory Study. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2021;24(6):464-76.

46. Konrad A, Vucurevic G, Lorscheider M, Bernow N, Thümmel M, Chai C, et al. Broad disruption of brain white matter microstructure and relationship with neuropsychological performance in male patients with severe alcohol dependence. *Alcohol Alcohol*. 2012;47(2):118-26.
47. Osna NA, Donohue TM, Jr., Kharbanda KK. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res*. 2017;38(2):147-61.
48. Lieber CS. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments. *J Hepatol*. 2000;32(1 Suppl):113-28.
49. Norberg Å, Jones AW, Hahn RG, Gabrielsson JL. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: research and forensic applications. *Clinical pharmacokinetics*. 2003;42:1-31.
50. Chan LN, Anderson GD. Pharmacokinetic and pharmacodynamic drug interactions with ethanol (alcohol). *Clin Pharmacokinet*. 2014;53(12):1115-36.
51. Kent W. The pharmacokinetics of alcohol in healthy adults. 2012.
52. Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *N Engl J Med*. 1990;322(2):95-9.
53. Le Daré B, Lagente V, Gicquel T. Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug Metab Rev*. 2019;51(4):545-61.
54. Heier C, Xie H, Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans—from biomarkers to bioactive lipids. *IUBMB Life*. 2016;68(12):916-23.
55. Lieber CS. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin Chim Acta*. 1997;257(1):59-84.
56. Hamitouche S, Poupon J, Dreano Y, Amet Y, Lucas D. Ethanol oxidation into acetaldehyde by 16 recombinant human cytochrome P450 isoforms: role of CYP2C isoforms in human liver microsomes. *Toxicol Lett*. 2006;167(3):221-30.
57. Kunitoh S, Asai H, Imaoka S, Funae Y, Monna T. Metabolism of acetaldehyde to acetate by rat hepatic P-450s: presence of different metabolic pathway from acetaldehyde dehydrogenase system. *Alcohol Clin Exp Res*. 1996;20(1 Suppl):22a-4a.
58. Ekström G, Ingelman-Sundberg M. Rat liver microsomal NADPH-supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol-inducible cytochrome P-450 (P-450IIE1). *Biochemical pharmacology*. 1989;38(8):1313-9.
59. Lieber CS, DeCarli LM. Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science*. 1968;162(3856):917-8.

60. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 2002;18(10):872-9.
61. Hyun J, Han J, Lee C, Yoon M, Jung Y. Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11).
62. Adinoff B, Bone GH, Linnoila M. Acute ethanol poisoning and the ethanol withdrawal syndrome. *Medical toxicology and adverse drug experience*. 1988;3:172-96.
63. Davies M. The role of GABAA receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 2003;28(4):263-74.
64. Le Dare B, Lagente V, Gicquel T. Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. *Drug metabolism reviews*. 2019;51(4):545-61.
65. Wei X, Shi X, Zhong W, Zhao Y, Tang Y, Sun W, et al. Chronic alcohol exposure disturbs lipid homeostasis at the adipose tissue-liver axis in mice: analysis of triacylglycerols using high-resolution mass spectrometry in combination with in vivo metabolite deuterium labeling. *PloS one*. 2013;8(2):e55382.
66. Osna NA, Donohue Jr TM, Kharbanda KK. Alcoholic liver disease: pathogenesis and current management. *Alcohol research: current reviews*. 2017;38(2):147.
67. Duddempudi AT. Immunology in alcoholic liver disease. *Clinics in liver disease*. 2012;16(4):687-98.
68. Zhou Y, Zheng J, Li S, Zhou T, Zhang P, Li H-B. Alcoholic beverage consumption and chronic diseases. *International journal of environmental research and public health*. 2016;13(6):522.
69. Bismuth H. Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J Surg*. 1982;6(1):3-9.
70. Brunicardi FC, Andersen D, Billiar T, Dunn D, Hunter J, Matthews J, et al. Schwartz cerrahinin ilkeleri. Çev Özmen M. 2008;10.
71. Ellis H. Anatomy of the liver. *Surgery (Oxford)*. 2011;29(12):589-92.
72. Du Y, Li N, Long M. Liver sinusoid on a chip. *Methods in Cell Biology*. 146: Elsevier; 2018. p. 105-34.
73. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol*. 2017;27(21):R1147-r51.
74. Si-Tayeb K, Lemaigre FP, Duncan SA. Organogenesis and development of the liver. *Dev Cell*. 2010;18(2):175-89.
75. Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*. 2020;587(7835):555-66.
76. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019;70(1):151-71.

77. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol*. 2004;4(8):583-94.
78. D'Amico G, Morabito A, D'Amico M, Pasta L, Malizia G, Rebora P, et al. New concepts on the clinical course and stratification of compensated and decompensated cirrhosis. *Hepatol Int*. 2018;12(Suppl 1):34-43.
79. Llovet JM, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, Sangro B, Schwartz M, Sherman M, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16018.
80. Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *Turk J Gastroenterol*. 2018;29(1):14-21.
81. Pinzani M. Liver fibrosis. *Springer Semin Immunopathol*. 1999;21(4):475-90.
82. Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut*. 2000;46(4):443-6.
83. Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest*. 2007;117(3):539-48.
84. Arthur MJ. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279(2):G245-9.
85. Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci*. 2003;8:d69-77.
86. Jacobs F, Wisse E, De Geest B. The role of liver sinusoidal cells in hepatocyte-directed gene transfer. *Am J Pathol*. 2010;176(1):14-21.
87. Tacke F, Weiskirchen R. Update on hepatic stellate cells: pathogenic role in liver fibrosis and novel isolation techniques. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;6(1):67-80.
88. Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainier DY. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest*. 2013;123(5):1902-10.
89. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(10):1969-87.
90. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7312-24.
91. Elpek G. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7260-76.
92. Natarajan V, Harris EN, Kidambi S. SECs (Sinusoidal Endothelial Cells), Liver Microenvironment, and Fibrosis. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4097205.
93. Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(5):306-21.
94. Robert S, Gicquel T, Bodin A, Lagente V, Boichot E. Characterization of the MMP/TIMP Imbalance and Collagen Production Induced by IL-1 β or TNF- α Release from Human Hepatic Stellate Cells. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153118.
95. Shah R, Reyes-Gordillo K, Arellanes-Robledo J, Lechuga CG, Hernández-Nazara Z, Cotty A, et al. TGF- β 1 up-regulates the expression of PDGF- β

- receptor mRNA and induces a delayed PI3K-, AKT-, and p70(S6K) - dependent proliferative response in activated hepatic stellate cells. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013;37(11):1838-48.
96. Kocabayoglu P, Lade A, Lee YA, Dragomir AC, Sun X, Fiel MI, et al. β -PDGF receptor expressed by hepatic stellate cells regulates fibrosis in murine liver injury, but not carcinogenesis. *J Hepatol*. 2015;63(1):141-7.
 97. Fallowfield JA, Mizuno M, Kendall TJ, Constandinou CM, Benyon RC, Duffield JS, et al. Scar-associated macrophages are a major source of hepatic matrix metalloproteinase-13 and facilitate the resolution of murine hepatic fibrosis. *J Immunol*. 2007;178(8):5288-95.
 98. Goldberg DM. Structural, functional, and clinical aspects of γ -glutamyltransferase. *CRC critical reviews in clinical laboratory sciences*. 1980;12(1):1-58.
 99. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2001;38(4):263-355.
 100. Chen LW, Huang MS, Shyu YC, Chien RN. Gamma-glutamyl transpeptidase elevation is associated with metabolic syndrome, hepatic steatosis, and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A community-based cross-sectional study. *Kaohsiung J Med Sci*. 2021;37(9):819-27.
 101. Dominici S, Paolicchi A, Corti A, Maellaro E, Pompella A. Prooxidant Reactions Promoted by Soluble and Cell-Bound γ -Glutamyltransferase Activity. *Methods in enzymology*. 2005;401:484-501.
 102. Senior JR. Alanine aminotransferase: a clinical and regulatory tool for detecting liver injury-past, present, and future. *Clin Pharmacol Ther*. 2012;92(3):332-9.
 103. Ishiguro M, Takio K, Suzuki M, Oyama R, Matsuzawa T, Titani K. Complete amino acid sequence of human liver cytosolic alanine aminotransferase (GPT) determined by a combination of conventional and mass spectral methods. *Biochemistry*. 1991;30(43):10451-7.
 104. Sherman KE. Alanine aminotransferase in clinical practice. A review. *Arch Intern Med*. 1991;151(2):260-5.
 105. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(5):960-7.
 106. Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem*. 1990;23(4):311-9.
 107. McKenna MC, Hopkins IB, Lindauer SL, Bamford P. Aspartate aminotransferase in synaptic and nonsynaptic mitochondria: differential effect of compounds that influence transient hetero-enzyme complex (metabolon) formation. *Neurochem Int*. 2006;48(6-7):629-36.
 108. Jeong SY, Jin H, Chang JH. Crystal structure of L-aspartate aminotransferase from *Schizosaccharomyces pombe*. *PLoS One*. 2019;14(8):e0221975.

109. Toney MD. Aspartate aminotransferase: an old dog teaches new tricks. *Arch Biochem Biophys*. 2014;544:119-27.
110. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta*. 1990;186(2):133-50.
111. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clinica chimica acta*. 1990;186(2):133-50.
112. Fernandez NJ, Kidney BA. Alkaline phosphatase: beyond the liver. *Vet Clin Pathol*. 2007;36(3):223-33.
113. Green RM, Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*. 2002;123(4):1367-84.
114. Fevery J, Muraca M, Mesa V, Van Steenberghe W, Blanckaert N. Plasma bilirubin pigments in health and disease. *Molecular aspects of medicine*. 1987;9(5):391-404.
115. Fevery J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver Int*. 2008;28(5):592-605.
116. Weaver L, Hamoud AR, Stec DE, Hinds TD, Jr. Biliverdin reductase and bilirubin in hepatic disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2018;314(6):G668-g76.
117. Güney T, Karataş A. KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ VE GÜNCEL GELİŞMELER. 2020.
118. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 2010;4(8):118.
119. Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry*. 2019;178:687-704.
120. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*. 1986;58:61-97.
121. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*. 2002;33(3):337-49.
122. Fridovich I. Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot -}$), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of biological chemistry*. 1997;272(30):18515-7.
123. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*. 2018;217(6):1915-28.
124. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*: ACS Publications; 2011. p. 1-37.
125. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. 2011.

126. Margis R, Dunand C, Teixeira FK, Margis-Pinheiro M. Glutathione peroxidase family—an evolutionary overview. *The FEBS journal*. 2008;275(15):3959-70.
127. Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med*. 1995;18(1):125-6.
128. Martinez-Cayueta M. Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*. 1995;77(3):147-61.
129. Aslani BA, Ghobadi S. Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*. 2016;146:163-73.
130. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*. 2007;2(2):219-36.
131. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*. 2001;54(3):176-86.
132. Pizzorno J. Glutathione! *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*. 2014;13(1):8.
133. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(5):3143-53.
134. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
135. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757-72.
136. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition journal*. 2003;2:1-10.
137. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*. 2015;97:55-74.
138. Chug-Ahuja JK, Holden JM, Forman MR, Mangels AR, Beecher GR, Lanza E. The development and application of a carotenoid database for fruits, vegetables, and selected multicomponent foods. *Journal of the American Dietetic Association*. 1993;93(3):318-23.
139. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014;6(2):466-88.
140. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*. 2002;10(2):417-26.
141. Thaiss CA, Levy M, Itav S, Elinav E. Integration of Innate Immune Signaling. *Trends Immunol*. 2016;37(2):84-101.
142. Kigerl KA, de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Popovich PG, Keane RW. Pattern recognition receptors and central nervous system repair. *Exp Neurol*. 2014;258:5-16.
143. Ting JP, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, et al. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity*. 2008;28(3):285-7.

144. Di Virgilio F. The therapeutic potential of modifying inflammasomes and NOD-like receptors. *Pharmacological reviews*. 2013;65(3):872-905.
145. Choltus H, Lavergne M, De Sousa Do Outeiro C, Coste K, Belville C, Blanchon L, et al. Pathophysiological implication of pattern recognition receptors in fetal membranes rupture: RAGE and NLRP inflammasome. *Biomedicines*. 2021;9(9):1123.
146. Amin J, Boche D, Rakic S. What do we know about the inflammasome in humans? *Brain Pathol*. 2017;27(2):192-204.
147. Shen Y, Qian L, Luo H, Li X, Ruan Y, Fan R, et al. The significance of NLRP inflammasome in neuropsychiatric disorders. *Brain Sciences*. 2022;12(8):1057.
148. İSPİR F, YÜCELİK ŞS. İnflamazomların Karaciğer Toksisitesindeki Rolü. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2019;39(2):90-7.
149. Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases. *Yonsei Med J*. 2016;57(1):5-14.
150. Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13).
151. Bauernfeind FG, Horvath G, Stutz A, Alnemri ES, MacDonald K, Speert D, et al. Cutting edge: NF- κ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression. *The Journal of Immunology*. 2009;183(2):787-91.
152. Boaru SG, Borkham-Kamphorst E, Van de Leur E, Lehnen E, Liedtke C, Weiskirchen R. NLRP3 inflammasome expression is driven by NF- κ B in cultured hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications*. 2015;458(3):700-6.
153. Wang J, Dong R, Zheng S. Roles of the inflammasome in the gut-liver axis (Review). *Mol Med Rep*. 2019;19(1):3-14.
154. Kahlenberg JM, Dubyak GR. Mechanisms of caspase-1 activation by P2X7 receptor-mediated K⁺ release. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;286(5):C1100-8.
155. Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*. 2006;440(7081):237-41.
156. Latz E. The inflammasomes: mechanisms of activation and function. *Current opinion in immunology*. 2010;22(1):28-33.
157. Watanabe A, Sohail MA, Gomes DA, Hashmi A, Nagata J, Sutterwala FS, et al. Inflammasome-mediated regulation of hepatic stellate cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2009;296(6):G1248-G57.

158. Ouyang X, Ghani A, Mehal WZ. Inflammasome biology in fibrogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2013;1832(7):979-88.
159. Weiskirchen R, Tacke F. Cellular and molecular functions of hepatic stellate cells in inflammatory responses and liver immunology. *Hepatobiliary surgery and nutrition*. 2014;3(6):344.
160. Reiter FP, Wimmer R, Wottke L, Artmann R, Nagel JM, Carranza MO, et al. Role of interleukin-1 and its antagonism of hepatic stellate cell proliferation and liver fibrosis in the *Abcb4*^{-/-} mouse model. *World journal of hepatology*. 2016;8(8):401.
161. Yaping Z, Ying W, Luqin D, Ning T, Xuemei A, Xixian Y. Mechanism of interleukin-1 β -induced proliferation in rat hepatic stellate cells from different levels of signal transduction. *Apmis*. 2014;122(5):392-8.
162. Gieling RG, Wallace K, Han YP. Interleukin-1 participates in the progression from liver injury to fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;296(6):G1324-31.
163. Wree A, Eguchi A, McGeough MD, Pena CA, Johnson CD, Canbay A, et al. NLRP3 inflammasome activation results in hepatocyte pyroptosis, liver inflammation, and fibrosis in mice. *Hepatology*. 2014;59(3):898-910.
164. Artlett CM, Thacker JD. Molecular activation of the NLRP3 Inflammasome in fibrosis: common threads linking divergent fibrogenic diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2015;22(13):1162-75.
165. Kamari Y, Shaish A, Vax E, Shemesh S, Kandel-Kfir M, Arbel Y, et al. Lack of interleukin-1 α or interleukin-1 β inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice. *Journal of hepatology*. 2011;55(5):1086-94.
166. Wree A, McGeough MD, Peña CA, Schlattjan M, Li H, Inzaugarat ME, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD. *J Mol Med (Berl)*. 2014;92(10):1069-82.
167. Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, Yeh MM, Johnson CD, Van Rooyen DM, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice. *J Hepatol*. 2017;66(5):1037-46.
168. Boaru SG, Borkham-Kamphorst E, Tihaa L, Haas U, Weiskirchen R. Expression analysis of inflammasomes in experimental models of inflammatory and fibrotic liver disease. *J Inflamm (Lond)*. 2012;9(1):49.
169. Crane FL, Hatefi Y, Lester RL, Widmer C. Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 1957;25(1):220-1.
170. Fuller B, Smith D, Howerton A, Kern D. Anti-inflammatory effects of CoQ10 and colorless carotenoids. *J Cosmet Dermatol*. 2006;5(1):30-8.
171. Martinefski M, Samassa P, Buontempo F, Höcht C, Lucangioli S, Tripodi V. Relative bioavailability of coenzyme Q10 formulation for paediatric individualized therapy. *J Pharm Pharmacol*. 2017;69(5):567-73.

172. Ali SA, Faddah L, Abdel-Baky A, Bayoumi A. Protective effect of L-carnitine and coenzyme Q10 on CCl₄-induced liver injury in rats. *Sci Pharm*. 2010;78(4):881-96.
173. Abdeen A, Abdelkader A, Elgazzar D, Aboubakr M, Abdulah OA, Shoghy K, et al. Coenzyme Q10 supplementation mitigates piroxicam-induced oxidative injury and apoptotic pathways in the stomach, liver, and kidney. *Biomed Pharmacother*. 2020;130:110627.
174. Eftekhari A, Ahmadian E, Azami A, Johari-Ahar M, Eghbal MA. Protective effects of coenzyme Q10 nanoparticles on dichlorvos-induced hepatotoxicity and mitochondrial/lysosomal injury. *Environ Toxicol*. 2018;33(2):167-77.
175. Eghbal MA, Abdoli N, Azarmi Y. Efficiency of hepatocyte pretreatment with coenzyme Q10 against statin toxicity. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2014;65(1):101-8.
176. Schmelzer C, Lorenz G, Lindner I, Rimbach G, Niklowitz P, Menke T, et al. Effects of Coenzyme Q10 on TNF-alpha secretion in human and murine monocytic cell lines. *Biofactors*. 2007;31(1):35-41.
177. Schmelzer C, Lindner I, Rimbach G, Niklowitz P, Menke T, Döring F. Functions of coenzyme Q10 in inflammation and gene expression. *Biofactors*. 2008;32(1-4):179-83.
178. Fouad AA, Jresat I. Hepatoprotective effect of coenzyme Q10 in rats with acetaminophen toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012;33(2):158-67.
179. Kennedy C, Okanya P, Nyariki JN, Amwayi P, Jillani N, Isaac AO. Coenzyme Q(10) nullified khat-induced hepatotoxicity, nephrotoxicity and inflammation in a mouse model. *Heliyon*. 2020;6(9):e04917.
180. Fouad AA, Al-Sultan AI, Refaie SM, Yacoubi MT. Coenzyme Q10 treatment ameliorates acute cisplatin nephrotoxicity in mice. *Toxicology*. 2010;274(1-3):49-56.
181. Sohet FM, Neyrinck AM, Pachikian BD, de Backer FC, Bindels LB, Niklowitz P, et al. Coenzyme Q10 supplementation lowers hepatic oxidative stress and inflammation associated with diet-induced obesity in mice. *Biochem Pharmacol*. 2009;78(11):1391-400.
182. Spindler M, Beal MF, Henchcliffe C. Coenzyme Q10 effects in neurodegenerative disease. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2009;5:597-610.
183. Upaganlawar A, Farswan M, Rathod S, Balaraman R. Modification of biochemical parameters of gentamicin nephrotoxicity by coenzyme Q10 and green tea in rats. *Indian J Exp Biol*. 2006;44(5):416-8.
184. Jaber S, Polster BM. Idebenone and neuroprotection: antioxidant, pro-oxidant, or electron carrier? *J Bioenerg Biomembr*. 2015;47(1-2):111-8.
185. Montenegro L, Turnaturi R, Parenti C, Pasquinucci L. Idebenone: Novel Strategies to Improve Its Systemic and Local Efficacy. *Nanomaterials (Basel)*. 2018;8(2).

186. El-Hattab AW, Zarante AM, Almannai M, Scaglia F. Therapies for mitochondrial diseases and current clinical trials. *Mol Genet Metab.* 2017;122(3):1-9.
187. L.M. Faddah* NAAB, Nouf M. Al-Rasheed and Nawal M. Al-Rasheed. Biochemical responses of nanosize titanium dioxide in the heart of rats following administration of idebenone and quercetin. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2013;7(38):2639-51.
188. Rauchová H. Coenzyme Q10 effects in neurological diseases. *Physiol Res.* 2021;70(Suppl4):S683-s714.
189. Gueven N, Woolley K, Smith J. Border between natural product and drug: comparison of the related benzoquinones idebenone and coenzyme Q10. *Redox Biol.* 2015;4:289-95.
190. Idebenone - monograph. *Altern Med Rev.* 2001;6(1):83-6.
191. Rauchová H, Vrbacký M, Bergamini C, Fato R, Lenaz G, Houstek J, et al. Inhibition of glycerophosphate-dependent H₂O₂ generation in brown fat mitochondria by idebenone. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(1):362-6.
192. Kernt M, Arend N, Buerger A, Mann T, Haritoglou C, Ulbig MW, et al. Idebenone prevents human optic nerve head astrocytes from oxidative stress, apoptosis, and senescence by stabilizing BAX/Bcl-2 ratio. *J Glaucoma.* 2013;22(5):404-12.
193. Ahmed MA. Neuroprotective effects of idebenone against pilocarpine-induced seizures: modulation of antioxidant status, DNA damage and Na(+), K (+)-ATPase activity in rat hippocampus. *Neurochem Res.* 2014;39(2):394-402.
194. Avcı B, Günaydın C, Güvenç T, Yavuz CK, Kuruca N, Bilge SS. Idebenone Ameliorates Rotenone-Induced Parkinson's Disease in Rats Through Decreasing Lipid Peroxidation. *Neurochem Res.* 2021;46(3):513-22.
195. Shivaram KN, Winklhofer-Roob BM, Straka MS, Devereaux MW, Everson G, Mierau GW, et al. The effect of idebenone, a coenzyme Q analogue, on hydrophobic bile acid toxicity to isolated rat hepatocytes and hepatic mitochondria. *Free Radic Biol Med.* 1998;25(4-5):480-92.
196. Gou T, Jin X, Xia J. Idebenone reduces sepsis-induced oxidative stress and apoptosis in hepatocytes via RAGE/p38 signaling. *Ann Transl Med.* 2022;10(24):1363.
197. Peng J, Wang H, Gong Z, Li X, He L, Shen Q, et al. Idebenone attenuates cerebral inflammatory injury in ischemia and reperfusion via dampening NLRP3 inflammasome activity. *Mol Immunol.* 2020;123:74-87.
198. Lee HJ, Park JH, Hoe HS. Idebenone Regulates A β and LPS-Induced Neurogliosis and Cognitive Function Through Inhibition of NLRP3 Inflammasome/IL-1 β Axis Activation. *Front Immunol.* 2022;13:749336.

199. Yu W, Jiang W, Wu W, Wang G, Zhao D, Yan C, et al. Combining idebenone and rosuvastatin prevents atherosclerosis by suppressing oxidative stress and NLRP3 inflammasome activation. *Eur J Pharmacol.* 2023;955:175911.
200. Subramaniyan V, Middha A, Merdekios B, Chandiran S. Chronic alcohol consumption: Increases the liver marker enzymes and hepatic damage on the albino Wister rat liver. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences.* 2015;6(2):157-61.
201. Karakaya K, Barut F, Hanci V, Can M, Comert M, Ucan HB, et al. Gastroprotective effects of CoQ10 on ethanol-induced acute gastric lesions. *Bratisl Lek Listy.* 2015;116(1):51-6.
202. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988;34(3):497-500.
203. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968;25(1):192-205.
204. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-8.
205. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.
206. Abramov Y, Golden B, Sullivan M, Botros SM, Miller JJ, Alshahrour A, et al. Histologic characterization of vaginal vs. abdominal surgical wound healing in a rabbit model. *Wound Repair Regen.* 2007;15(1):80-6.
207. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013;58(3):593-608.
208. Nagappan A, Kim JH, Jung DY, Jung MH. Cryptotanshinone from the *Salvia miltiorrhiza* Bunge Attenuates Ethanol-Induced Liver Injury by Activation of AMPK/SIRT1 and Nrf2 Signaling Pathways. *Int J Mol Sci.* 2019;21(1).
209. Fujimoto Y, Kaji K, Nishimura N, Enomoto M, Murata K, Takeda S, et al. Dual therapy with zinc acetate and rifaximin prevents from ethanol-induced liver fibrosis by maintaining intestinal barrier integrity. *World J Gastroenterol.* 2021;27(48):8323-42.
210. Ullah U, Badshah H, Malik Z, Uddin Z, Alam M, Sarwar S, et al. Hepatoprotective effects of melatonin and celecoxib against ethanol-induced hepatotoxicity in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2020;42(3):255-63.
211. Zhao H, Liu S, Zhao H, Liu Y, Xue M, Zhang H, et al. Protective effects of fucoidan against ethanol-induced liver injury through maintaining mitochondrial function and mitophagy balance in rats. *Food Funct.* 2021;12(9):3842-54.
212. Xie F, Zhong Y, Wang D, So KF, Xiao J, Lv Y. Metformin protects against ethanol-induced liver triglyceride accumulation by the LKB1/AMPK/ACC pathway. *Mol Biol Rep.* 2022;49(8):7837-48.

213. Zhang P, Chen S, Tang H, Fang W, Chen K, Chen X. CoQ10 protects against acetaminophen-induced liver injury by enhancing mitophagy. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2021;410:115355.
214. Hossain M, Suchi TT, Samiha F, Islam MMM, Tully FA, Hasan J, et al. Coenzyme Q10 ameliorates carbofuran induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in wister rats. *Heliyon.* 2023;9(2):e13727.
215. Lamia SS, Emran T, Rikta JK, Chowdhury NI, Sarker M, Jain P, et al. Coenzyme Q10 and Silymarin Reduce CCl(4)-Induced Oxidative Stress and Liver and Kidney Injury in Ovariectomized Rats-Implications for Protective Therapy in Chronic Liver and Kidney Diseases. *Pathophysiology.* 2021;28(1):50-63.
216. Ahmadvand H, Ghasemi-Dehnoo M. Antiatherogenic, hepatoprotective, and hypolipidemic effects of coenzyme Q10 in alloxan-induced type 1 diabetic rats. *ARYA Atheroscler.* 2014;10(4):192-8.
217. Mohamed DI, Khairy E, Tawfek SS, Habib EK, Fetouh MA. Coenzyme Q10 attenuates lung and liver fibrosis via modulation of autophagy in methotrexate treated rat. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:892-901.
218. Ali SA, Aly HF, Faddah LM, Zaidi ZF. Dietary supplementation of some antioxidants against hypoxia. *World J Gastroenterol.* 2012;18(44):6379-86.
219. Saha P, Talukdar AD, Nath R, Sarker SD, Nahar L, Sahu J, et al. Role of Natural Phenolics in Hepatoprotection: A Mechanistic Review and Analysis of Regulatory Network of Associated Genes. *Front Pharmacol.* 2019;10:509.
220. Xu MJ, Zhou Z, Parker R, Gao B. Targeting inflammation for the treatment of alcoholic liver disease. *Pharmacol Ther.* 2017;180:77-89.
221. Wei P, Yang F, Zheng Q, Tang W, Li J. The Potential Role of the NLRP3 Inflammasome Activation as a Link Between Mitochondria ROS Generation and Neuroinflammation in Postoperative Cognitive Dysfunction. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:73.
222. Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Proc Nutr Soc.* 2006;65(3):278-90.
223. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim).* 2018;12(3):88-93.
224. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin Chim Acta.* 2007;380(1-2):50-8.
225. Schlorff EC, Husain K, Somani SM. Dose- and time-dependent effects of ethanol on plasma antioxidant system in rat. *Alcohol.* 1999;17(2):97-105.
226. Chen J, Zhang Q, Wang R, Yang Y, Wang Y, Liu X, et al. Preliminary study on the effective site and mechanism of action of Meconopsis quintuplinervia Regel in alleviating acute alcoholic liver injury in mice. *J Ethnopharmacol.* 2023;308:116230.

227. Ding Y, Zhang Y, Wang Z, Zeng F, Zhen Q, Zhao H, et al. Echinacoside from *Cistanche tubulosa* ameliorates alcohol-induced liver injury and oxidative stress by targeting Nrf2. *Faseb j.* 2023;37(3):e22792.
228. Lin YS, Liu CY, Chen PW, Wang CY, Chen HC, Tsao CW. Coenzyme Q(10) amends testicular function and spermatogenesis in male mice exposed to cigarette smoke by modulating oxidative stress and inflammation. *Am J Transl Res.* 2021;13(9):10142-54.
229. Quiles JL, Ochoa JJ, Battino M, Gutierrez-Rios P, Nepomuceno EA, Frías ML, et al. Life-long supplementation with a low dosage of coenzyme Q10 in the rat: effects on antioxidant status and DNA damage. *Biofactors.* 2005;25(1-4):73-86.
230. Alqarni F, Eweis HS, Ali A, Alrafiah A, Alsieni M, Karim S, et al. The Effect of Coenzyme Q10 on Liver Injury Induced by Valproic Acid and Its Antiepileptic Activity in Rats. *Biomedicines.* 2022;10(1).
231. Sutken E, Aral E, Ozdemir F, Uslu S, Alatas O, Colak O. Protective role of melatonin and coenzyme Q10 in ochratoxin A toxicity in rat liver and kidney. *Int J Toxicol.* 2007;26(1):81-7.
232. Fouad AA, Al-Mulhim AS, Jresat I. Therapeutic effect of coenzyme Q10 against experimentally-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;35(1):100-8.
233. Liu HT, Cheng SB, Huang YC, Huang YT, Lin PT. Coenzyme Q10 and Oxidative Stress: Inflammation Status in Hepatocellular Carcinoma Patients after Surgery. *Nutrients.* 2017;9(1).
234. Yoshida K, Matsuzaki K, Mori S, Tahashi Y, Yamagata H, Furukawa F, et al. Transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor signal via c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad2/3 phosphorylation in rat hepatic stellate cells after acute liver injury. *Am J Pathol.* 2005;166(4):1029-39.
235. Dooley S, ten Dijke P. TGF- β in progression of liver disease. *Cell Tissue Res.* 2012;347(1):245-56.
236. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker AN. TGF- β in Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis-Updated 2019. *Cells.* 2019;8(11).
237. Reeves HL, Friedman SL. Activation of hepatic stellate cells--a key issue in liver fibrosis. *Front Biosci.* 2002;7:d808-26.
238. Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta.* 2006;364(1-2):33-60.
239. Han K, Zhang Y, Yang Z. Cilostazol protects rats against alcohol-induced hepatic fibrosis via suppression of TGF- β 1/CTGF activation and the cAMP/Epac1 pathway. *Exp Ther Med.* 2019;17(3):2381-8.
240. Purohit V, Brenner DA. Mechanisms of alcohol-induced hepatic fibrosis: a summary of the Ron Thurman Symposium. *Hepatology.* 2006;43(4):872-8.

241. Wen S, Wei Y, Zhang X, Bai F, Tan S, Nie J, et al. Methyl helicaterilate ameliorates alcohol-induced hepatic fibrosis by modulating TGF- β 1/Smads pathway and mitochondria-dependent pathway. *Int Immunopharmacol.* 2019;75:105759.
242. Choi HK, Pokharel YR, Lim SC, Han HK, Ryu CS, Kim SK, et al. Inhibition of liver fibrosis by solubilized coenzyme Q10: Role of Nrf2 activation in inhibiting transforming growth factor-beta1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;240(3):377-84.
243. Toldo S, Mezzaroma E, Mauro AG, Salloum F, Van Tassell BW, Abbate A. The inflammasome in myocardial injury and cardiac remodeling. *Antioxid Redox Signal.* 2015;22(13):1146-61.
244. Qiu H, Liu W, Lan T, Pan W, Chen X, Wu H, et al. Salvianolate reduces atrial fibrillation through suppressing atrial interstitial fibrosis by inhibiting TGF- β 1/Smad2/3 and TXNIP/NLRP3 inflammasome signaling pathways in post-MI rats. *Phytomedicine.* 2018;51:255-65.
245. Bilen A, Calik I, Yayla M, Dincer B, Tavaci T, Cinar I, et al. Does daily fasting shielding kidney on hyperglycemia-related inflammatory cytokine via TNF- α , NLRP3, TGF- β 1 and VCAM-1 mRNA expression. *Int J Biol Macromol.* 2021;190:911-8.
246. Keskin H, Keskin F, Tavaci T, Halici H, Yuksel TN, Ozkaraca M, et al. Neuroprotective effect of roflumilast under cerebral ischaemia/reperfusion injury in juvenile rats through NLRP-mediated inflammatory response inhibition. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2021;48(8):1103-10.
247. Lebeaupin C, Proics E, de Bieville CH, Rousseau D, Bonnafous S, Patouraux S, et al. ER stress induces NLRP3 inflammasome activation and hepatocyte death. *Cell Death Dis.* 2015;6(9):e1879.
248. Hoyt LR, Randall MJ, Ather JL, DePuccio DP, Landry CC, Qian X, et al. Mitochondrial ROS induced by chronic ethanol exposure promote hyper-activation of the NLRP3 inflammasome. *Redox Biol.* 2017;12:883-96.
249. Li QW, Yang Q, Liu HY, Wu YL, Hao YH, Zhang XQ. Protective Role of Coenzyme Q10 in Acute Sepsis-Induced Liver Injury in BALB/c Mice. *Biomed Res Int.* 2020;2020:7598375.

8. EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : 75296309-050.01.04-E.2000302703
Konu : HADYEK Kararı.

02.12.2020

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İği : 27.11.2020 tarihli ve 93722986-000-E.2000294837 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazımız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.11.2020 tarihli ve 12 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 176 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim=veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr



1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=F2556E6BC86>

TOPLANTI TARİHİ : 30.11.2020

TOPLANTI SAYISI : 12

KARAR N0 176: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Şaziye Sezin YÜCELİK'in yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “**Sıçanlarda Subakut Alkol Kullanımına Bağlı Gelişen Karaciğer Fibrozisinde İdebenon ve Koenzim Q10’un Etkisinin NLRP3 İnflamazom Aktivitesi Üzerinden İncelenmesi**” isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 27.11.2020 tarihli ve 93722986-000-E.2000294837 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.



EK 2. Orjinallik Ekran Görüntüsü

SIÇANLARDA SUBAKUT ALKOL KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN KARACİĞER FİBROZİSİNDE İDEBENON VE KOENZİM Q10'UN ETKİSİNİN NLRP3 İNFLAMAZOM AKTİVİTESİ ÜZERİNDEN İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

9%	%	9%	%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Mandiraci, Bilgen Onbasi. "Artroskoik Anterior Cruiate Ligament onarimi Cerrahisinin Postoperatif Analjezisinde Intraartikuler Levobupivakainin Etkin Konsantrasyonunun Belirlenmesi", Bursa Uludag University Publication	2%
2	Kucuk, Sefa Can. "50 Yas ve Uzeri kadinlarda D Vitamini ve Probiyotik Takviye Edilmis Yogurdun Gunluk Tuketiminin Yasam Kalitesi, Depresyon, Antropometrik Olcumler ve Bazi Kan Parametreleri Uzerine Etkisi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021 Publication	2%
3	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Publication	1%
4	Alibasoglu, Elif Koc. "Geleneksel Anjelika Recelinin Fiziko-Kimyasal Ve Fonksiyonel ozelliklerinin Arastirilmesi", Bursa Uludag	1%

9. ÖZGEÇMİŞ