



Ratlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Kronik Karaciğer Hasarı Üzerine Susam Yağının Etkisi ve Kaspaz Aktivitesi ile Hepatik Apoptozisin Belirlenmesi

Ayhan ATASEVER¹, Elife SAYAR¹, Görkem EKEBAŞ^{*1}, Meryem ŞENTÜRK², Meryem EREN²

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri

0000-0002-6327-1604

¹ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri

0000-0002-9776-1572

^{1*} Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Kayseri

0000-0001-9094-677X

² Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri

0000-0002-3763-8310

² Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri

0000-0003-1339-0493

Geliş Tarihi / Received

Kabul Tarihi / Accepted

Yayın Tarihi / Published

27.08.2020

10.11.2020

30.12.2020

Özet: Ratlarda deneysel olarak oluşturulan karbon tetraklorür (CCl₄) toksikasyonunda susam yağının (SY) olası koruyucu etkisi, hücresel apoptozda kaspaz 3 aktivasyonu, serum alanin amino transferaz (ALT) aktivitesi, trigliserid, total protein, albümin, total kolesterol düzeyleri ve karaciğer malondialdehit ile total antioksidan kapasitesi değerlendirildi. Çalışmada 48 adet rat, 12 hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Grup I kontrol grubudur. Grup II CCl₄ grubu olup, intraperitoneal 0,2 ml/kg CCl₄, haftada iki kere 8 hafta uygulandı. Grup III SY grubudur ve 8 ml/kg susam yağı, 12 hafta gavaj şeklinde uygulandı. Grup IV CCl₄+SY grubu olup, 8 ml/kg susam yağı, 12 hafta gavaj yoluyla uygulanırken son 8 hafta, haftada 2 defa intraperitoneal yolla 0,2 ml/kg CCl₄ uygulandı. Histopatolojik olarak Grup I ve Grup III'de karaciğer normal görünümde olup; Grup II'de hepatositlerde yoğun makro-mikroveziküler yağlanma, parankimde mononükleer hücre infiltrasyonları, bağ doku artışına bağlı tam olmayan pseudolobulasyon gözlemlendi. Grup IV'de ki histopatoloji Grup II ile benzerdi. İmmunohistokimyasal incelemede, kontrol gruplarına göre çalışma grubunda kaspaz 3 aktivitesinin arttığı gözlemlendi. Grup II'de artan serum ALT aktivitesi, Grup IV'de değişmedi. Grup II'de serum total protein ve albümin düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı olup (P<0,001), Grup IV'de sayısal olarak azaldı. Grup IV'de önemli düzeyde artış gösteren serum total kolesterol düzeyleri, SY'den etkilenmedi. Grup II'de serum trigliserit düzeylerinin istatistiki önemde artış (P<0,001), Grup IV'de sayısal olarak düşürdü. Grup IV'de SY ilavesi malondialdehit ve total antioksidan kapasitesi düzeyleri yönünden etki göstermedi. Grup IV'de susam yağının antioksidan özelliklerinin biyokimyasal veriler, histopatolojik lezyonlar üzerine iyileştirici yönden anlamlı bir etkisi gözlemlenmedi.

Anahtar Kelimeler: İmmunohistokimya; Karbon tetraklorür; Susam yağı; Rat.

The Effects of Sesame Oil on Chronic Liver Damage Induced by Carbon Tetrachloride in Rats and Determination of Hepatic Apoptosis and Caspase Activity

Abstract: The protective effect of sesame oil (SO) as well as its effect on caspase 3 activation in cellular apoptosis, serum alanine aminotransferase (ALT) activity, triglyceride, total protein, albumin, total cholesterol levels and total antioxidant capacity were evaluated in experimentally induced carbon tetrachloride (CCl₄) toxicity in rats. In the study, 48 rats were divided into 4 groups of 12 animals. Group I was allocated as control and Group II as CCl₄ group. Group III was applied 8 ml/kg SO for 12 weeks as gavage. Group IV received 8 ml/kg SO for 4 weeks followed by gavage for 8 weeks, whereas 8 ml/kg SO was given daily: Groups II and IV were administered 0.2 ml/kg CCl₄ intraperitoneally twice a week for 8 weeks. Normal liver tissue in Group I and Group III; in group II, intense macro-microvesicular fatty in hepatocytes, mononuclear cell infiltrations in the parenchyma and incomplete pseudolobulation due to connective tissue increase were observed. Histopathology in Group IV was similar to Group II. Caspase 3 activity increased in the study group compared to the control groups. Increased serum ALT activity in Group II did not change in Group IV. The decrease in serum total protein and albumin levels in Group II was statistically significant (P <0.001) and decreased numerically in Group IV. Serum total cholesterol levels, which increased significantly in group IV, were not affected by SO. The statistical significance of serum triglyceride levels in Group II (P <0.001) decreased numerically in Group IV. In group IV, the addition of SY did not affect in terms of malondialdehyde and total antioxidant capacity levels. In Group IV, the antioxidant properties of the sesame oil did not have a curative effect on biochemical findings, histopathological lesions.

Keywords: Carbon tetrachloride; Immunohistochemistry; Sesame oil; Rat.

Sorumlu yazar: Görkem EKEBAŞ

Adres: Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri

e-posta: gekebas@erciyes.edu.tr

GİRİŞ

Karaciğer, anatomik lokalizasyonu ve önemli fonksiyonel görevleri nedeniyle toksik maddelere en fazla maruz kalan ve bu toksik maddelerin çoğuyla da hasara uğrayabilen bir organdır (Crawford, 2003). Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan akut ve kronik hepatotoksisite etkisini oksidatif stres ve serbest radikaller oluşumu yoluyla gösterir, biyokimyasal ve hücre organelleri düzeyinde hasar gerçekleşir (Recknagel ve ark., 1989; Muriel ve Mourelle, 1990). Serbest radikal türevleri, hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonu oluşturup karaciğerde hepatositlerin hücre membranlarını bozmak suretiyle etki gösterirler (Basu, 2003; Manibusan ve ark., 2007). Oksidatif hasarla ilişkilendirilen oksidatif stres, son yıllarda hücre yıkımını inceleyen araştırmaların odağı konumundadır (Aranda ve ark., 2010; Lv ve ark., 2015; Yehia ve ark., 2013).

Karaciğerde protein sentezi bozularak, özellikle apolipoprotein sentezini engelleyen açlık, şeker hastalığı, adrenalin salgısı bozukluğu ve esansiyel amino asit yetersizliğinde ve metiyonin, orotik asit, etanol, karbon tetraklorür, kloroform gibi maddeler alınması ile karaciğerde yağlanma meydana gelir (Kalaycıoğlu ve ark., 2000).

Bitkisel orijinli birçok ilacın toksik ve yan etkilerinin az olması, ekonomik olmaları ve

teminlerinin kolay olması gibi nedenlerle, değişik kimyasal maddeler ile hayvan modellerinde oluşturulan karaciğer hasarına karşı bu tür ilaçların koruyucu etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır (Atasever ve Yaman, 2014; Gnanaprakash ve ark., 2010; Yehia ve ark., 2013). Serbest radikalleri tutucu ve antioksidan etkisi olduğu bildirilen susam yağının (SY), CCl₄ ve diğer kimyasallar ile oluşan karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkileri olabileceği bu konuda yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Akimoto ve ark., 1993; Kumar, 2011).

Bu çalışmada CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda, Susam yağı (SY)'nin karaciğerde oluşacak patoloji üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığı histokimyasal, immunohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada kullanılan SY ticari olarak Bükaş (İzmir) firmasından temin edilmiş olup, bileşenleri Tablo 1'de gösterildi.

Erciyes Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulunun 09.05.2018 tarih ve 18/062 sayılı onay yazısı sonrası başlayan çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)'nden alınan 200-250 g'lık 48 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Hayvanlar her kafeste

beş rat olacak şekilde, pelet yem ile *ad libitum* olarak beslenerek kontrollü sıcaklık ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$), nem ($\%50\pm 5$), hava değişimi (saatte 12 devir), aydınlatma (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) şartlarında barındırıldı.

Tablo 1. Susam yağı, yağ asitleri kompozisyonu

Kompozisyonu (%)	Doymuş Yağ Asitleri
	<u>Palmitik Asit</u> 9,89
	<u>Palmitoleik Asit</u> 0,14
	<u>Stearik Asit</u> 5,2
Kompozisyonu (%)	Doymamış Yağ Asitleri
	<u>Oleik Asit</u> 43,18 (Omega 9)
	<u>Linoleik Asit</u> 40,53 (Omega 6)
	<u>Linolenik Asit</u> 0,34 (Omega 3)
	<u>Araşidik Asit</u> 0,53
	<u>Ekosenoik Asit</u> 0,19

Her grupta 12 hayvan olmak üzere 4 grup oluşturuldu. İlk grup kontrol olarak belirlendi ve % 0,9 NaCl (1ml/kg/canlı ağırlık); ikinci gruba 1:1 oranında mısır yağı ile dilüe edilen 0,2 ml/kg canlı ağırlık dozunda CCl_4 intraperitoneal (ip) olarak haftada iki kere olmak üzere 8 hafta uygulandı. Susam yağı (8 ml/kg canlı ağırlık) verilecek hayvanlar kontrol grubu (Grup III) ve çalışma grubu (Grup IV) şeklinde ikiye ayrıldı. Grup III ve Grup IV'e SY 12 hafta boyunca her gün gavaj şeklinde verilirken, eş zamanlı olarak Grup IV'e intraperitoneal olarak 0,2 ml/kg canlı ağırlık CCl_4 haftada iki kere olmak üzere 8 hafta uygulandı.

Deney sonunda anestezi altında intrakardiyak yaklaşık 5 ml olarak alınan kan örnekleri Vacutainer tüplerine kondu ve 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Ardından 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumlar ayrıldı ve -20°C 'de saklandı. Çalışma sonunda hayatta kalan tüm ratlarda sedasyon sağlandıktan sonra, yüksek doz anestezi ile ötenazilerini takiben nekropsileri yapıldı. İç organların makroskopik muayenesini takiben karaciğer, akciğer, böbrek ve beyinden alınan numuneler histopatolojik inceleme için % 10 nötral formalinde tespit edildi. Rutin doku takibi sonunda kesitler 5-6 mikrometre kalınlığında kesilerek hematoksilen-eozin (HxE) ile boyandı.

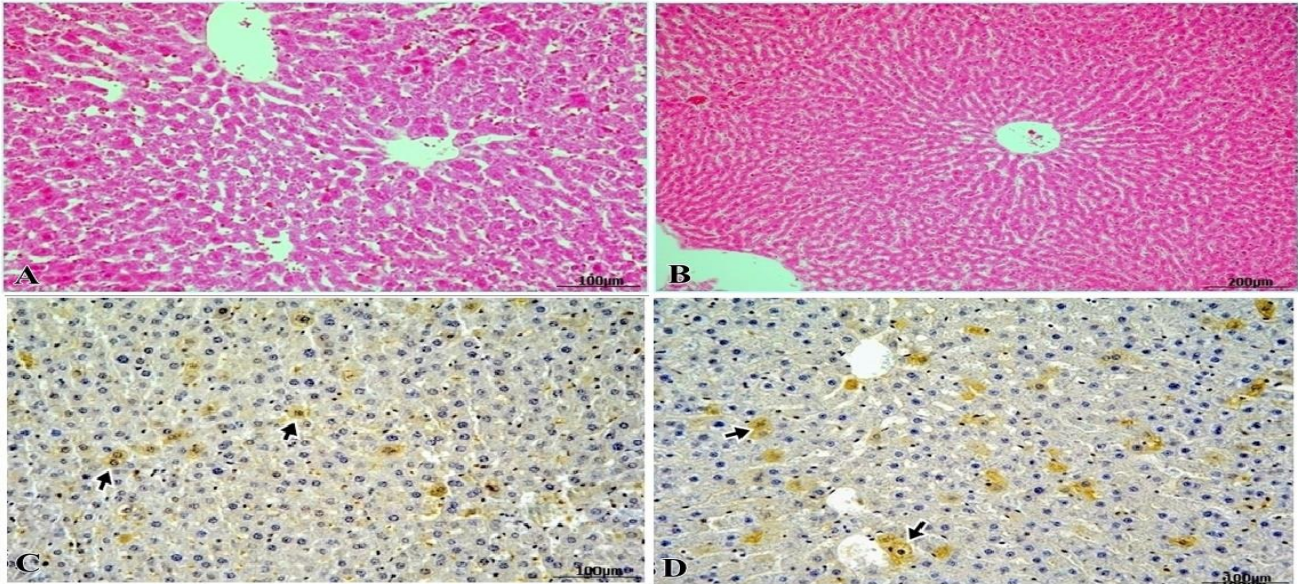
Dokulardaki kaspaz aktivitesini göstermek için avidin biotin peroksidaz kompleks (ABC-P) tekniği ile ticari kitte (Zymed, Histostain Plus Kit, California, USA) öngörülen standart prosedüre göre işlem yapıldı. Kesitler deparafinizasyon ve dehidrasyondan sonra, içerisinde sitrat buffer solüsyonu bulunan mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde sıralanarak LG marka mikrodalga fırında 500 watt 10 dakika inkübe edildi. Non-spesifik antijenik bölgeleri bloke etmek için 10 dakika %3'lük H_2O_2 solüsyonunda tutuldu. PBS'de 3-5 dakika yıkandı. Primer antikor olarak anti-kaspaz 3 (aktif) (Novus NB100-56113) (sulandırma oranı 1/2000) damlatıldı. Bir saat inkübasyona bırakıldı. PBS'de 3-5

tükürük salgısı ve kilo kaybı gibi klinik bulgular gözlemlendi.

Grup I ve Grup III'deki ratların nekropsilerinde karaciğer ve diğer organ numunelerinde makroskopik olarak patolojik lezyona rastlanmadı. Grup II ve Grup IV'deki ratların bazılarının karaciğerlerinde koyu kırmızı, bazılarında ise beyaz sarımsı renk değişiklikleri, birkaç hayvanda karaciğerle diyafram arasında yapışmalar; Grup II'deki 4 ratta asites görüldü.

Bu gruplardaki ratların karaciğerlerinde hacimce artış tespit edildi.

Grup I ve III'deki ratların karaciğer (Şekil 1A, B) ve diğer organ örneklerinin histolojik değerlendirmesinde bir lezyon bulunmadığı ve normal histolojik yapıda oldukları gözlemlendi. Anti-kaspaz 3 antikoru ile Grup I ve III'deki ratların karaciğer kesitlerine yapılan immunohistokimyasal boyamada normal apoptoza maruz kalan az sayıda ve sitoplazmaları kahverengiye boyanmış pozitif hücreler görüldü (Şekil 1C, D).



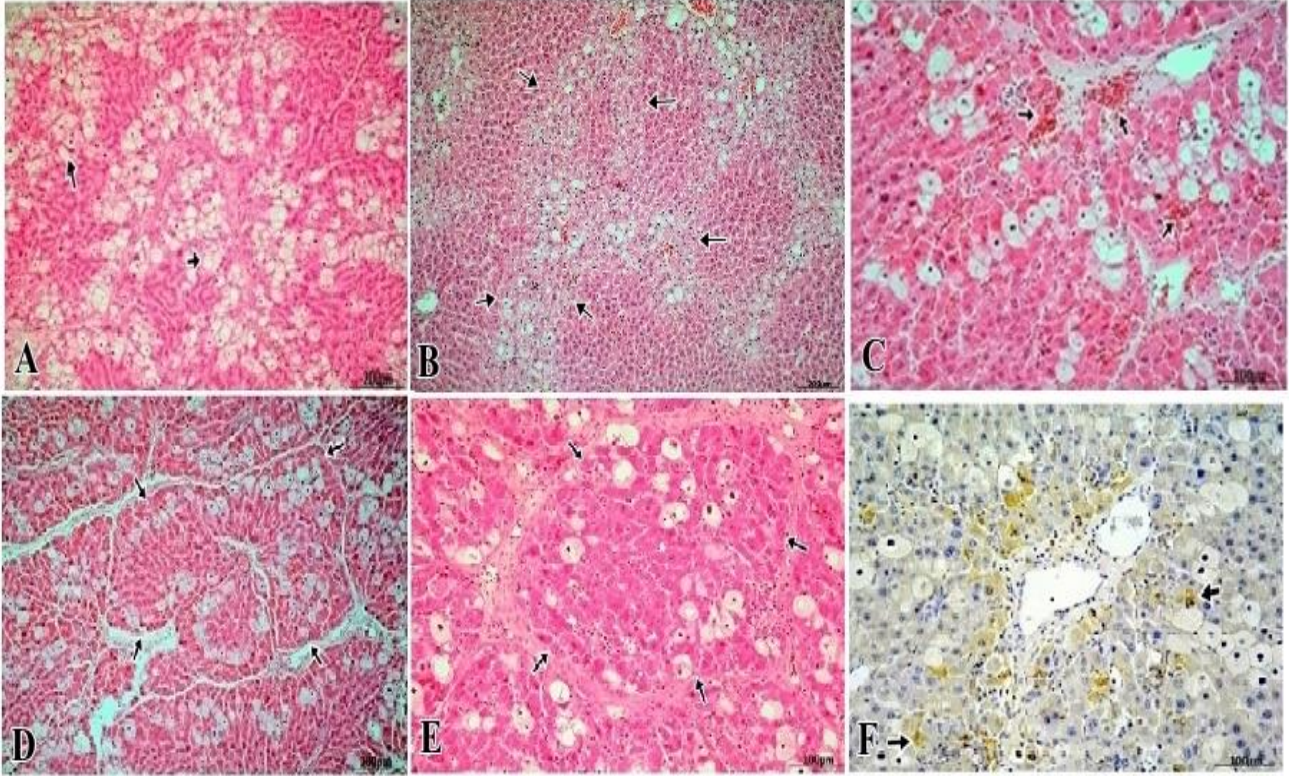
Şekil 1. A. Kontrol (Grup I); B. Susam yağı (Grup III) gruplarındaki karaciğerlerin histolojik görünümü. H&E, C. Kontrol (Grup I) ve D. Susam yağı (Grup III) gruplarında anti-kaspaz 3 immunohistokimyasal boyaması sonucu az sayıdaki apoptotik hepatositlerin (oklar) görünümü. ABC-P.

Grup II'deki ratların karaciğer kesitlerinde hepatositlerin çoğunda yoğun makro ve mikroveziküler yağ vakuollerinin (Şekil 2A) varlığı ile Remark kordonlarının yapısında bozulma dikkati çekti. Sınırları net belli olmayan, multifokal geniş nekroz alanlarının tüm karaciğer parankimini etkilediği (Şekil 2B), pembe homojen bir

kitleye dönüştüğü, hepatositlerin sitoplazmalarında mikroveziküler yağ vakuolleri belirgin olarak görülmekteydi. Özellikle portal bölgelere yakın alanlarda, lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonları ile Kupffer hücrelerinde sayıca artış ve fokal kanama alanları (Şekil 2C) gözlemlendi. Portal bölgelerde ortadan

şiddetliye ulaşan fibrozis alanlarının klasik lobül yapısını bölerek parankimde hepatosit gruplarından oluşan lobul oluşumlarına yol açtığı görüldü (Şekil 2D, E). Anti-kaspaz 3 antikoru ile Grup II'deki

ratların karaciğer kesitlerine yapılan immunohistokimyasal boyamada Grup I ve Grup IV'e göre sitoplazmaları kahverenge boyanmış pozitif hücrelerin sayısının artmış olduğu görüldü (Şekil 2F).



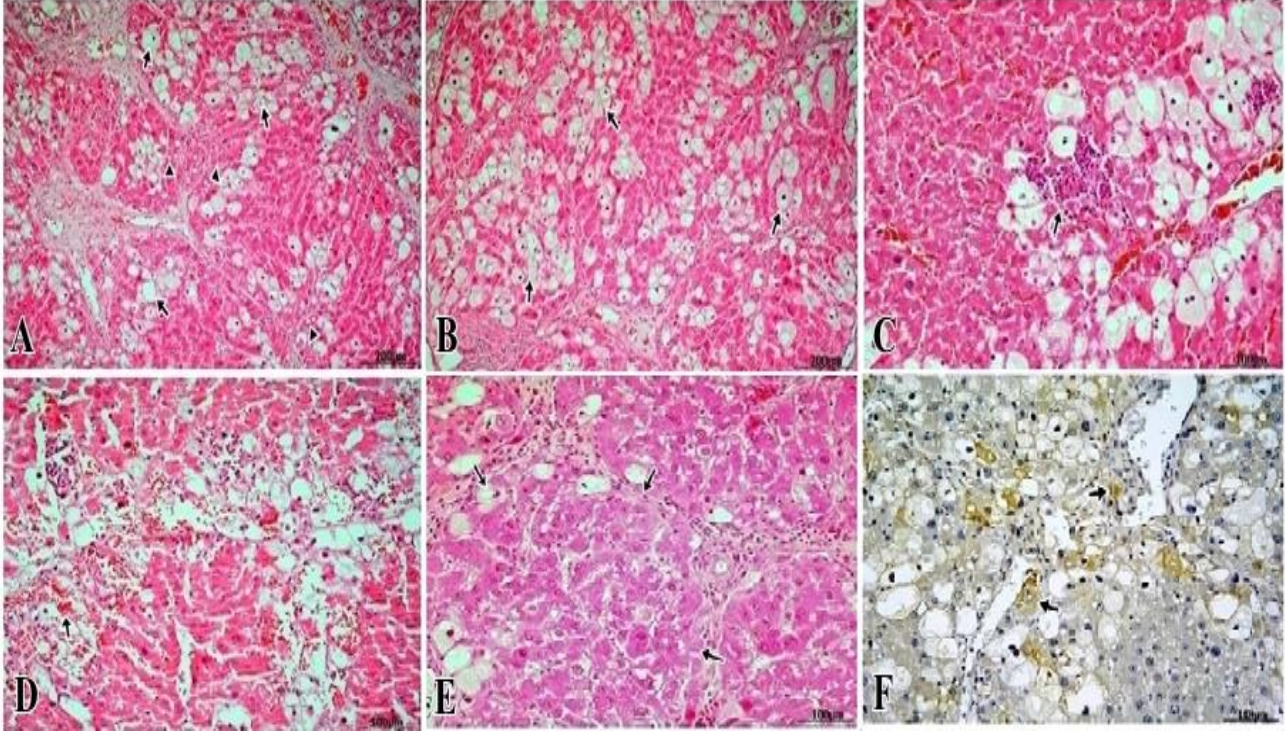
Şekil 2. CCl₄ uygulanan Grup II'de **A.** Hepatositlerinde yoğun makro veziküler yağ vakuolleri (oklar), **B.** Karaciğer parankiminde pembe homojen renkli geniş nekroz-yağlanma alanlarının görünümü. HxE, **C.** Karaciğer parankiminde fokal kanama alanlarının (oklar) görünümü, HxE, **D-E.** Karaciğer parankiminde fibröz doku ile şekillenen lobulasyonların (okların sınırladığı alan) görünümü, HxE, **F.** Anti-kaspaz 3 immunohistokimyasal boyaması sonucu apoptotik hepatositlerin (oklar) görünümü. ABC-P.

Grup IV'e ait karaciğer dokularının histolojisinde Grup II'dekine benzer şekilde parankimde geniş alanlarda hepatositlerde makro- ve mikroveziküler yağ vakuolizasyonu ve yağ nekrozları dikkati çekti (Şekil 3A). Hepatositlerdeki yağ vakuolleri ve bağ doku artışı nedeniyle Remark kordon yapıları tamamen bozulmuştu (Şekil 3B). Parankimde

çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücre infiltrasyon alanları ve Kupffer hücre hiperplazisi ve konjesyon (Şekil 3C), ayrıca parankimde fokal kanama alanları gözlemlendi (Şekil 3D). Ortadan şiddetliye kadar değişen fibrozis parankimde klasik lobül yapısını bölerek hepatosit gruplarından oluşan lobulasyon formlarını oluşturmuştu (Şekil 3E).

Anti-kaspaz 3 antikorları ile Grup IV'deki ratların karaciğer doku kesitlerine yapılan immunohistokimyasal boyamada Grup I ve

Grup III'dekilere göre daha belirgin ve Grup II ile benzer pozitif immun boyanma görüldü (Şekil 3F).



Şekil 3. Karbontetraklorür ve susam yağı uygulanan IV. grupta **A,B** Karaciğer parankiminde özellikle vena centralisler periferindeki hepatositlerde yoğun makro-(oklar) ve mikroveziküler (ok başları) yağ vakuolleri nedeniyle Remark kordonlarının yapısında bozulma, **C.** Karaciğer parankiminde çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu mononükleer hücre infiltrasyonları (ok), **D.** Karaciğer parankiminde fokal kanama alanlarının (ok) görünümü, Hx E, **E.** Karaciğer parankiminde fibröz doku ile şekillenen lobul oluşumları (okların sınırladığı alan) Hx E, **F.** Anti-kaspaz 3 immunohistokimyasal boyaması sonucu apoptotik hepatositlerin (oklar) görünümü. ABC-P.

Çalışmada Grup I ve III yangı, yağlanma, nekroz ve fibrozis skorları sıfır olup, bu grupların skorlarıyla Grup II ve Grup IV skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,001$) bir değişim tespit edildi. (Tablo 2).

Gruplara ait serum ALT aktivitesi, trigliserid, total protein, albümin ve kolesterol düzeyleri ile karaciğer dokusunda ölçülen MDA ve TAK değerleri Tablo 3'de verildi.

Grup I ve III arasında serum ALT aktivitesi yönünden istatistiki anlamda bir fark belirlenmedi. Grup II ve Grup IV'te ise karaciğer hasarına bağlı olarak serum ALT aktivitesi önemli düzeyde ($P<0,001$) artmıştı (Tablo 3). Grup II, serum total protein ve albümin düzeyleri istatistiki önemde ($P<0,001$) düşüş gösterdi. Grup IV'de ise serum total protein ve albümin değerlerinde sadece sayısal artış görüldü (Tablo 3). Grup II'de CCl_4 uygulaması ile oluşan karaciğer hasarına bağlı olarak

önemli düzeyde ($P<0,001$) artış gösteren serum total kolestrol düzeylerinin hem CCl_4 , hem de SY verilen Grup IV'teki ratlarda da yüksek olduğu gözlemlendi. (Tablo 3). Grup II ve Grup IV'teki trigliserid düzeylerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlemlendi

($P<0,001$). Susam yağı uygulanan Grup IV'teki ratlarda trigliserid düzeyleri Grup II'deki ratlarınkine oranla daha düşüktü, ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (Tablo 3).

Tablo 2. Gruplara ait doku hasar parametre skorlarının istatistiksel önem kontrolü.

Gruplar	Kontrol (Grup I) (n=12) Medyan (%25; %75 Yüzdellik)	CCl_4 (Grup II) (n=12) Medyan (%25; %75 Yüzdellik)	SY (Grup III) (n=12) Medyan (%25; %75 Yüzdellik)	SY+ CCl_4 (Grup IV) (n=12) Medyan (%25; %75 Yüzdellik)	P değeri
Yangı	0 ^a (0-0)	2,0 ^b (1,0-2,0)	0 ^a (0-0)	2,0 ^b (1,25-2,75)	$P<0,001$
Yağlanma	0 ^a (0-0)	2,0 ^b (1,25-2,75)	0 ^a (0-0)	2,0 ^b (2,0-3,0)	$P<0,001$
Nekroz	0 ^a (0-0)	1,0 ^b (1,0-2,0)	0 ^a (0-0)	1,5 ^b (1,00-2,00)	$P<0,001$
Fibrozis	0 ^a (0-0)	2,0 ^b (2,0-2,75)	0 ^a (0-0)	2,5 ^b (1,25-3,00)	$P<0,001$

^{a-b}: Her satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir.

Gruplara ait serum ALT aktivitesi, trigliserid, total protein, albümin ve kolesterol düzeyleri ile karaciğer dokusunda ölçülen MDA ve TAK değerleri Tablo 3'de verildi.

Grup I ve III arasında serum ALT aktivitesi yönünden istatistiki anlamda bir fark belirlenmedi. Grup II ve Grup IV'te ise karaciğer hasarına bağlı olarak serum ALT aktivitesi önemli düzeyde ($P<0,001$) artmıştı (Tablo 3). Grup II, serum total protein ve albümin düzeyleri istatistiki önemde ($P<0,001$) düşüş gösterdi. Grup

IV'de ise serum total protein ve albümin değerlerinde sadece sayısal artış görüldü (Tablo 3). Grup II'de CCl_4 uygulaması ile oluşan karaciğer hasarına bağlı olarak önemli düzeyde ($P<0,001$) artış gösteren serum total kolestrol düzeylerinin hem CCl_4 , hem de SY verilen Grup IV'teki ratlarda da yüksek olduğu gözlemlendi. (Tablo 3). Grup II ve Grup IV'teki trigliserid düzeylerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlemlendi ($P<0,001$). Susam yağı uygulanan Grup IV'teki ratlarda trigliserid düzeyleri Grup

II'deki ratlarınkine oranla daha düşüktü, ancak bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı (Tablo 3).

Çalışmada en yüksek MDA düzeyi Grup II'de belirlenmiştir (P<0,001). Karbon tetraklorür verilen gruplara SY ilavesinin

ise (Grup IV) yüksek olan MDA düzeyi üzerinde etki göstermediği tespit edilmiştir. Total antioksidan kapasitesi yönünden ise gruplar arasında fark saptanamamıştır (P>0,05) (Tablo 3).

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarının biyokimyasal parametreleri

Gruplar	Kontrol (Grup I) (n=12)	CCl ₄ (Grup II) (n=12)	SY (Grup III) (n=12)	SY+CCl ₄ (Grup IV) (n=12)	P değeri
ALT(U/L)	63,00±8,018 ^a	2497,00±324,060 ^b	58,67±7,794 ^a	2048,00±403,333 ^b	P<0,001
Total protein (g/dL)	6,15±0,294 ^b	5,68±0,224 ^a	6,04±0,377 ^b	5,71±0,264 ^a	P<0,001
Albümin (g/dL)	4,04±0,251 ^b	3,53±0,144 ^a	4,90±0,357 ^c	3,65±0,155 ^a	P<0,001
Total kolesterol (mg/dL)	44,08±10,723 ^b	66,14±8,591 ^a	46,40±19,126 ^b	64,00±8,276 ^a	P<0,001
Trigliserid (mg/dL)	34,10±9,814 ^b	139,00±22,211 ^a	43,10±4,999 ^b	116,22±15,015 ^a	P<0,001
MDA (µmol/mg protein)	5,57±0,31 ^b	12,49±0,95 ^a	7,14±0,86 ^b	11,29±0,78 ^a	P<0,001
TAK (mmol/L)	2,49±0,01	2,53±0,01	2,50±0,02	2,54±0,01	P>0,05

a-b-ab-c: Her satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. Ortalama±Std. Hata

TARTIŞMA ve SONUÇ

Ratlarla yapılan çalışmalarda kullanılan CCl₄'ün tek doz intragastrik (Balderas ve ark., 2007; Gnanaprakash ve ark., 2010), iki doz intraperitoneal (İP) (Atasever ve Yaman, 2014; Zuinen ve ark., 2007), haftada üç gün subkutan (SK) verildiği (İlhan ve Seçkin, 2005; Khorsid ve ark., 2008) süre ve uygulama bakımından farklı çalışmalar bulunmaktadır. CCl₄; zeytinyağı (Atasever ve Yaman, 2014; Gnanaprakash ve ark., 2010), ayçiçek yağı (Khorsid ve ark., 2008), mısırozü yağı (Balderas ve ark., 2007, Zuinen ve ark., 2007) gibi farklı çözücülerle

verilmiştir. Susam ile yapılan sınırlı sayıda makale bulunmaktadır. CCl₄ ile oluşturulan karaciğer hasarında; Kumar (2011) ratlara susamı 400mg/kg ve 700 mg/kg canlı ağırlık dozlarında her gün; Akimoto ve arkadaşları (1993) 100 mg/kg canlı ağırlık susamı zeytinyağında çözerek ratlara oral uygulamışlardır. Hsu ve Liu (2004) lipopolisakkaritle; Abdou ve arkadaşları (2012) sipermetrin kaynaklı oksidatif strese karşı ratlara günlük 5 ml/kg ve 8 ml/kg canlı ağırlık susam yağı vererek oluşabilecek reaktif oksijen türlerini zayıflatarak karaciğerde oluşan hasara karşı

biyokimyasal, histopatolojik ve genomik DNA fragmantasyonuna karşı koruyabileceğini bildirmişlerdir. Önceki çalışmalarda kesin bir doz tespiti olmadığından dolayı Hsu ve Liu (2004)'nin çalışmasında ki gibi 8 ml/kg canlı ağırlık dozu çalışmada kullanılmıştır.

Karbon tetraklorürün kronik olarak uygulanmasının rat karaciğerlerinde hepatitis, fibrozis ve siroz ile sonuçlanan karaciğer toksikasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir (Gutierrez ve ark., 2010; Feroz ve ark., 2009; Venukumar ve Latha 2002; Yehia ve ark., 2013). Karbon tetraklorür hepatositlerdeki, granülsüz endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P₄₅₀ monooksijenaz enzim sistemiyle daha toksik olan triklorometil (CCl₃) ve triklorometil peroksil (CCl₃O₂) serbest radikal ara metabolitlerine dönüşür. Bu metabolitler hücre membranındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatır veya protein-yağlara bağlanarak hücre membranlarını bozmak suretiyle hepatosit yıkımı ve sonuçta karaciğer hasarını oluşturur (Basu, 2003; Gnanaprakash ve ark., 2010; Manibusan ve ark., 2007).

Ratlara sekiz hafta, haftada üç kere (Lv ve ark., 2006), on hafta, haftada bir kere (Lida ve ark., 2009), on iki hafta, haftada iki kere (Tasci ve ark., 2008) uygulanan 0,2 ml/100 g CCl₄'ün, karaciğer dokusunda fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden oluşan

fibröz dokunun özellikle portal bölgeden gelişen gelişerek şiddetli nekroza maruz kalan alanları çevrelediği, yağ dejenerasyonuna uğramış hepatositler ile yangısal hücre infiltrasyonlarının bulunduğu pseudolob oluşumları histopatolojik lezyon olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da karaciğer hasarı oluşturan araştırmacıların bulgularıyla paralel olarak, CCl₄'ün sekiz hafta boyunca 0,2 ml/kg dozunda uygulanmasıyla, ratların karaciğer kesitlerinde özellikle hepatositlerde mikro- ve makro yağ vakuolleri, ortadan şiddetliye değişen yangısal hücre infiltrasyonu ile fibrozis saptanmıştır. Bu çalışmada CCl₄'e bağlı oluşan karaciğer toksikasyonunda gözlenen histopatolojik değişikliklerin yukarıda bahsedilen mekanizmalarla meydana geldiği düşünülebilir (Aranda ve ark., 2010; Basu, 2003; Gnanaprakash ve ark., 2010).

Susam yağı içindeki yağ asidinin ana bileşenleri palmitik asit (% 7-12), stearik asit (% 3,5-6), oleik asit (% 39,9) ve linoleik asittir (% 42,3) (Kamal ve ark., 2000; Khattab ve ark., 1974). Doğal susam yağının içerisinde antioksidan olarak sesamin, tokoferol, sesamolin ve sesaminol bulunmaktadır (Hsu ve Liu, 2004; Kamal ve ark., 2000). Susam yağının içerdiği bu antioksidanlar sayesinde karaciğeri detoksiye ettiği, kimyasal olarak uyarılmış meme tümörlerinin insidansını azalttığı ve oksidatif strese karşı koruduğu ileri

sürülmüştür (Akimoto ve ark., 1993; Abdou ve ark., 2012; Kumar, 2011; Hirose ve ark., 1992).

Susam yağının, karbon tetraklorür toksikasyonu ile oluşturulan karaciğer hasarına iyileştirici etkisinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışmaya rastlanılmıştır ve bu çalışmalar da sırasıyla 7 ve 14 gün uygulama yapılan akut toksikasyon çalışmalarıdır (Cengiz ve ark., 2013; Lv ve ark., 2015). Kronik karaciğer toksikasyonuna karşı susam yağının, iyileştirici yönde etkisi olup olmadığına ilişkin bir çalışmaya literatür taramamızda rastlanmamıştır.

Karbon tetraklorür ile ratlarda oluşturulan karaciğer toksikasyonuna karşı susam yağının farklı dozlarda, farklı uygulama yolları ve sürelerde kullanan Lv ve arkadaşlarının (2015), CCl₄'ün neden olduğu nekrotik hasardan koruduğunu, Cengiz ve arkadaşları (2013) ise, CCl₄ grubunda görülen histopatolojik bulgulardan farklı bir bulgu görmediğini bildirmişlerdir. Karbon tetraklorür haricinde farklı kimyasallar ile oluşturulan karaciğer hasarlarına karşı susam yağı kullanılan diğer çalışmalarda ise; Soliman ve arkadaşları (2015) karaciğer ve böbreklerde oluşan histopatolojik değişikliklerin düzeldiğini; Azab, (2015) çalışmasında kurşun asetat ile oluşturulan hepatotoksisiteye düzelttiğini; Hsu ve arkadaşları (2006) ferrik nitrilo triasetat

(Fe-NTA) verilerek oluşturulan karaciğer hasarını düzelttiğini; Munish ve arkadaşları (2011) parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarını düzelttiğini; Chandrasekaran ve arkadaşları (2008) asetaminofen ile oluşturduğu akut karaciğer hasarını minimal seviyeye indirdiğini ve Periasam ve arkadaşları (2016) ketakonozal ile oluşturdukları karaciğer hasarını hafiflettiğini bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise susam yağının uygulanması ile karaciğer hasarının düzeldiğini bildiren yukarıdaki araştırmacıların (Lv ve ark., 2015) bulgularının aksine; çalışmamızda CCl₄ toksikasyonu ile ilgili oluşan karaciğer lezyonlarının iyileştirilmesi amacıyla susam yağı uygulanmış gruptaki ratların, hepatositlerinde makro ve mikro yağ vakuol oluşumları, hepatositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, lezyon bölgelerinde mononükleer hücre infiltrasyonları, Remark kordonlarının yapısının bozulması ile özellikle portal bölgeler ve vena sentralis periferinden köken alan fibröz doku artışı ile parankimde bazıları tam, bazıları tam olmayan pseudolob oluşumları gözlenmiştir. Bu çalışmada sadece CCl₄ uygulanan II. gruptaki ve hem CCl₄, hem de SY verilen IV. gruptaki hayvanların karaciğerlerinde gözlenen histopatolojik bulgular birebir örtüştüğünden 8 ml/kg/gün SY vermenin karaciğer dokusunda histopatolojik yönden iyileşmeye yönelik hiçbir etkisinin olmadığını göstermiştir. Sunulan çalışmada

oluşturulan karaciğer hasarında susam yağı uygulaması ile histopatolojik düzelme olmayışı Cengiz ve arkadaşları (2013) çalışmasındaki histopatolojik bulgular ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar SY içerisindeki antioksidan bileşenlerin CCl₄'ün toksik metabolitlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldıramadığını düşündürmüştür.

Esas olarak bir hücre ölüm formu olan apoptoz, hücrelerde aktif olmayan proenzimler olarak bulunan kaspaz ailesi sistein proteazlarının aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Eckle ve ark., 2004; Nakagawa ve ark., 2000; Tao ve ark., 2012). Karbon tetraklorür karaciğerde nekrozu tetiklese de, hepatositlerdeki mitokondriyal fosfolipid tabakasını yok eder ve kaspaz 3'e bağlı apoptozu da tetiklemektedir (Domitrović ve ark., 2013; Tao ve ark., 2012). Karaciğerde CCl₄ toksikasyonunda apoptozu belirlemek için kaspaz aktivitesinin araştırıldığı in vitro ve in vitro çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan Domitrović ve arkadaşları (2013), Parajuli ve arkadaşları (2013) ve Xie ve arkadaşları (2015), kaspaz 3 aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda kronik CCl₄ toksikasyonu oluşturulan gruplarında kaspaz 3 aktivitesinin arttığı görülmüştür.

Karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında, susam yağının hepatositler üzerindeki kaspaz aktivitesi etkisine dair herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır.

Yapılan bir çalışmada (Periasam ve ark., 2016) antifungal bir ilaç olan ketokonazol ile uzun süreli tedavide oluşan karaciğer hasarını düzeltmek için SY uygulaması yapılmış ve sonuçta SY'nin oksidatif stresi hafifletme, apoptoz ve hepatik hasara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Adı geçen çalışmada SY'nin ketokonazol ile indüklenen apoptoz üzerindeki rolünü açıklamak için kaspaz 3 ekspresyonu ölçülmüş ve SY uygulanan grupta, sadece ketokonazol verilen gruba göre kaspaz 3 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızla ilgili doğrudan kaspaz 3 aktivite ölçümlü herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Ancak sunulan çalışmada CCl₄ (Grup II) ve CCl₄+Susam yağı (Grup IV) verilen gruplardaki kaspaz 3 ekspresyonu ile ilgili büyük benzerlik tespit edilmiştir. Sonuçta oksidatif stres, apoptoz ve hepatik hasara karşı bulgularımız susam yağının herhangi bir koruma sağlamadığı kanaatine ulaşmamıza neden olmuştur.

Birçok enzimin karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kası gibi dokulara spesifik olarak bulunmasından dolayı kan düzeylerinde tespit edilen artışlar dokulardaki dejenerasyon ve nekrozla seyreden hastalıkların klinik teşhisine kesinlik kazandırmak amacı ile kullanılır. Ratlarda, hepatotoksitede serum ALT, SDH ve GDH aktiviteleri hepatosellüler hasarın en iyi indikatörleridir (Evans, 2009). Sunulan

çalışmada da bazı araştırmacıların (Ahmed ve ark., 2014; Muriel ve ark., 2003; Abdel-Daim ve ark., 2015) bulgularıyla uyumlu olarak ratlara CCl₄'ün kronik uygulanması sonucu, hepatosit yıkımına bağlı hücre membran permeabilitesinin bozulması nedeni ile kan dolaşımına geçen ALT enziminin serum aktivitelerinde anlamlı bir yükseliş olduğu dikkati çekmiştir.

Ratlarda karbon tetraklorürle oluşturulan karaciğer hasarının iyileştirilmesi amacıyla susam yağı verilerek biyokimyasal verilerin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışmaya (Abdel-Daim ve ark., 2015; Azab, 2014; Hsu ve ark., 2006; Munish ve ark., 2011) rastlanmıştır. Bu çalışmalarda CCl₄ ve diğer kimyasal maddelerle oluşturulan karaciğer hasarına karşı susam veya susam yağı verilerek biyokimyasal verilerde oluşan değişiklikler bildirilmiştir. Azab, (2014) susam yağı vererek artmış olan serum ALT, aktivitelerinde önemli düşüşünü; Munish ve arkadaşları (2006) susam vererek yükselmiş total protein, albümin ve toplam bilirubin değerlerinin önemli ölçüde normalleştiğini; Abdel-Daim ve arkadaşları (2015) susam yağı vererek yükselmiş alanin aminotransferaz (ALT), kolesterol ve trigliserit seviyelerinde azalmanın olduğunu; Hsu ve arkadaşları (2006) susam yağı vererek yükselmiş AST ve ALT serum düzeylerinin normale döndüğünü; Chandrasekaran ve arkadaşları (2008) susam yağı vermekle artmış AST ve ALT

düzeylerinin normale döndüğünü bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada; karaciğer hasarı oluşturulup SY (Grup IV) uygulanan hayvanlarda serum ALT aktivitesi yönünden azalma göstermedi. Yine SY (Grup IV) uygulaması serum total protein ve albümin değerlerinde sayısal olarak artışa neden oldu. Karbon tetraklorür uygulaması ile artış gösteren serum total kolesterol düzeyleri SY (Grup IV) uygulamasından etkilenmedi. Karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda serum trigliserit düzeyleri artış gösterirken, SY (Grup VI) uygulamaları, artmış trigliserit düzeylerini sayısal olarak düşürdü. Çalışmalarda (Abdel-Daim ve ark., 2015; Azab, 2014; Hsu ve ark., 2006; Munish ve ark., 2011) bildirilen CCl₄ ve diğer kimyasal maddelerle oluşturulan karaciğer hasarına karşı kullanılan antioksidan özellikli SY'nin biyokimyasal verilerin üzerine iyileştirici etkisi bizim çalışmamızda görülmemiştir.

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit, membran denatürasyonu ve peroksidasyonuna yol açan hidrojen peroksit ve reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasına yol açar (Niki ve ark., 2005). Kronik CCl₄ uygulamasıyla oluşturulan karaciğer hasarında araştırmacılar karaciğer MDA düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir (Yehia ve ark., 2013). Aynı şekilde sunulan çalışmada da kronik olarak CCl₄ verilen ratlarda belirlenen karaciğer MDA düzeylerindeki artışlar, CCl₄'ün karaciğer

endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P₄₅₀ monooksijenaz enzimi aracılığıyla toksik karakterde triklorometil (CCl₃) ve triklorometilperoksil (CCl₃O₂) serbest radikallerine dönüşmesiyle oluşan lipid peroksidasyonunun sonucu şekillenen doku hasarı ve antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliğinden ileri gelebilmektedir (Gnanaprakash ve ark., 2010; Manibusan ve ark., 2007). Hsu ve arkadaşları (2006) çalışmasında (Fe-NTA) verilerek oluşturulan akut demir zehirlenmesinde susam yağı uygulamasıyla MDA düzeylerini kontrol gruplarına yaklaştırdığını bildirilmişlerdir. Sunulan çalışmada CCl₄'lü gruplara susam yağı ilavesinin (Grup IV) yüksek olan MDA düzeyi üzerinde etki göstermediği tespit edilmiştir.

Çeşitli kimyasal maddeler ile karaciğer toksikasyonuna karşı susam yağı kullanılan ve total oksidan kapasitesini (TAK) belirleyen çalışmalara literatür taramalarında rastlanılamamıştır. Bizim çalışmamızda total antioksidan kapasitesi yönünden gruplar arasında fark saptanamamıştır.

Sonuç olarak; CCl₄ ile karaciğerde oluşturulan hasarla ilgili kullanılan 8 ml/kg susam yağının, hem histopatolojik değişiklikler hem de biyokimyasal parametreler üzerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir. Muhtemelen CCl₄'ün uzun süre kullanımına bağlı olarak karaciğerde

geri dönüşümsüz bir hasarın gelişmesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür; bu nedenle SY'nın herhangi bir yan etki oluşturmaksızın en iyi sonucu verecek uygulama süresi ve dozlarının belirlenmesine yönelik yeni araştırmalar yapılmasına ihtiyaç olduğu kanaatine bu çalışma sonuçları ile varılmıştır.

Çıkar Çatışması Bildirimi; Makalede isimleri listelenen yazarların makalede sunulan veriler ve/veya makalenin konusu ile ilgili olarak herhangi bir kişi ya da kuruluş ile çıkar ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

- Abdel-Daim MM, Taha R, Ghazy EW, El-Sayed YS. (2015)** Synergistic ameliorative effects of sesame oil and alpha-lipoic acid against subacute diazinon toxicity in rats: hematological, biochemical, and antioxidant studies. *Can J Physiol Pharm*; 94(1): 81-8.
- Abdou HM, Hussien HM, Yousef MI. (2012)** Deleterious effects of cypermethrin on rat liver and kidney: protective role of sesame oil. *J Environ Sci Heal B*; 47(4): 306-14.
- Ahmed SK, Mohammed SA, Khalaf G, Fikry H. (2014)** Role of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of CCl₄ induced liver fibrosis in albino rats: a histological and immunohistochemical study. *Int J Stem Cells*; 7(2): 87-97.
- Akimoto K, Kitagawa Y, Akamatsu T, Hirose N, Sugano M, Shimizu S, Yamada H. (1993)** Protective effects of sesamin against liver damage caused by alcohol or carbon tetrachloride in rodents. *Ann Nutr Metab*; 37(4): 218-24.
- Aranda M, Albendea CD, Lostalé F, López-Pingarrón L, Fuentes-Broto L, Martínez-Ballarín E, Garcia JJ. (2010)** In vivo hepatic oxidative stress because of carbon

- tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline. *J Pineal Res*; 49(1): 78-85.
- Atasever A, Yaman D. (2014)** The effects of grape seed and colchicine on carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *Exp Toxicol Pathol*; 66(8): 361-5.
- Azab EA. (2014)** Hepatoprotective effect of sesame oil against lead induced liver damage in albino mice: Histological and biochemical studies. *Amer J BioSci*; 2(6-2): 1-11.
- Balderas Renteria I, Camacho Corona M, Carranzo Rozales P. (2007)** Hepatoprotective effect of *Leucophyllum frutescens* on Wistar albino rats intoxicated with carbon tetrachloride. *Ann Hepatol*; 6(4): 251-4.
- Basu S. (2003)** Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: Eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*; 189(1-2): 113-27.
- Cengiz N, Kavak S, Güzel A, Özbek H, Bektaş H, Him A, Balahoroğlu R. (2013)** Investigation of the hepatoprotective effects of Sesame (*Sesamum indicum L.*) in carbon tetrachloride-induced liver toxicity. *J Membrane Biol*; 246(1):1-6.
- Chandrasekaran VRM, Wan CH, Liu LL, Hsu DZ, Liu MY. (2008)** Effect of sesame oil against acetaminophen-induced acute oxidative hepatic damage in rats. *Shock*; 30(2): 217-21.
- Crawford JM. (2003)** Karaciğer ve safra yolları. In: Robbins Temel Patoloji (7. Baskı). Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, editör(ler). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, pp 591-630.
- Domitrović R, Škoda M, Marchesi VV, Cvijanović O, Pugel EP, Štefan MB. (2013)** Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Food Chem Toxicol*; 51: 370-78.
- Eckle VS, Buchmann A, Bursch W, Schulte-Hermann R, Schwarz M. (2004)** Immunohistochemical detection of activated caspases in apoptotic hepatocytes in rat liver. *Toxicol Pathol*; 32(1): 9-15.
- Evans GO. (2009)** Animal Clinical Biochemistry. 2nd ed. USA: Taylor & Francis Group.
- Feroz Khan Z, Asdaq SMB, Prasanna Kumar SR. (2009)** Effects of few Indian medicinal herbs on carbon tetrachloride induced hepatic injury in animals. *Int J Pharm Tech Res*; 1(3): 579-87.
- Gnanaprakash K, Madhusudhana Chetty C, Ramkanth S, Alagusundaram M, Tiruvengadarajan Vs, Angala Parameswari S, Mohamed Saleem Ts. (2010)** Aqueous extract of *Flacourtia indica* prevents carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rat. *Int J Biol Sci*; 4(1): 51-5.
- Gutiérrez R, Alvarado JL, Presno M, Pérez Veyna O, Serrano CJ, Yahuaca P. (2010)** Oxidative stress modulation by *Rosmarinus officinalis* in CCl₄-induced liver cirrhosis. *Phytother Res*; 24(4): 595-601.
- Hirose N, Doi F, Ueki T, Akazawa K, Chijiwa K, Sugano M, Yamada H. (1992)** Suppressive effect of sesamin against 7, 12-dimethylbenz [a]-anthracene induced rat mammary carcinogenesis. *Anticancer Res*; 12(4): 1259-65.
- Hsu DZ, Chen KT, Chien SP, Li YH, Huang BM, Chuang YC, Liu MY. (2006)** Sesame oil attenuates acute iron-induced lipid peroxidation-associated hepatic damage in mice. *Shock*; 26(6): 625-30.
- Hsu DZ, Liu MY. (2004)** Sesame oil protects against lipopolysaccharide-stimulated oxidative stress in rats. *Crit Care Med*; 32(1): 227-31.
- İlhan N, Seçkin D. (2005)** Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCl₄-induced hepatotoxicity. *FÜ Sağ Bil Tıp Derg*; 19(3): 175-9.
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik AM. (2000)** Biyokimya. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti, Ankara.
- Kamal Eldin A, Frank J, Razdan A, Tengblad S, Basu S, Vessby B. (2000)** Effects of dietary phenolic compounds on tocopherol, cholesterol, and fatty acids in rats. *Lipids*; 35(4): 427-35.

- Khattab AH, El Tinay AH, Khalifa HA, Mirghani S. (1974)** Stability of peroxidised oils and fat to high temperature heating. *J Sci Food Agric*; 25(6): 689-96.
- Khorshid HR, Azonov JA, Novitsky YA, Farzamfar B, Shahhosseiny MH. (2008)** Hepatoprotective effects of setarud against carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Indian J Gastroenterol*; 27(3): 110-2.
- Kumar M. (2011)** Hepatoprotective activity of *Sesamum Indicum Linn.* against CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Int J Pharm Biol Arch*; 2(2): 710-5.
- Lida C, Fujii K, Koga E, Washino Y, Kitamura Y, Ichi I, Kojo S. (2009)** Effect of alpha-tocopherol on carbon tetrachloride intoxication in the rat liver. *Arch Toxicol*; 83(5): 477-83.
- Lv D, Zhu CQ, Liu L. (2015)** Sesamin ameliorates oxidative liver injury induced by carbon tetrachloride in rat. *Int J Clin Exp Pathol*; 8(5): 5733-8.
- Lv P, Luo HS, Zhou XP, Paul SC, Xiao YJ, Si XM, Liu SQ. (2006)** Thalidomide prevents rat liver cirrhosis via inhibition of oxidative stress. *Pathol Res Pract*; 202(11): 777-88.
- Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. (2007)** Postulated carbon tetrachloride mode of action: A review. *J Environ Sci Heal C*; 25(3): 185-209.
- Munish K, Sisodia SS, Anjoo K, Vaibhav R. (2011)** Evaluation of hepatoprotective effect of *Sesamum indicum Linn.* seed extract against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharm Clin Res*; 3(3): 66-9.
- Muriel P, Escobar Y. (2003)** Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *J Appl Toxicol*; 23(2): 103-8.
- Muriel P, Mourelle M. (1990)** Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCl₄ liver damage. *J Appl Toxicol*; 10(4): 275-9.
- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. (2000)** Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature*; 403(6765): 98-103.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. (2005)** Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun*; 338(1): 668-76.
- Parajuli DR, Park EJ, Che XH, Jiang WY, Kim YC, Sohn D, Lee SH. (2013)** PF2401-SF, standardized fraction of *Salvia miltiorrhiza*, induces apoptosis of activated hepatic stellate cells in vitro and in vivo. *Molecules*; 18(2): 2122-34.
- Periasam S, Liu CT, Chien SP, Chen YC, Liu MY. (2016)** Daily sesame oil supplementation mitigates ketoconazole-induced oxidative stress-mediated apoptosis and hepatic injury. *J Nutr Biochem*; 37: 67-75.
- Recknagel RO, Glende EA Jr, Dolak JA, Waller RL. (1989)** Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Therapeut*; 43(1): 139-54.
- Soliman MM, Attia HF, El-Ella GAA. (2015)** Genetic and histopathological alterations induced by cypermethrin in rat kidney and liver: protection by sesame oil. *Int J Immunopath Pharmacol*; 28(4): 508-20.
- Tao LL, Cheng YY, Ding D, Mei S, Xu JW, Yu J, Xu ZD. (2012)** C/EBP- α ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis in mice through promoting apoptosis of hepatic stellate cells with little apoptotic effect on hepatocytes in vitro and in vivo. *Apoptosis*; 17(5): 492-502.
- Tasci I, Mas N, Mas MR, Tuncer M, Comert B. (2008)** Ultrastructural changes in hepatocytes after taurine treatment in CCl₄ induced liver injury. *World J Gastroenterol*; 14(31): 4897-902.
- Venukumar MR, Latha MS. (2002)** Hepatoprotective effect of the methanolic extract *Curculigo orchoides* in CCl₄ treated male rats. *Indian J Pharmacol*; 34(2): 269-75.
- Xie J, Liu J, Chen TM. (2015)** Dihydromyricetin alleviates carbon tetrachloride-induced acute liver

injury via JNK-dependent mechanism in mice. *World J Gastroenterol*; 21(18): 5473-81.

Yehia HM, Al Olayan EM, Elkhadragy MF. (2013) Hepatoprotective role of the pomegranate (*Punica granatum*) juice on carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Life Sci J*; 10(4): 1534-44.

Zuinen R, Yamaji K, Aoki M, Chikuma T, Hojo H. (2007) Early induced, high-level interleukin-6 expression in the rat peritoneal cavity into which a hepatotoxicant carbon tetrachloride was administered. *Toxicol Lett*; 170(1): 42-8.