



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOR İÇEREN BİLEŞİK İLE MUAMELE EDİLMİŞ ADİPOZ KÖKENLİ
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN KARBON TETRAKLORÜR İLE
İNDÜKLENMİŞ SIÇAN KARACİĞER FİBROZİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

FERYAL KÜBRA ALKURT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ

Gaziantep

2025



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOR İÇEREN BİLEŞİK İLE MUAMELE EDİLMİŞ ADİPOZ KÖKENLİ
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN KARBON TETRAKLORÜR İLE
İNDÜKLENMİŞ SIÇAN KARACİĞER FİBROZİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

FERYAL KÜBRA ALKURT
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ

Gaziantep

2025

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BOR İÇEREN BİLEŞİK İLE MUAMELE EDİLMİŞ ADİPOZ KÖKENLİ
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN KARBON TETRAKLORÜR İLE
İNDÜKLENMİŞ SIÇAN KARACİĞER FİBROZİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

FERYAL KÜBRA ALKURT

Tez Savunma Tarihi: 24.10.2025

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Davut Sinan KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans / Doktora” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Doç Dr. Nuray BOSTANCIERİ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans / Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans / Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ

Doç. Dr. Esra ASLAN

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

24.10.2025

Feryal Kübra ALKURT



TEŞEKKÜR

Gaziantep Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gördüğüm yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, konu seçiminden, araştırmanın yürütülmesi, değerlendirilmesi dahil tüm süreçte bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gülüne ERDEM KOÇ'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emek veren hocalarım Gaziantep Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Serap S. İNALÖZ'e, Sayın Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ'ye, Sayın Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ'ye, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Büşra ŞEN HALICIOĞLU'na, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hülya ÖZTATLICI'ya, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme ve kıymetli arkadaşlarıma tüm kalbimle teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu proje Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (BAPYB) tarafından (BAP No: TF.YLT.25.25) desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR VE SEMBOLLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
RESİMLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Karaciğer.....	5
2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi.....	5
2.1.2. Karaciğerin Anatomisi.....	6
2.1.3. Karaciğerin Histolojisi.....	7
2.2 Fibrozis.....	10
2.2.1 Karaciğer Fibrozisi.....	10
2.3 Karbon Tetraklorür.....	11
2.4. Kök Hücre.....	12
2.4.1 Kök Hücre Çeşitleri.....	13
2.5. Mezenkimal Kök Hücre.....	15
2.5.1. Mezenkimal Kök Hücrenin Karaciğer Hasarı Onarımı.....	17
2.5.2. Adipoz Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler.....	17
2.6 Bor.....	18
2.6.1. Sodyum pentaborat-pentahidrat.....	19
2.7 Kurkumin.....	20
2.8 Piperin.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Deney Hayvanları.....	23
3.2. Grupların Oluşturulması.....	24
3.3. Hücre Kültürü.....	26
3.3.1. Hücre Çözme.....	26

3.3.2. Hücre Hatları ve Kültür Koşulları.....	26
3.3.3. Hücre Çoğaltılması.....	27
3.3.4. Hücrelerin Dondurulması.....	27
3.3.5. MTS Testi.....	28
3.3.6. Kök Hücrelerin İntraperitoneal Yolla Verilmesi.....	29
3.4. Gruplara Enjeksiyon Uygulanması.....	29
3.5. Sakrifikasyon ve Karaciğer Dokusunun Alınması.....	31
3.6. Kan Santrifüjü.....	32
3.7. Doku Takibi.....	32
3.8. Bloklama-Parafine Gömme.....	33
3.9. Kesit Alma.....	34
3.10. Hematoksilen-Eozin Boyama.....	34
3.11. Picro Sirius Kırmızısı Boyama.....	35
3.12. ALT-AST Analizi.....	37
3.13. İstatistiksel Analiz.....	37
3.14. METAVIR Skorlama.....	37
4. BULGULAR.....	39
4.1. Adipoz Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler.....	39
4.2. ALT-AST Analizi.....	41
4.3. Sham Grubu Morfolojik Görüntüleri Değerlendirme.....	43
4.4. CCl ₄ Grubu Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	44
4.5. Sham+CCl ₄ Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	46
4.6. CCl ₄ +AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	48
4.7. Sham+AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	50
4.8. CCl ₄ +NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	52
4.9. Sham+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	53
4.10. AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	55
4.11. Sham+CCl ₄ +AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında	

Morfolojik Olarak Değerlendirme.....	57
4.12. METAVIR Skorlama.....	60
5. TARTIşMA VE SONUÇ	61
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİş.....	71
EK 1: ETİK KURUL KARARI.....	72



KISALTMALAR VE SEMBOLLER

AK-MKH	Adipoz kökenli mezenkimal kök hücre
CCl ₄	Karbontetraklorür
Cur	Kurkumin
NaB	Sodyum pentaborat-pentahidrat
Pip	Piperin



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kurkumin, piperin, NaB veya kurkumin, piperin ve NaB kombinasyonunun AKMKH hücre hattının proliferasyonu üzerindeki etkisi.....	40
Şekil 2. ALT Konsantrasyon İstatistiği.....	41
Şekil 3. AST Konsantrasyon İstatistiği.....	42



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Karaciğerin kökeni	5
Resim 2. Karaciğerin embriyolojisi	6
Resim 3. Karaciğerin anatomisi	7
Resim 4. Karaciğerdeki hücre tipleri	8
Resim 5. Hepatik lobül	10
Resim 6. Karaciğer fibrozisinin mekanizması	11
Resim 7. Karbon tetraklorür kimyasal yapısı	12
Resim 8. Farklılaşabilme kapasitelerine göre kök hücreler	13
Resim 9. Embriyonik kök hücreler	14
Resim 10. Mezenkimal kök hücrelerin kaynakları	15
Resim 11. Bor atomik yapısı	18
Resim 12. Bor rezervleri	19
Resim 13. <i>Curcuma longa</i> L.	20
Resim 14. Kurkumin	21
Resim 15. Piperin	22
Resim 16. Sham Kontrol Grubu	24
Resim 17. Karbontetraklorür Grubu	24
Resim 18. Karbontetraklorür + Mezenkimal Kök Hücre Grubu	25
Resim 19. Karbontetraklorür + Sodyum pentaborat-pentahidrat + Kurkumin + Piperin + Mezenkimal Kök Hücre Grubu	25
Resim 20. Hücre kültürü yapılması	27
Resim 21. MTS Deneyi yapılması	29
Resim 22. Doku takibi	33
Resim 23. METAVIR Skoru	38
Resim 24. Sham Grubu Morfolojik Değerlendirme	43
Resim 25. CCl ₄ Grubu Morfolojik Değerlendirme	44
Resim 26. CCl ₄ grubunda safra kanalı proliferasyonu	45
Resim 27. Sham+CCl ₄ Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	46
Resim 28. CCl ₄ +AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	48
Resim 29. Sham+AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	50
Resim 30. CCl ₄ +NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	52

Resim 31. Sham+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	54
Resim 32. AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	56
Resim 33. Sham+CCl ₄ +AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	58
Resim 34. Sham+CCl ₄ +AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme	59
Resim 35. METAVIR Skorlama tablosu	60



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Grupların Oluşturulması	26
Tablo 2. Gruplara Enjeksiyon Uygulamaları	31
Tablo 3. Doku takibi	33
Tablo 4. Hematoksilen-Eozin Boyama	35
Tablo 5. Picro Sirius Kırmızısı boyama.....	36



ÖZET

BOR İÇEREN BİLEŞİK İLE MUAMELE EDİLMİŞ ADİPOZ KÖKENLİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİNİN KARBON TETRAKLORÜR İLE İNDÜKLENMİŞ SIÇAN KARACİĞER FİBROZİSİ ÜZERİNE ETKİSİ

Feryal Kübra ALKURT
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ
2025, 72 Sayfa

Karaciğer fibrozisi dünya üzerinde her yıl 2 milyondan fazla kişinin hayatını kaybetmesine sebep olan bir hastalıktır. Karaciğer fibrozisinin asıl nedeni, ekstraselüler matriksin aşırı birikmesiyle karaciğer üzerinde gelişen kronik hasar ve inflamasyondur. Bu fonksiyon bozulmalarının sonucunda karaciğer fibrozisi meydana gelmektedir. Mezenkimal kök hücreler, henüz farklılaşmamış hücreler olup ihtiyaç halinde gereken hücre tipine farklılaşabilme özelliğine sahiptir. Farklılaşma özelliğine ek olarak, kendini yenileme ve immünomodülatör özellikleri de vardır. Mezenkimal kök hücrelerin eldesi kemik iliği, adiposit, diş pulpası, göbek kordonu farklı yerlerden yapılabilir. Bu çalışmada, adiposit kaynaklı mezenkimal kök hücreler kullanılacaktır. Yapılan çalışmalarda, mezenkimal kök hücrelerin karaciğerde hepatosit hücrelerine dönüşerek karaciğer fibrozisi olan dokuya olan iyileştirici etkisi kanıtlanmıştır. Bor ticari öneme sahip olan bir mineraldir. Yapılan çalışmalar baz alarak mezenkimal kök hücrelere sodyum pentaborat-pentahidrat+kurkumin+piperin ile muamele ederek karaciğer fibrozisine olan etkisine bakılmıştır. Kurkumin, zerdeçal bitkisinin ana hidrofobik polifenolüdür. Piperin, siyah ve uzun biberlerden izole edilen önemli bir alkaloidtir. Kurkuminin, metabolik parçalanma oranını azaltarak zayıf biyoyararlanımını iyileştirdiği bilinmektedir. Bu çalışmalardan yola çıkılarak, adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücrelere NaB+Cur+Pip üçlüsü kök hücrelere uygulanarak CCl4 ile indüklenmiş sıçan karaciğer fibrozisi üzerine olan etkisine bakılmıştır. Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler (AKMKH), karaciğer fibrozisini geriletmiştir. NaB-Cur-Pip-AKMKH, AKMKH'lerle aynı oranda karaciğer fibrozisini geriletmiştir.

Anahtar Sözcükler: Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre, karaciğer fibrozisi, karbontetarklorür, sodyum pentaborat-pentahidrat

ABSTRACT

EFFECT OF BORON-CONTAINING COMPOUND-TREATED ADIPOSE- DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS ON CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED RAT LIVER FIBROSIS

Feryal Kübra ALKURT

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ

2025, 72 Pages

Liver fibrosis is a disease that kills more than 2 million people worldwide each year. The primary cause of liver fibrosis is chronic damage and inflammation in the liver caused by excessive accumulation of extracellular matrix. Liver fibrosis occurs as a result of these dysfunctions. Mesenchymal stem cells are undifferentiated cells that have the ability to differentiate into the required cell type when needed. In addition to their differentiation, they also possess self-renewal and immunomodulatory properties. Mesenchymal stem cells can be obtained from various sources, including bone marrow, adipocytes, dental pulp, and umbilical cord blood. This study will utilize adipocyte-derived mesenchymal stem cells. Studies have demonstrated the healing effect of mesenchymal stem cells on liver fibrosis by differentiating into hepatocytes in the liver. Boron is a commercially important mineral. Based on these studies, the effects of treating mesenchymal stem cells with sodium pentaborate-pentahydrate, curcumin, and piperine on liver fibrosis were investigated. Curcumin is the main hydrophobic polyphenol of the turmeric plant. Piperine is a major alkaloid isolated from black and long peppers. Curcumin is known to improve poor bioavailability by reducing its metabolic degradation rate. Based on these studies, the NaB+Cur+Pip trio was applied to adipose-derived mesenchymal stem cells to investigate its effect on CCl₄-induced rat liver fibrosis. Adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs) reduced liver fibrosis. NaB-Cur-Pip-ADMSCs reduced liver fibrosis to the same extent as ADMSCs.

Key words: Adipose-derived mesenchymal stem cell, carbon tetrachloride, liver fibrosis, sodium pentaborate-pentahydrate

1. GİRİŞ

Fibrozis, dokularda bulunan bağ dokusunda meydana gelen bir olaydır. Bağ dokusundaki hücreleri saran bir ağ yapısı olan ekstraselüler matriksi oluşturan yapılardan biri olan kollajen liflerinin ve bağ dokusu elemanlarından biri olan fibroblastların kontrolsüz bir şekilde çoğalarak geliştirdiği inflamasyona ve yapı bozunmalarına fibrozis denmektedir. Her yıl 2 milyon kişi karaciğer fibrozisi hastalığı sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Karaciğer fibrozisi, karaciğerde bulunan bağ dokusunda kollajenin ve fibroblastların olması gerekenden daha fazla sentezlenerek oluşmaktadır. Ekstraselüler matriksin fazla birikimi, inflamasyon ve karaciğerin normal fonksiyonlarının bozulması ile sonuçlanır. Karaciğer fibrozisi, kronik alkol kullanımı, hepatit C, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi nedenler oluşmaktadır. Karaciğer fibrozisi, ilerleyen evrelerde siroz ve hepatosellüler karsinomla sonuçlanmaktadır. Bu çalışmada, adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücrelere bir bor bileşiği olan sodyum pentaborat-pentahidrat (NaB), kurkumin (Cur) ve piperin (Pip) ile muamele edilerek, karaciğer fibrozisi hastalığı üzerine etkileri araştırılacaktır. Mezenkimal kök hücreler, henüz farklılaşmamış, ihtiyaç halinde gereken hücrelere dönüşebilecek olan hücre çeşididir. Mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma haricinde, immünomodülasyon, hasarlı doku tamiri gibi özellikleri de bulunmaktadır. Bu özellikleri sebebiyle deneysel çalışmalarda sık bir şekilde kullanılmaktadır. Karaciğer fibrozisi hastalığında araştırıldığında, hastalığı hafifletmeye yönelik etkileri gözlemlenmiştir. Fakat henüz bir tedavi geliştirilememiştir. Bor, doğal yollarla oluşan eser bir elementtir. Birçok tür için yaşamın kökeni ve gelişiminde rol alan prebiyotik olarak sınıflandırılmaktadır. Borun özellikleri arasında, anti-bakteriyel, anti-inflamatuvar ve yara iyileştirici etkisi bulunmaktadır. Bor bileşiklerinden biri olan sodyum pentaborat-pentahidratın mezenkimal kök hücrelerin, etkisini arttırdığı ve mezenkimal kök hücrelerin dondurulup çözündürüldüğünde etkisinde bir değişimin olmadığını bir başka çalışma kanıtlamıştır. Hepatosellüler karsinom hücreleri üzerinde, sodyum pentaborat-pentahidrat, kurkumin, piperinin sinerjik etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Kurkumin (Cur), zerdeçal bitkisinin ana hidrofobik polifenolüdür. Kurkuminin birçok kanser türünde anti-proliferatif, apoptotik, antioksidatif, anti-inflamatuvar, antioksidan gibi özellikleri bulunmaktadır. Piperin (Pip), siyah ve uzun biberlerden izole edilen önemli bir alkaloidtir. Kurkuminin, metabolik parçalanma oranını azaltarak zayıf olan biyoyararlanımını iyileştirdiği bilinmektedir. Bu sebeple kurkumin ve piperin birlikte

kullanılmaktadır. Sodyum pentaborat-pentahidrat, kurkumin ve piperin tek başlarına verildiğinde hepatosellüler karsinom hücrelerinde meydana gelen değişikliğe bakılarak, sinerjik olarak üçünün birlikte verildiği hepatosellüler karsinom hücrelerinde etkinin daha fazla olduğu görölmüştür. Bu çalışmadan yola çıkılarak, sodyum pentaborat-pentahidrat, kurkumin, piperin üçlüsü ile adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücrelere muamele edilecektir. Sodyum pentaborat-pentahidrat, kurkumin, piperin ile muamele edilmiş adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler, deney hayvanlarına enjekte edilecek ve karaciğer fibrozisi hastalığı üzerinde etkisine bakılacaktır.

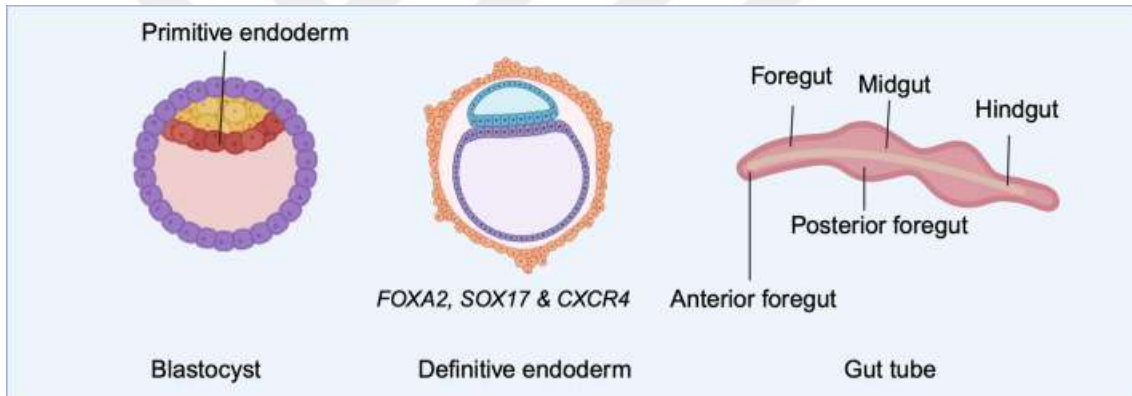


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

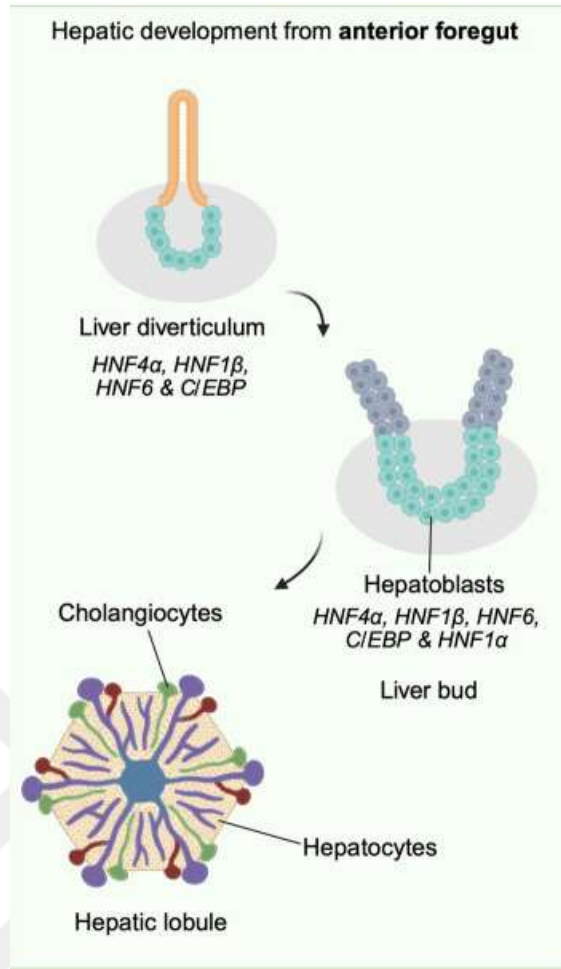
2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi

Erken embriyogenez sırasında, karaciğer endoderm tabakasından oluşmaya başlar. Gastrulasyon sürecinde, blastula içindeki hücresel hareketler endodermin oluşmasına sebep olmaktadır (Resim 1.). Gelişim devam ettikçe, hedeflenen sinyal yolları endodermin çeşitli progenitör hücrelere farklılaşmasını yönlendirir ve bu hücreler de sonunda karaciğer, bağırsak, akciğerler ve pankreas gibi organların oluşumuna yol açmaktadır. Karaciğer için bu farklılaşma fibroblast büyüme faktörü (FGF), kemik morfogenetik proteini (BMP), NOTCH, Hedgehod, Wnt ve dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) yolları da dahil olmak üzere bir dizi sinyal yolu tarafından düzenlenmektedir.



Resim 1. Karaciğerin kökeni

Karaciğer gelişiminin ilk belirtisi, hepatik tomurcuklar olarak bilinen endoderm içindeki ayrı bir bölge olarak ortaya çıkar. Bu bölge, hücreler çoğaldıkça ve sonunda olgun organı oluşturacak olan özelleşmiş progenitör hücrelere farklılaştıkça önemli morfogenetik değişikliklere uğrar. Karaciğerde, hepatik progenitörler insan embriyonik gelişiminin yaklaşık 16. günü ön bağırsak endoderminden ortaya çıkar. Karaciğer tomurcuğu hızla genişler ve hücreleri hepatositlere ve kolanjiyositlere farklılaşır. Bu hücreler de, karaciğer parankimi ve safra kanallarını oluşturur (Resim 2.) (1).

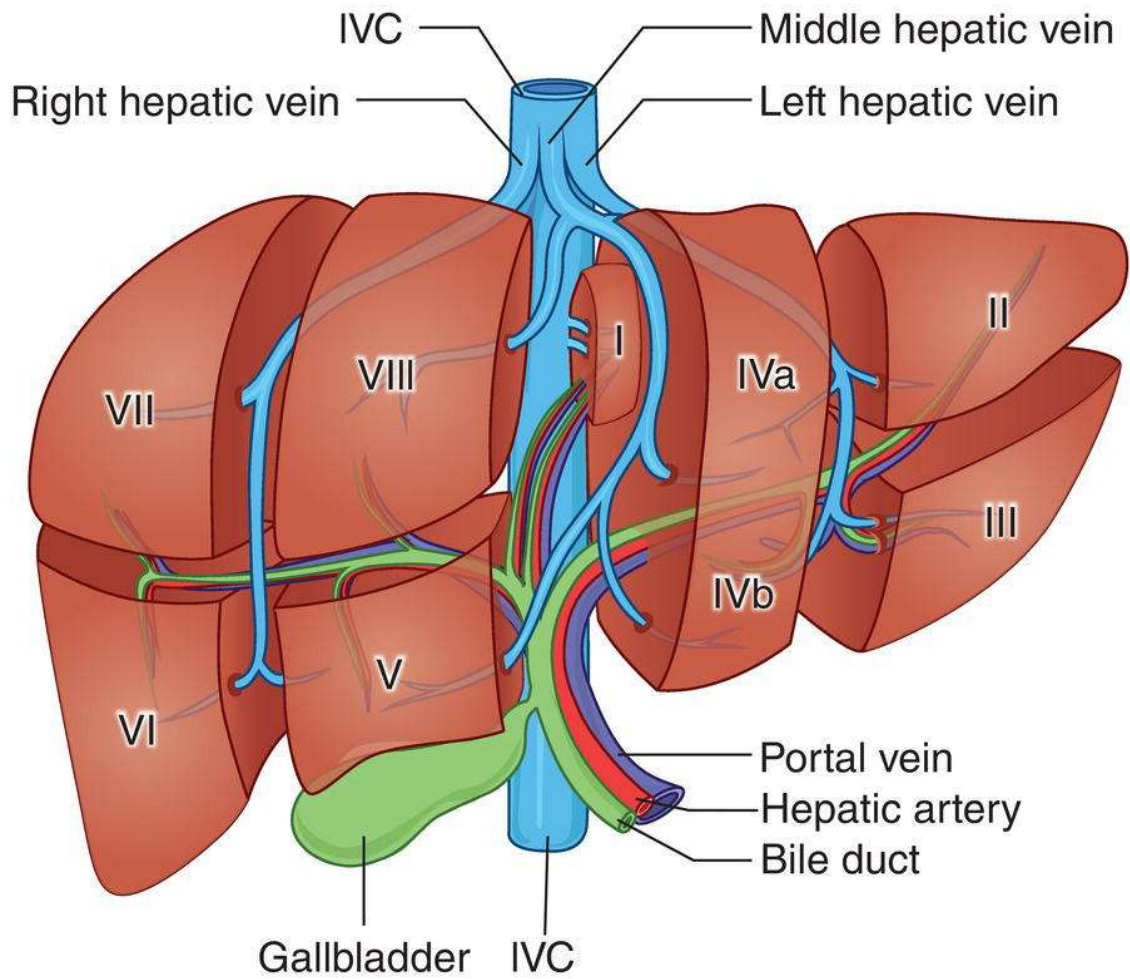


Resim 2. Karaciğer embriyolojisi

2.1.2. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer, abdomen üst kadranda, diyaframın hemen altında bulunan ve sol tarafında mide ile sınırlandırılan, insan vücudundaki en büyük organdır (GEK). Karaciğer, anatomik olarak sağ ve sol olarak 2 hemiliver, 4 loba (sağ lob, sol lob, kaudat lob ve kuadrat lob) ve 8 segmente (I-VIII) ayrılmıştır (2). Couinaud sınıflandırma modeline göre karaciğer, işlevsel olarak 8 segmente ayrılmaktadır. Karaciğere kan girişi portal ven ve hepatik arter dallarından gelirken, hepatik venler çıkış görevi görür. Her karaciğer segmentinin, portan ven dalı, hepatik arter ve safra kanalından oluşan portal triadı ve hepatik venlerden bağımsız bir çıkış yolu vardır (Resim 3.). Kaudat lob (segment I), her iki lobdan da kan alır ve doğrudan inferior vena kavaya boşalır. Orta hepatik veni içeren hayali bir Cantlie çizgisi, inferior vena kavadan arkada, safra kesesi fossasından geçerek karaciğeri sol ve sağ hemiliverlere ayırır. Sol hemiliver II, III ve IV segmentlerinden oluşurken, sağ hemiliver V, VI, VII ve VIII'den oluşur. Sol hemiliver, sol hepatik ven (LHV) tarafından tekrar sol lateral (segment II ve III) ve sol medial (segment IV) sektöre

ayrılırken, sağ hemiliver sağ hepatik ven (RHV) tarafından sağ anterior (segment V ve VIII) ve sağ posterior sektöre (segment VI ve VII) ayrılır (2).



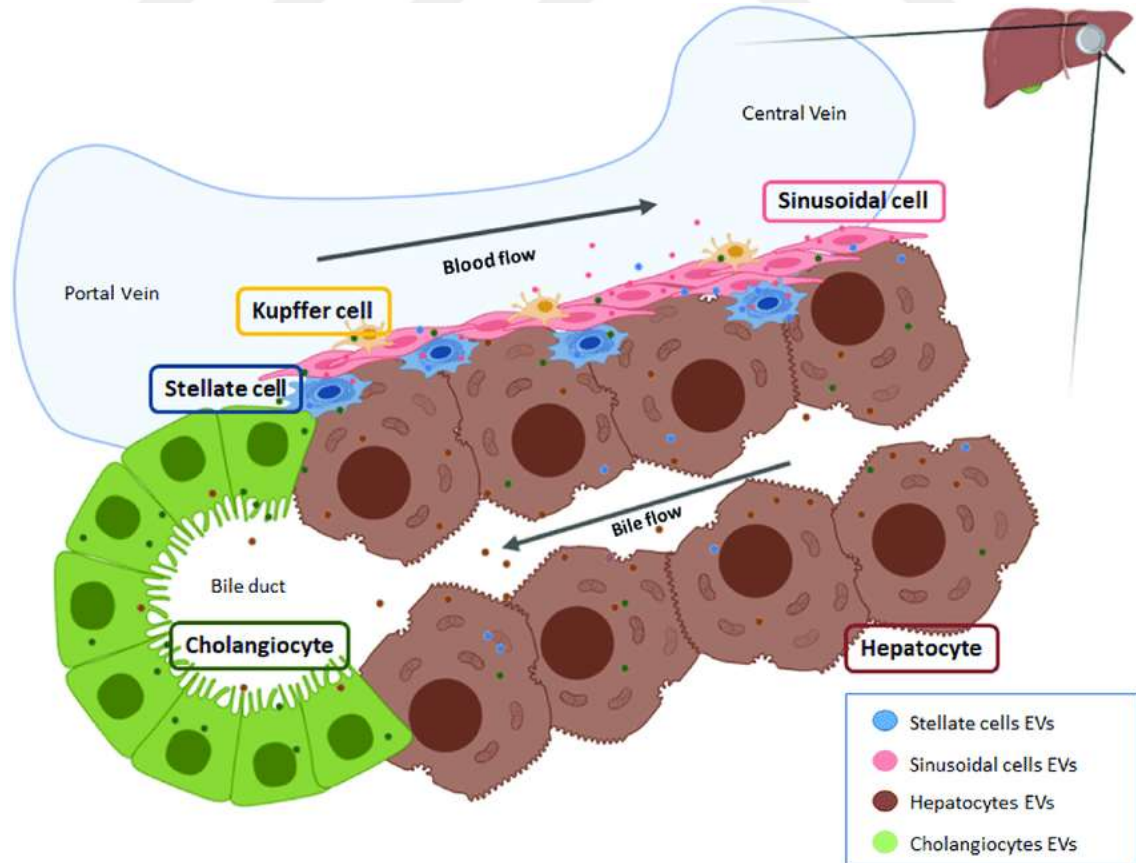
Resim 3. Karaciğerin anatomisi

2.1.3. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğerin, metabolizma, glikojen depolanması, safra asidi salgılanması, ilaç detoksifikasyonu, plazma proteini üretimi gibi birden fazla görevi bulunmaktadır. Karaciğerin histolojik yapısında, parankimal hücreler ve non-parankimal hücreler olmak üzere iki farklı tip hücre bulunmaktadır. Parankimal hücreleri, büyük oranda hepatositler ve hepatositlere nazaran daha az bulunan kolanjiyositler oluşturmaktadır. Non-parankimal hücreleri ise hepatik sinüzoidal endotel hücreler, Kupffer hücreleri, hepatik stellat hücreler, Pit hücreleri ve mezoteliyal hücreler oluşturmaktadır. Hepatositler, karaciğerin metabolik olaylarının ve salgı işlevlerinin meydana getirilmesini sağlayan temel hücreleridir. Kolanjiyositler ise safra kanallarının duvarlarını döşeyen ve

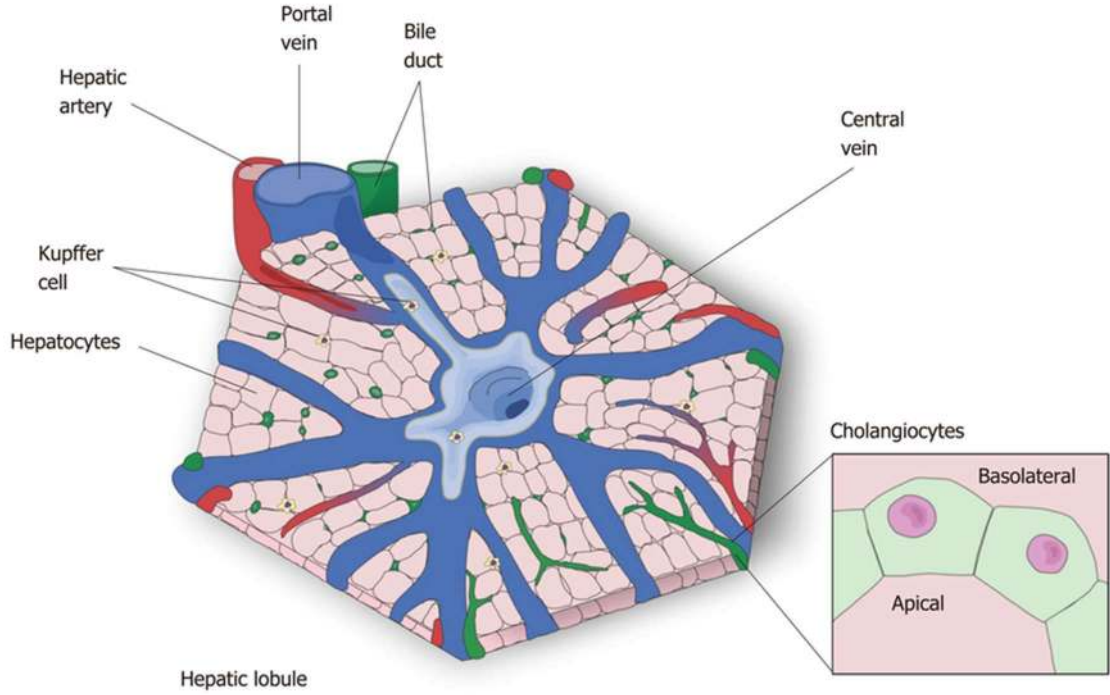
karaciğerde bulunan temel epitel hücreleridir. Non-parankimal hücreler ise hepatositlerin işlevlerini yerine getirebilmesi için hücre-hücre etkileşiminin meydana gelmesini sağlayan hücrelerdir. Karaciğer, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer organ ve dokularla yakından ilişkilidir. Sindirim sistemi kanalında vücuda alınmış olan büyük moleküller halindeki besinler sindirilir ve glikoz, yağ asitleri ve aminoasitler olarak monomere parçalanırlar ve daha sonrasında kan dolaşımına katılırlar. Portal ven yardımıyla da karaciğere ulaşması sağlanır. Karaciğerin bir diğer önemli işlevi ise kanda bulunan glikoz seviyelerini düzenlemektir. Kan-glikoz seviyesi düşmeye başladığı noktada, daha önceden depo edilmiş olan glikojenin depolimerizasyonu aktive olur ve depolimerizasyon sonrasında oluşan glikoz monomerlerini kana taşır. Kanda aşırı glikoz birikimi meydana geldiğinde ise karaciğer hızla bu fazla olan glikozun polimerizasyonu başlar ve bu glikozları glikojene dönüştürerek depolamayı sağlar. Karaciğerin bir diğer görevi ise detoksifikasyondur. Atıkların ve toksik maddelerin metabolik olarak dönüşümünden ve safra yoluyla vücuttan uzaklaştırılmasından sorumludur.

Karaciğerde birçok farklı tipe sahip hücre bulunmaktadır. Bunlar, karaciğer epitel hücreleri, sinüzoidal endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, stellat hücreler, kolanjiyositler, pit hücreleri ve lenfositler olmak üzere farklı olan hücre tipleridir (Resim 4.).



Resim 4. Karaciğerdeki hücre tipleri

Karaciğerin %80'ini karaciğerin epitel hücreleri oluşturmaktadır. Karaciğerin epitel hücreleri organ içerisinde bulunan temel hücre tipidir. Safra kanalı epitel hücreleri, sinüzoidleri, arterlerin ve venlerin duvarlarını döşeyen endotel hücreleri, karaciğer içerisinde fagositoz yapan Kupffer hücreleri ve lipit ve A vitamini bulunduran Ito hücreleri de karaciğer organı içerisindeki farklı olan diğer hücre tipleridir. Karaciğerin epitel hücreleri sinüzoidlerin yardımıyla ayrılması sağlanan, çift tabakalı plaklar şeklinde düzenlenmiş halde bulunmaktadırlar. Bu çift tabakalı plaklar, iki sıra hepatosit hücresinin sınırlanması ile birlikte safra kanaliküllerinden ayrılmaktadır. Safra kanalikülleri ise kanalikül lümenine uzanan hepatositlerin mikrovillusları tarafından oluşturulmuşlardır. Bu çift tabakalı olarak bulunan hepatosit plakları, sinüzoidlerin yardımıyla sınırlandırılırlar. Bu sinüzoidlerin duvarını döşeyen, sıkı bağlantı komplekslerini içermeyen, fenestralı sinüzoidal endotel hücrelerinin oluşturduğu tabaka sayesinde düzenlenme sağlanmış olur. Sınır alanında bulunan fenestralı sinüzoidal kapillerler, kan yoluya gelmiş olan besinlerin ve hormonların hepatositlere serbest olarak şekilde geçişini sağlamaktadır. Karaciğerin duvarını döşeyen endotel hücreleri ve hepatositler arasında kalan boşluğa ise Disse aralığı denilmektedir. Disse aralığına bakan hepatositlerin membranı, kandan Disse aralığına girmiş olan maddelerin emilimi daha fazla yapabilmesi için yüzey alanını arttırmak amacıyla birden fazla mikrovillus oluşturacak şekilde düzenlenmiş olan bir yapıya sahiptir. Karaciğerin epitel hücreleri, Disse boşluğunda plazma membranları üzerinde katlantıları arttırarak mikrovillusları oluşturmuş olurlar ve bu katlanmanın arttırması ile birlikte yüzey alanı daha da artmış olur. Hepatositlerin toplam yüzeylerinin %35'i sinüzoidlerle karşılıklı konumda bulunurken, %50'si komşu hepatositlerle karşılıklı konumda bulunmaktadır. Hepatositler, karaciğerin birden fazla olan metabolik görevlerini yerine getirmek üzere, kompleks yapıda olan bir mitokondri, peroksizomlar, lizozomlar, golgi aygıtı, granüllü endoplazmik retikulum ve granülsüz endoplazmik retikulum ve bol miktarda mikrotübül ve mikrofilament içerirler. Karaciğerin klasik olan yapı birimleri hepatik lobüllerdir (Resim 5.) (3).



Resim 5. Hepatik Lobül

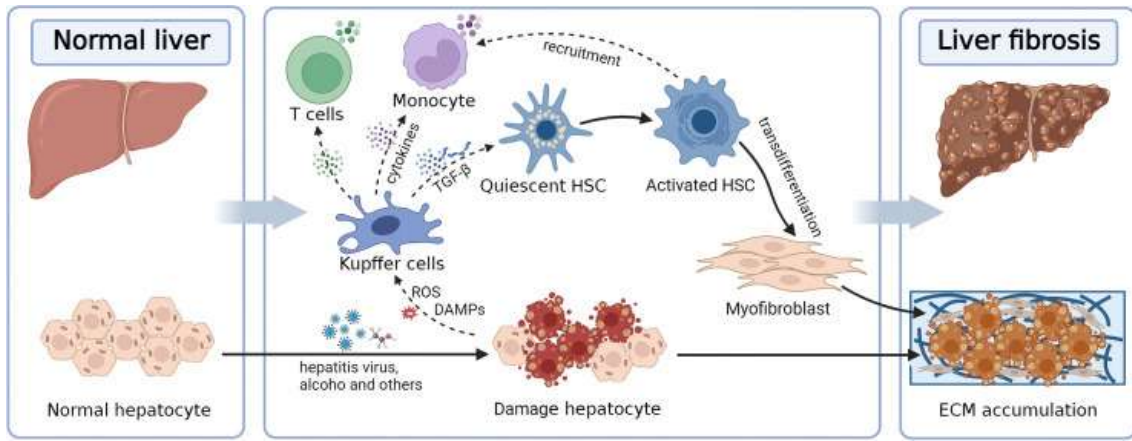
2.2. Fibrozis

Fibrozis, kollajen gibi ekstrasellüler matriks bileşenlerinin aşırı eksprese olması sebebiyle, çeşitli dokuların aşırı büyümesi, sertleşmesi ve yara izi ile ayırt edilen doğal yollarla meydana gelen bir bağışıklık tepkisi (4). Toplu olarak dünya çapında tüm nedenlere bağlı ölümlerin %45'ine sebep olan küresel bir sağlık sorunudur (5). Bu devam eden enfeksiyonlar, otoimmün reaksiyonlar, alerjik reaksiyonlar, radyasyon ve doku hasarı gibi çeşitli etkenler, genellikle fibrozis gelişmesine sebep olan kronik inflamatuvar reaksiyonlara neden olmaktadır (4). Fibrotik hastalıklar, kronik organ hasarına ve strese cevap olarak birçok organda gelişim gösterebilmektedir (5). Akciğer fibrozisi ve karaciğer fibrozisi büyük sağlık problemlerindendir (4).

2.2.1. Karaciğer Fibrozisi

Karaciğer fibrozisi, karaciğerdeki ekstrasellüler matriksin aşırı eksprese olması ve birikmesi ile karakterize olan karaciğer hasarına karşı patolojik bir cevaptır (6). Karaciğer fibrozisi, viral hepatit, steatohepatit, metabolik bozukluklar, otoimmün durumlar, ilaç veya toksinle ilişkili hepatit, alkolik karaciğer fibrozisi, alkolik olmayan yağlı karaciğer gibi sebeplerle meydana gelmektedir (7, 8). Karaciğer fibrozisinin ilerlemesi durumunda siroz ve daha ileri evrede hepatoselüler karsinom meydana gelmektedir ve yılda 1

milyondan fazla kişinin ölümüne sebep olmaktadır (9). Parankimal ve non-parankimal hücreler arasındaki etkileşim, kronik karaciğer hasarının fibrozise doğru ilerlemesi sırasında meydana gelir ve çeşitli bağışıklık hücrelerinin uyarılmasına neden olur. Yaralanan hepatositlerde apoptozis indüklenir ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, fenestraların kaybı olan sinüzoidal kılcallaşmaya maruz kalır. Kupffer hücreleri aktive olur ve bunun sonucunda çeşitli sitokin ve kemokin üretimi gerçekleşir. Son olarak sessiz hepatik yıldız hücreleri aktive olur ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü TGF- β 1 reseptörü ve alfa-düz kas aktini (α -SMA) dahil olmak üzere yeni reseptörler ve proteinler ifade eder (10). Karaciğer hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonu, A vitamini depolama hücrelerinden miyofibroblastlara farklılaşmasını ifade etmektedir (11). Bu farklılaşma, ekstraselüler matriksin birikmesine neden olur ve karaciğer fibrozisini hızlandırır (9). Hepatik yıldız hücreler, α -düz kas aktini (α -SMA) eksprese ederler ve TGF- β , IL-6 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi profibrotik ve inflamatuvar sitokinler üretirler ve bunun sonucunda ekstraselüler matriks aşırı ekspresyonu meydana gelmiş olur (Resim 6.) (7). Ayrıca, fibrotik dokunun çoğu portal yolların yakınında konumlanmıştır ve bu durum kan akışına karşı direnci ve aşırı kolajen birikiminden kaynaklanan hepatoselüler işlev bozukluğunu artırır (10).

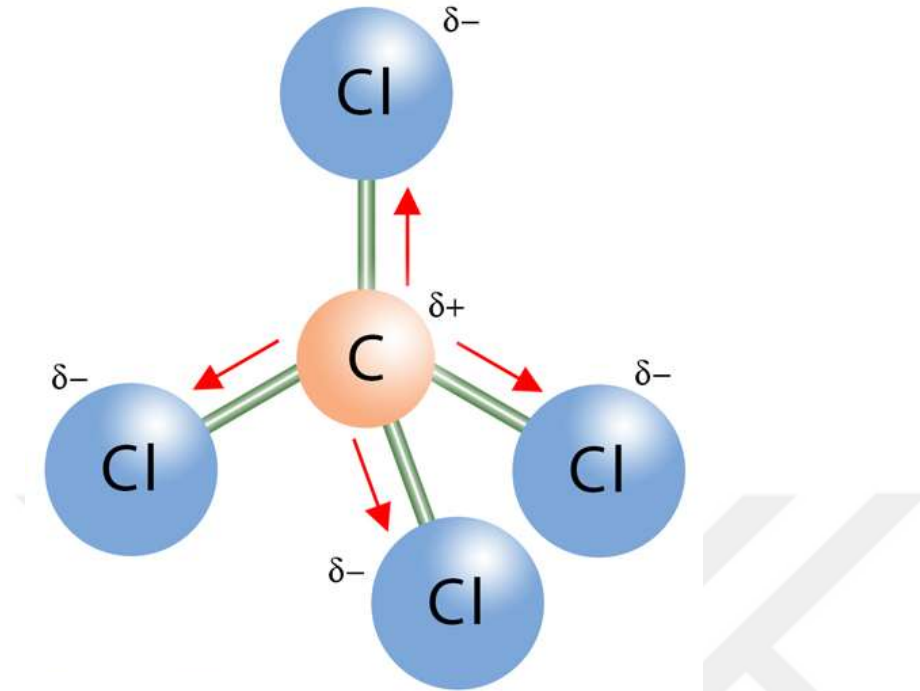


Resim 6. Karaciğer fibrozisinin mekanizması

2.3. Karbon Tetraklorür (CCl₄)

Kimyasal olarak CCl₄, tetraklorometan olarak da bilinen spesifik bir klorlu veya tipik halojenli hidrokarbon molekülüdür çünkü dört metan hidrojeni de merkezindeki tek karbon atomuna sıkıca bağlı klor ile yer değiştirmiştir (Resim 7.). Bu mükemmel yapısal

düzenlemeler, onu verimli bir tepkimeye girmeyen çözücü haline getirerek çözeltideki diğer kimyasal ürünlerin onunla tepkimeye girmesini engeller.



Resim 7. Karbon tetraklorür kimyasal yapısı

Karbon tetraklorür, çevrede bulunan bir ksenobiyotik bileşiktir. İnsanlarda ve hayvanlarda hepatotoksisite göstermektedir. Özellikle kloroflorokarbon üretim ünitelerinden salınan atık sulara, kuru temizlemeli tekstil çamaşırhanelerinde, evlerde ve yangın söndürücülerde etkili bir temizlik maddesi ve çözücü olarak; roket itici veya soğutucuların öncüsü olarak ve ayrıca ankiloztomiyazis tedavisinde etkili antihelmintik özellikleri nedeniyle insanlarda da uygulama alanı bulmuştur (12).

2.4. Kök Hücre

Kök hücre, belirli koşullar altında kendi kendini çoğaltabilen ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilme potansiyeline sahip hücrelerdir (kök1-kök2) (13, 14). Kök hücreler, doku onarımı ve rejenerasyonunu sağlama kapasitesine sahiptir. Hasarlı dokuların iyileşmesini desteklemektedirler (14). Kök hücreler farklılaşabilme kapasitelerine göre 5 tipe ayrılmaktadırlar;

Totipotent kök hücre: Zigot oluşumundan sonra 1-4 gün içerisinde tüm hücelere farklılaşabilme potansiyeline sahiptir. Bu hücreler yeni bir organizmayı meydana getirebilme potansiyeline sahiptirler.

Pluripotent kök hücre: Zigotun iç hücre tabakasına farklılaşması ile meydana gelen hücrelerdir. 3 germ tabakası olan endoderm, mezoderm ve ektoderm kaynaklı olan

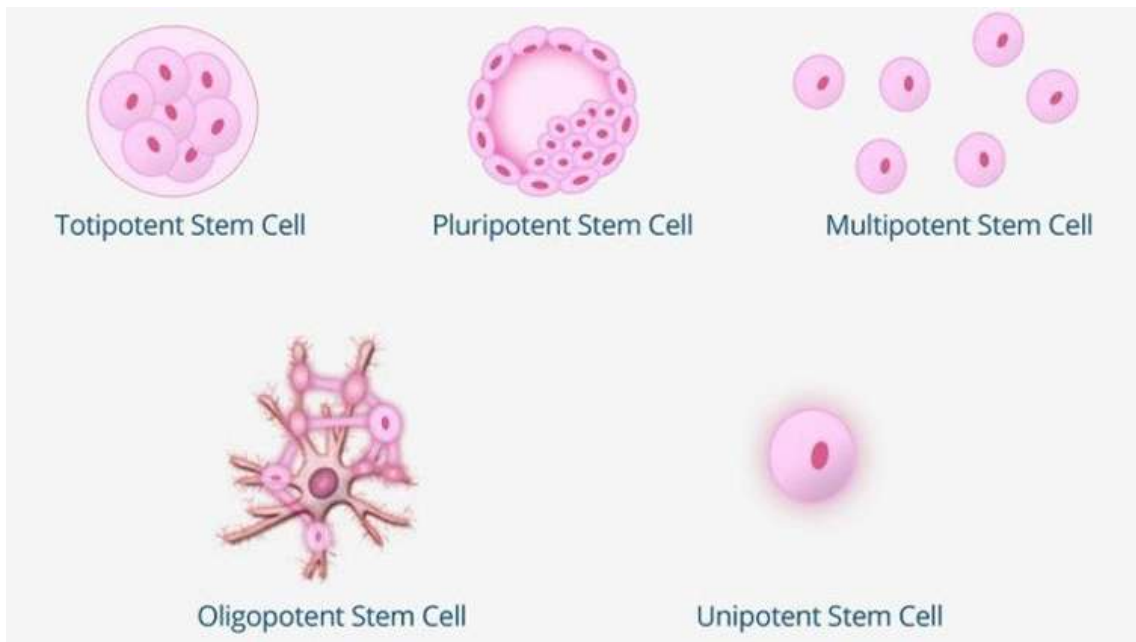
hücrelere farklılaşabilme potansiyeline sahiptir. Ancak totipotent kök hücreler gibi yeni bir organizmayı meydana getirebilecek potansiyele sahip değildir.

Multipotent kök hücre: Özelleşmiş, yakın özellikli hücre tiplerine farklılaşabilen kök hücrelerdir.

Oligoptent kök hücre: Sadece belirli birkaç tip hücreye farklılaşabilen kök hücrelerdir.

Unipotent kök hücre: Yalnızca belirli bir tip hücreye farklılaşabilen kök hücrelerdir.

Bununla birlikte kendini yenileyebilme özelliğine sahip oldukları için dokularda bulunan progenitor hücrelerden farklıdır (Resim 8.).

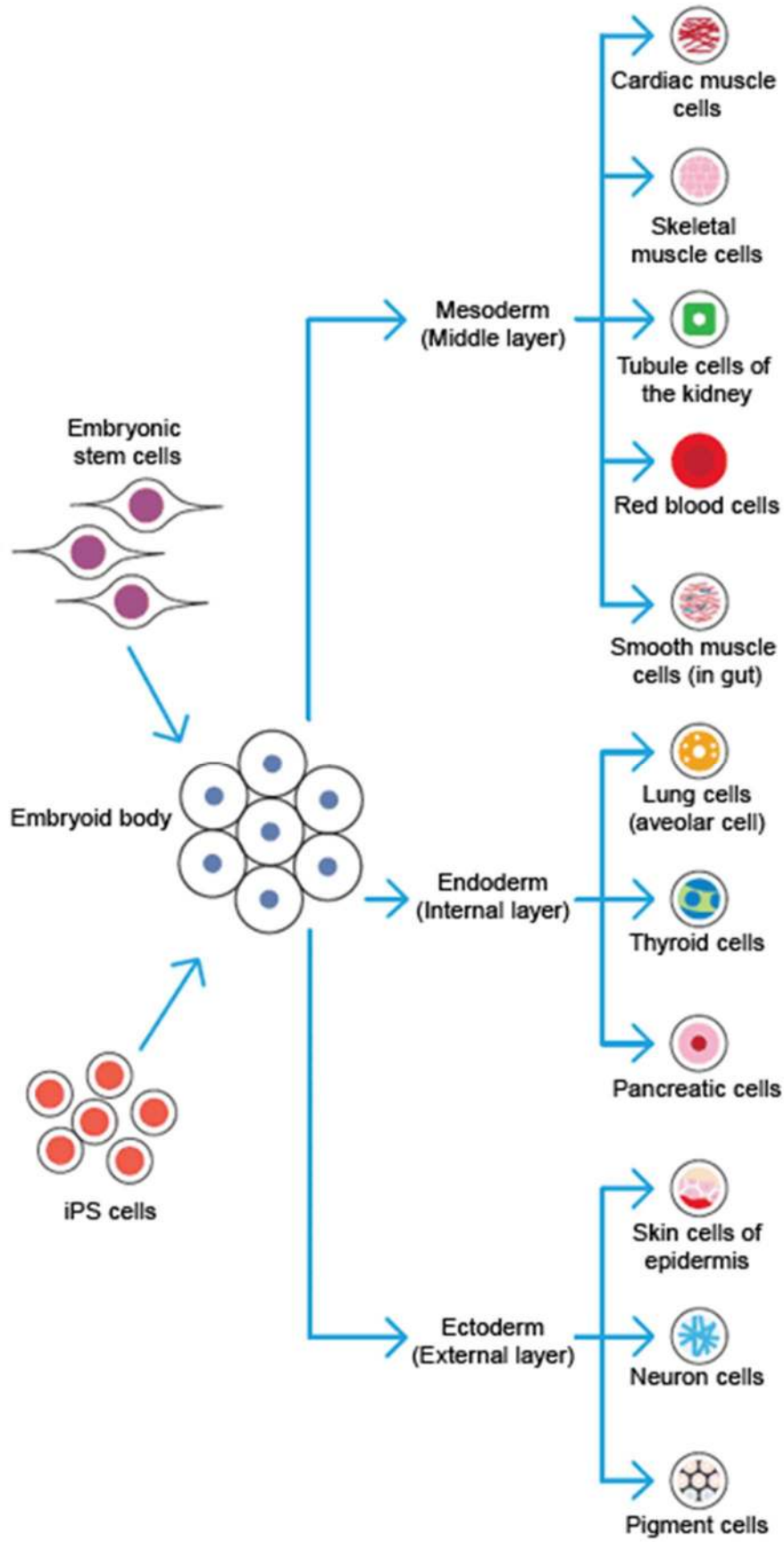


Resim 8. Farklılaşabilme kapasitelerine göre kök hücreler

2.4.1. Kök Hücre Çeşitleri

Kök hücreler farklı kaynaklardan elde edilebilmektedirler. Temel olarak embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kök hücreler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar.

Embriyonik kök hücreler: Zigottan sonra meydana gelen blastosist hücre topluluğundan izole edilen hücrelere denmektedir. Bu hücreler 3 germ tabakası olan endoderm, mezoderm ve ektoderm kaynaklı hücrelere farklılaşabilmektedirler. Embriyonik kök hücreler pluripotent kök hücre özelliklerine sahiptir. Daha hızlı çoğalabilme ve daha fazla hücreye farklılaşabilme potansiyeline sahiptirler (Resim 9.).

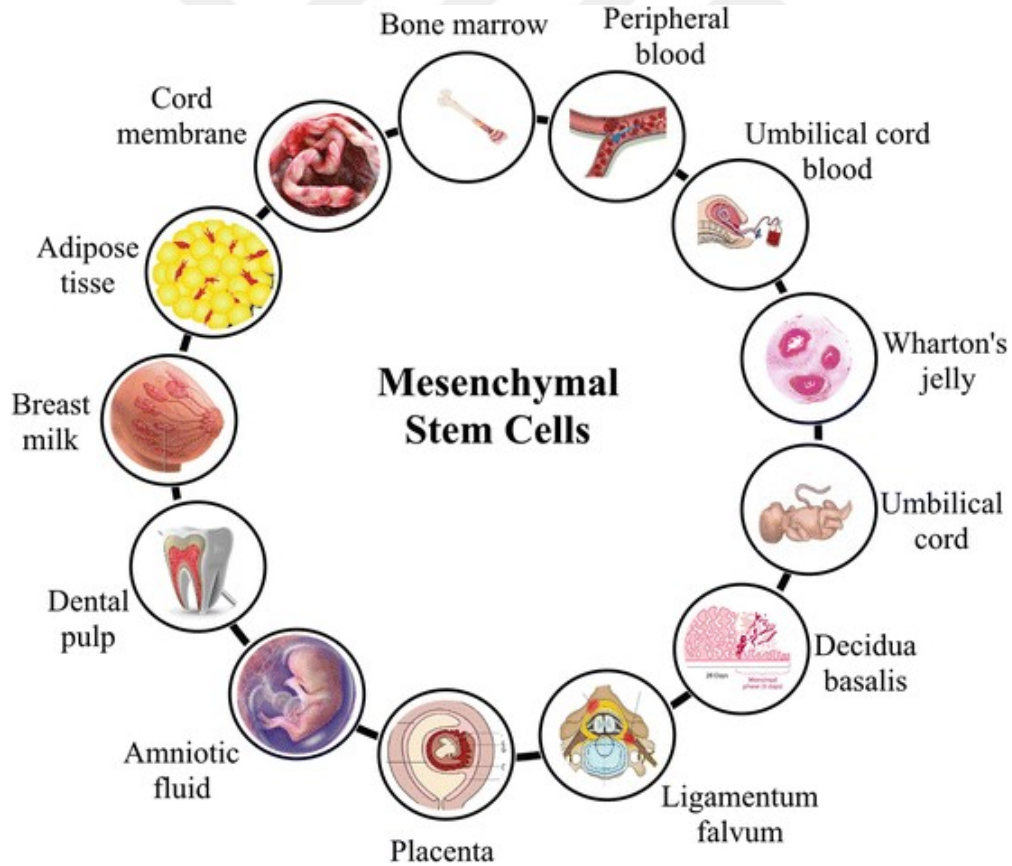


Resim 9. Embriyonik kök hücreler

Embriyonik olmayan kök hücreler: Farklılaşmış olan doku ve organlar içerisinde bulunmakta olan bu kök hücreler, farklılaşmamış multipotent kök hücrelerle karakterizedir. Embriyonik olmayan kök hücreler, gerekli durumlarda bulundukları doku ve organ içerisindeki hücrelere farklılaşabilme özelliğine sahiptir. Doku rejenerasyonu ve doku bütünlüğünün korunmasından sorumludurlar. Embriyonik olmayan kök hücreler 3 grupta incelenmektedir; Hematopoetik kök hücreler, Mezenkimal kök hücreler ve diğer erişkin kök hücreler (15).

2.5. Mezenkimal Kök Hücre

Mezenkimal kök hücreler, ilk olarak Friedenstein tarafından 1960'ların sonu ile 1970'lerin başında tanımlanmıştır. 1991'de Caplan tarafından 'Mezenkimal kök hücreler' terimi ortaya atılmıştır (16). Mezenkimal kök hücreler, kemik iliği, yağ dokusu, periferik kan, fetal dokular, diş pulpası, göbek kordonu ve plasenta dokuları gibi çok sayıda yetişkin ve perinatal dokudan izole edilmiş ve çoğaltılmıştır (Resim 10.) (17).



Resim 10. Mezenkimal kök hücrelerin kaynakları

Mezenkimal kök hücreler, doku onarımı ve yara iyileşmesinde rol oynamaktadır. Mezenkimal kök hücreler, kendilerini yenileme potansiyelleri, çeşitli hücre tiplerine

farklılaşmaları ve güçlü bir çoğalma kapasitesi göstermektedir (18). 2006 yılında belirlenen kriterlere göre, mezenkimal kök hücrelerin standart kültür koşulları altında plastiğe yapışması, CD105,CD73 ve CD90 dahil olmak üzere spesifik yüzey antijenlerini ifade etmesi ve CD45, CD34, CD14 veya CD11b, CD79a veya CD19 gibi hematopoetik belirteçleri ve ayrıca sınıf II HLA moleküllerini ifade etmemesi gerekmektedir (19).

Mezenkimal kök hücreler, güçlü immünodülatör fonksiyonlara sahiptir ve hem doğuştan hem de adaptif bağışıklık hücreleriyle etkileşime giren çözünür faktörleri salgılayarak in vivo homeostazın korunmasına yardımcı olur (20). Mezenkimal kök hücreler, immünomodülasyon, anjiyogenez ve doku onarımında temel rollere sahip sitokinler, kemokinler ve çözünür faktörler dahil olmak üzere bir dizi biyoaktif molekül üretmektedir. Bu moleküllerden bazıları, nitrik oksit (NO), prostaglandin E2 (PGE2), interlökin-10 (IL-10), interlökin-6 (IL-6) ve insan lökosit Antijen-G'dir (HLA-G) (21).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi içinde makrofajlar ve nötrofiller, inflamasyon ve doku onarımında önemli roller oynar. İltihaplı veya hasarlı dokularda, mezenkimal kök hücrelerin, makrofajların hem M1 hem de M2 fenotiplerine farklılaşmasını desteklediği gösterilmiştir. M1 makrofajları güçlü antibakteriyel aktivite gösterirken, M2 makrofajları trofik faktörler ve interlökin-10 salgılayarak ve apoptotik hücrelerin temizlenmesini kolaylaştırarak inflamasyonun çözülmesine ve doku onarımının desteklenmesine yardımcı olur (20).

Ek olarak, mezenkimal kök hücreler, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF), dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF- β 1) ve interlökin-8 (IL-8) dahil olmak üzere çeşitli yara iyileştirme faktörleri salgılar. Parakrin sinyalleme yolu ile bu faktörler hücrenin hayatta kalmasını, göçünü ve hücre dışı matris (ECM) birikimini tetikleyerek doku rejenerasyonu ve onarımı ile sonuçlanır (21).

Mezenkimal kök hücreler, başlangıçta öncelikli olarak doku onarımı ve rejenerasyonu için kullanılmıştır. Daha sonra, greft-versus-host hastalığı (GVHD), lupus ve Crohn hastalığı gibi otoimmün hastalıkları tedavi etmek için giderek daha fazla kullanılmıştır. Dahası, mezenkimal kök hücrelerin klinik potansiyeli miyokard enfarktüsü, felç, multipl skleroz, karaciğer sirozu, diyabet, akciğer yaralanmaları ve kanser tedavisine kadar genişletilmiştir (17).

2.5.1. Mezenkimal Kök Hücrelerin Karaciğer Hasarı Onarımı

Mezenkimal kök hücreler, karaciğer hasarı vakalarında potansiyel terapötik uygulamalarıyla giderek daha fazla kullanılmaktadır. Doğrudan hepatositlere farklılaşarak, inflamatuvar yanıtları düzenleyerek ve bağışıklık fonksiyonlarını düzenleyerek karaciğer rejenerasyonunda rol oynarlar. Ayrıca, hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonunu bloke ederek kolajen birikimini azaltır. Mezenkimal kök hücreler, ayrıca hepatositlerin dejenerasyonunu ve nekrozunu önlemeye yardımcı olarak hücre sağlığını ve dengesini korurlar.

Hücre canlılığının korunması: Mezenkimal kök hücreler hepatositlere dönüşme yeteneğine sahiptir ve böylece karaciğer rejenerasyonunu destekler.

İnflamatuvar mikroçevrenin modülasyonu: Karaciğer hasarıyla ilişkili inflamatuvar yanıt, öncelikle makrofajların polarizasyonu ve nötrofillerin anormal katılımından etkilenmektedir. Yapılan çalışmalar, mezenkimal kök hücrelerin makrofajları pro-inflamatuvar bir fenotipten anti-inflamatuvar bir fenotip haline getirmeye yardımcı olan PGE2, TNF- α , ST6, IL-6 ve IDO gibi çeşitli medyatörler salgıladığını göstermektedir. Bu geçiş, pro-inflamatuvar sitokin seviyelerinin düşmesine ve karaciğerdeki inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun azalmasına katkıda bulunur.

Antifibrotik etkiler: Mezenkimal kök hücreler, karaciğer fibrozisini azaltarak karaciğer hasarının onarımında kritik öneme sahiptir. Yapılan bir çalışmada, bir enfeksiyonun neden olduğu karaciğer hasarı yaşayan bir fare modelinde, insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinden elde edilen eksozomlarla tedavi, α -SMA, kolajen tip I ve kolajen tip III seviyelerinde belirgin bir düşüşe yol açarak karaciğer fibrozunda iyileşmeye neden olmuştur (19).

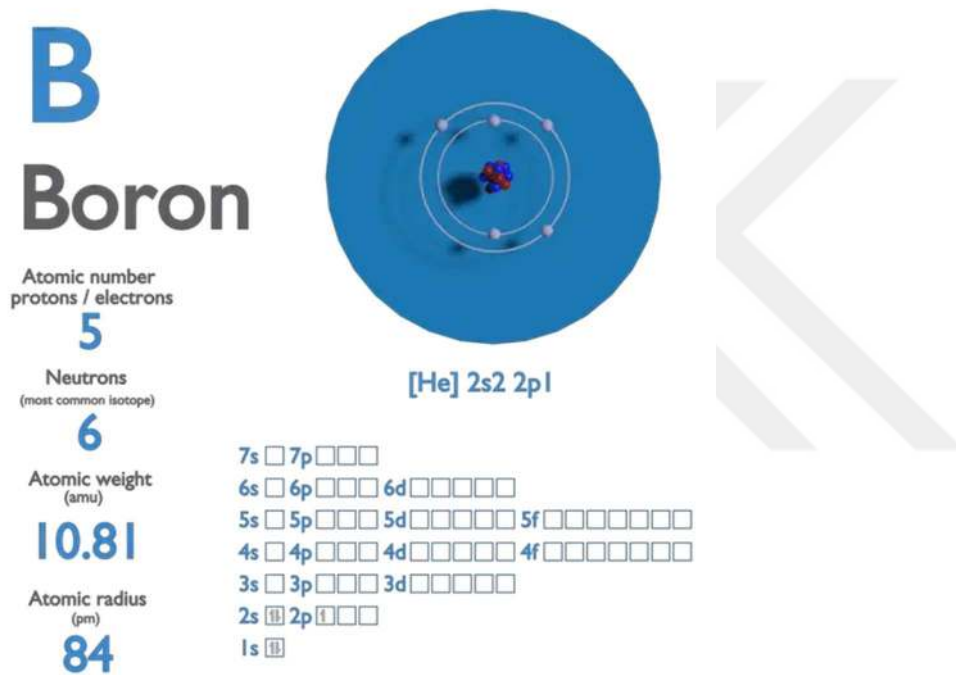
2.5.2. Adipoz Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre

Adipoz dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücrelerin diğer kök hücre tiplerine göre birçok avantajı vardır. Yağ dokusunun deri altı bölgedeki lokalizasyonuna bağlı olarak elde edilmeleri kolaydır ve daha az donör morbiditesine neden olabilirler. Ayrıca, yağ dokusunda bol miktarda adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre bulunur ve bu da yüksek miktarda adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre izolasyonunu mümkün kılar (22). Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler, tüm mezenkimal kök hücreler tarafından paylaşılan temel özellikler sergiler; bunlar arasında çoklu potansiyel, immünomodülatör kapasite ve tipik yüzey belirteci ekspresyonu bulunur (23). Çalışmalar, adipoz kaynaklı

mezenkimal kök hücrelerin lipid metabolizmasını düzenleme, inflamasyonu azaltma, oksidatif stresi hafifletme ve anti-fibrozis gibi mekanizmalar yoluyla alkolsüz yağlı karaciğer hastalığının semptomlarını etkili bir şekilde iyileştirebileceğini göstermiştir (24).

2.6. Bor

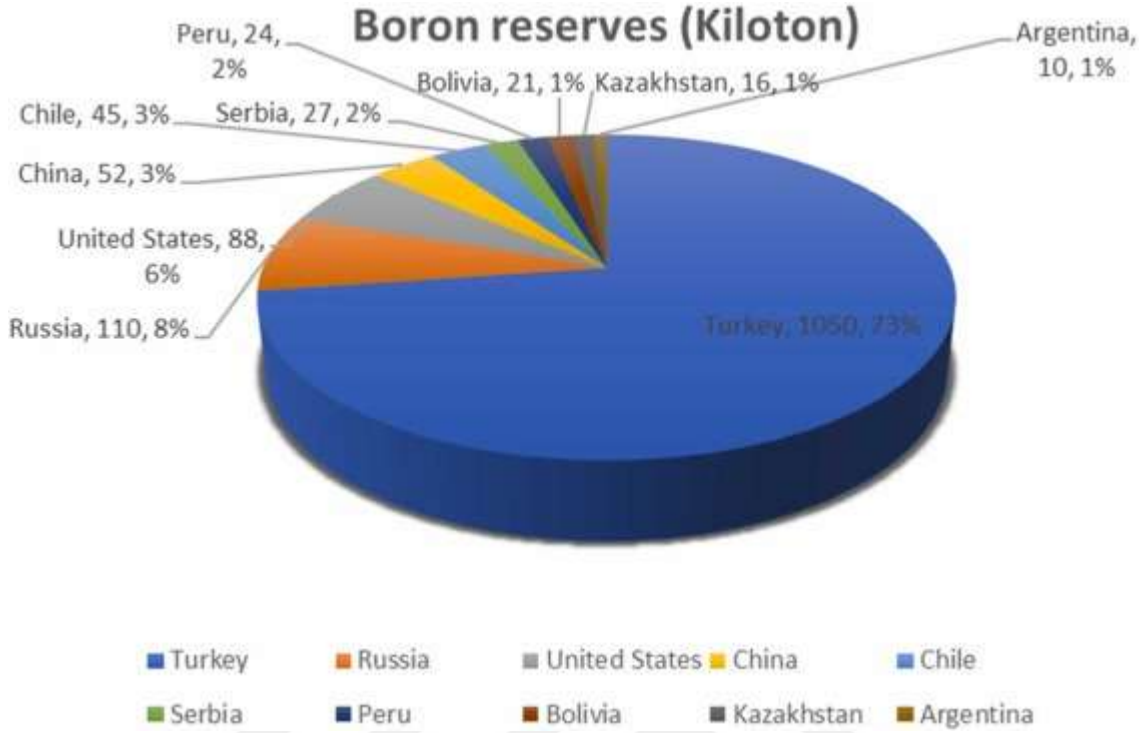
İz element bor, metaloid ailesine aittir ve doğada element formunda bulunmaz, bunun yerine diğer elementlerle bileşikler oluşturur (Resim 11.) (25).



Resim 11. Bor atomik yapısı

Bor, belirli bakteriler, bitkiler, mantarlar ve algler için hayati önem taşıyan bir mikro besin görevi görmektedir. Birçok tür için yaşamın kökeni ve gelişiminde rol alan bir prebiyotik olarak sınıflandırılmaktadır. Sağlıklı dokularda bor bileşiği olan borat veya borik asit bulunmaktadır. Borun özellikleri arasında, anti-bakteriyel, anti-inflamatuar ve yara iyileştirici olması bulunmaktadır. Bu özelliklere ek olarak, kemik büyümesi ve bakımı, hormon aktivitesi ve zihinsel süreçler de dahil olmak üzere çeşitli metabolik süreçlerde kullanıldığı keşfedilmiştir (26). Bor, toprak, su, bitkiler, mineraller, deniz yosunu, volkanlar ve süt ürünleri gibi birçok yerde bulunmaktadır. Dünya üzerinde, Amerika Birleşik Devletleri'nin büyük bir kısmı, Brezilya ve Japonya gibi yüksek yağış alan bölgelerde sızıntı nedeniyle topraktaki bor seviyeleri daha düşük olmak

eğilimindedir. Buna karşılık, Türkiye'nin bazı bölgeleri, Kaliforniya, Şili, Rusya ve Çin gibi kurak bölgelerde nispeten yüksek bor konsantrasyonları bulunur (Resim 12.).



Resim 12. Bor rezervleri

Bor, genel olarak anatomi, farmakoloji, patoloji, parazitoloji, tıp, üreme, biyokimya ve tarım gibi birçok alanda da kullanılmaktadır. Borun ana kaynakları arasında boraks, kernit, kolemanit ve üleksit gibi mineraller bulunmaktadır. Bor ile sağlık alanında yapılan çalışmalar çok yönlüdür. Kemik dokusu üzerinde yapılan çalışmada, kemik mineralizasyonunu ve kemiğin gücünü arttırdığı gözlenmiştir. Deri üzerinde yapılan çalışmada, yara iyileşmesini desteklediğini ve derideki iltihabı azalttığı gözlenmiştir. Kalp üzerinde yapılan çalışmada, miyokardiyal fibrozisi ve apoptozu azalttığı gözlenmiştir. Karaciğer üzerinde yapılan çalışmada, hücresel onarım ve detoks süreçlerini geliştirerek karaciğer dokusunun yenilenmesini desteklediği gözlenmiştir ([25](#)).

2.6.1. Sodyum Pentaborat-pentahidrat (NaB)

Sodyum pentaborat pentahidrat (NaB) bor bileşiklerinin sentez ürünüdür. Bazı çalışmalarda, sodyum pentaborat pentahidratın hücre çoğalmasını desteklediği ve kemik sağlığına katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Bunun yanı sıra sodyum pentaborat pentahidratın yanık ve yara iyileşmesi ve anti-mikrobiyal aktivite gösterildiği

bildirilmiştir. Bu özellikleri sebebiyle sodyum pentaborat pentahidrat yara bakımı ve enfeksiyon uygulamaları için dikkat çekici bir üründür (27).

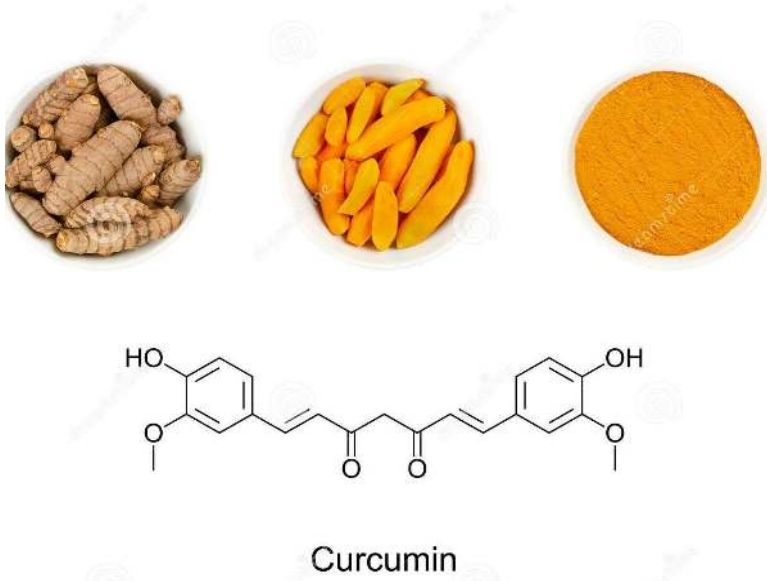
2.7. Kurkumin

Modern medeniyetin yoğun gelişimi ve ilaç endüstrisindeki ilerlemelerle birlikte, insan sağlığını ve yaşam süresini etkileyen çok sayıda ilacın üretimi artık kolaylaşmış haldedir. Bununla birlikte, doğal ürünler, benzer biyoaktif etkiler gösteren uygulanabilir alternatif tedavi yöntemleri sunmaktadır. Yüzyıllardır Asya’da kullanılan kurkumin, bu bahsedilen bileşiklere bir örnektir. *Curcuma longa* L. (zerdeçal) (Resim 13.) köksapından elde edilen başlıca kurkuminoiddir (28) . Kendine özgü turuncu-sarı rengi, zerdeçalın bileşiminin yaklaşık %2-8’ini oluşturan lipofilik polifenolik bileşikler olan kurkuminoidlere atfedilir (29).



Resim 13. *Curcuma longa* L.

Kimyasal olarak 1,7 - bis(4hidroksi-3-metoksifenil) - 1,6 – heptadien - 3,5 - dion olarak tanımlanan kurkumin, doğal ve biyoaktif bir fitokimyasaldır (Resim 14.) (28). 4 0 yüzyıldan uzun süredir kurkumin, mide, karaciğer ve böbrek iltihabı dahil olmak üzere çeşitli yaygın rahatsızlıkları tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılmaktadır (30).

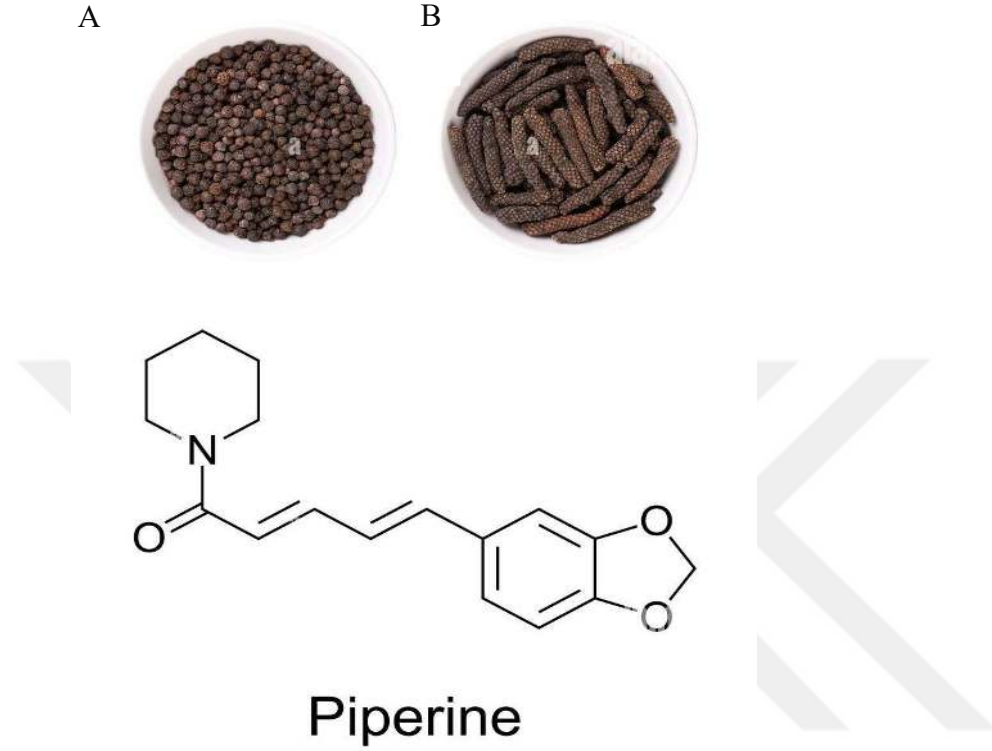


Resim 14. Kurkumin

Kurkumin, antioksidan, lipid düzenleme, antibakteriyel, antiviral ve antikanser etkiler de dahil olmak üzere birçok farmakolojik aktivitelere sahip olan bir polifenolik bir bileşiktir (31). Kurkuminin, anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri sebebiyle çeşitli metabolik hastalıklarda, nörodejeneratif hastalıklarda, kanserde ve kardiyovasküler hastalıklarda mükemmel önleyici ve terapötik etkileri görülmüştür. Kurkuminin, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı üzerinde ise lipid ve kan glikoz seviyelerindeki anormallikleri iyileştirebildiği, oksidatif stresi ve iltihabı azaltabildiği ve insülin duyarlılığını arttırabildiği görülmüştür (32). Kurkuminin karaciğer üzerindeki bir başka etkisi ise, in vitro ve in vivo çalışmalarda, kurkuminin leptin sinyallemesini bloke ederek, glikoz ve lipid metabolizmasını düzenleyerek ve hücre dışı matris sentezi ve bozunumu dengesini koruyarak hepatik stellat hücre aktivasyonunun inhibe edilebileceğidir (33). Kurkumin, bunların yanı sıra, yağ hücrelerindeki pro-inflamatuar sitokin düzeylerini düşürür ve mitokondriyal biyogenez yoluyla hepatik lipogenezi de düzenlemektedir (34). Yapılan bir başka çalışmada, kurkuminin, alkole bağlı olmayan karaciğer hastalığının fibrozis durumuna ilerlemesini önlediği ve karaciğer kanseri riskini düşürdüğü gösterilmiştir (35).

2.8. Piperin

Piperin, karabiberin keskinliğinden sorumlu olan bir alkaloidtir (29). Uzun biber (Piper longum L.) ve karabiber (Piper nigrum L.) yüksek piperin içeriğine sahiptir (Pip1) (Resim 15) (36).



Resim 15. Piperin

A. Piper nigrum L. B. Piper longum L.

Piperinin, antioksidan, anti-obezite, kardiyoprotektif, hepatoprotektif , anti-kanser, antispazmodik, anti-hiperlipidemik, salgı önleyici, immünomodülatör, ve anti-inflamatuar özellikler dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik etkileri bulunmaktadır (29, 36). Bu özelliklerin yanı sıra piperin, dozlama sıklığını ve dozajını azaltarak ilaç moleküllerinin biyoyararlanımını iyileştirme yeteneğine sahiptir (37). Bu sebeple, kurkumin takviyeleri, biyoyararlanımını arttırmak için piperin gibi bileşiklerle birleştirilmektedir (38). Yapılan bir çalışmada, kurkumin ve piperin kombinasyon halinde oral yolla uygulandığında insanlarda biyoyararlanımının 45 dakika içinde %2000'e kadar önemli ölçüde artırılabilceği doğrulanmıştır (29).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

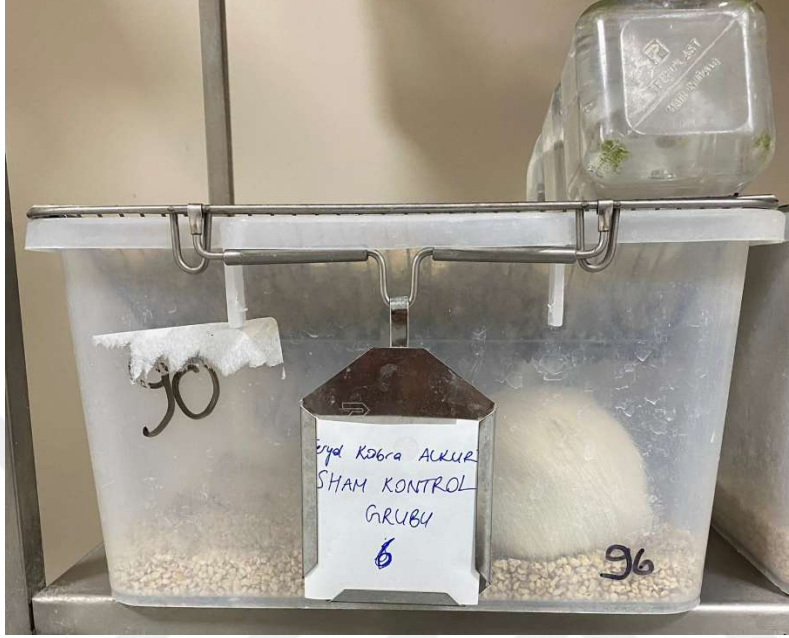
3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan 17.04.2025 tarihinde Etik Kurul onayı alındıktan sonra başlatılmış olup tüm çalışma süreci deney hayvanları çalışma etiğine uygun olarak yürütülmüştür. Çalışmanın adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre eldesi ve adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücrelere sodyum pentaborat-pentahidrat + kurkumin + piperin ile muamele edilmesi Yeditepe Üniversitesi'nde, deney hayvanlarında hastalık modeli oluşturulması ve enjeksiyonların yapılması Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Histolojik çalışmalar ise Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda 8-10 haftalık 250-300 g ağırlığında 24 adet *Wistar albino* erkek sıçan (Gaziantep Üniversitesi, Deney Hayvanları Merkezi'nden alınan) kullanılmıştır. Sıçanlar altları plastik, üstü tel olan özel kafeslere yerleştirilmiştir. Çalışma boyunca tüm hayvanlar 12 saat gündüz, 12 saat gece döngüsünde olmak üzere ışık ve ısı ayarlanmış odada barındılar. Ad libitum olacak şekilde standart rat yemi ve çeşme suyu ile beslendiler.

3.2. Grupların Oluşturulması

Sıçanlar rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiştir ve her grupta 6 erkek sıçan bulunacak şekilde dört gruba ayrılmıştır.

1. Grup: Sham kontrol grubu (sham) (n:6)



Resim 16. Sham Kontrol Grubu

2. Grup: Karbontetraklorür grubu (CCl_4) (n:6)



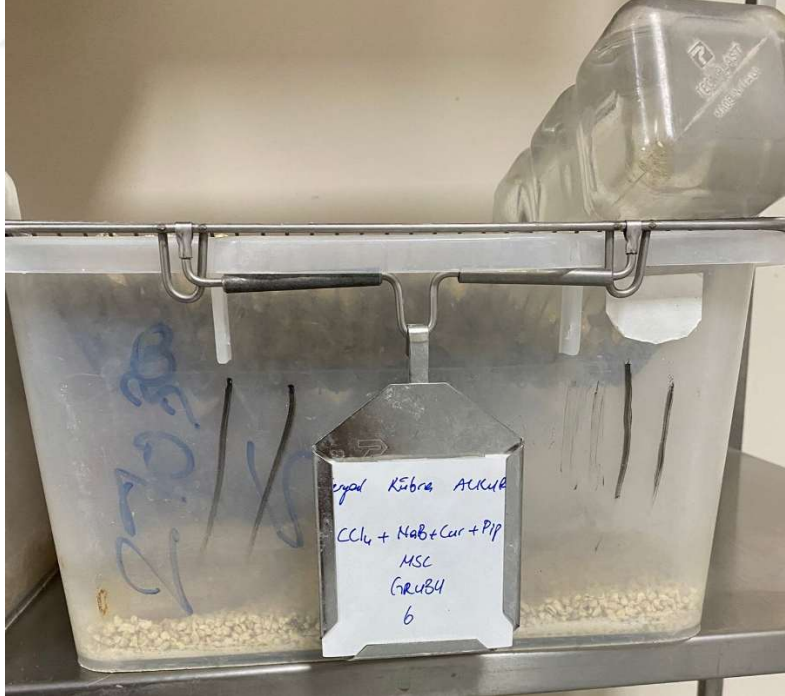
Resim 17. Karbontetraklorür Grubu

3. Grup: Karbontetraklorür+Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre grubu (CCl_4 +AK-MKH) (n:6)



Resim 18. Karbontetraklorür + Mezenkimal Kök Hücre Grubu

4. Grup: Karbontetraklorür + Sodyum pentaborat-pentahidrat+kurkumin+piperin ile muamele edilmiş adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre grubu ($\text{CCl}_4 + \text{NaB} + \text{Cur} + \text{Pip} + \text{AK-MKH}$) (n:6) (Tablo 1).



Resim 19. Karbontetraklorür + Sodyum pentaborat-pentahidrat + Kurkumin + Piperin + Mezenkimal Kök Hücre Grubu

Tablo 1. Grupların oluşturulması

Grup	Hayvan Sayısı
1. Grup	Sham (n:6)
2. Grup	CCl ₄ (n:6)
3. Grup	CCl ₄ +AK-MKH (n:6)
4. Grup	CCl ₄ + NaB-Cur-Pip-AK-MKH (n:6)

3.3. . Hücre Kültürü

3.3.1 Hücre Çözme

Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre hattı kullanılmıştır. Her dondurulmuş hücre hattını canlandırmak için, kriyovial tüpleri (TPP 89020, İsviçre) azot tankından alındıktan sonra nazikçe çözüldü. Kriyovial tüplerindeki yaklaşık 1,5 ml içerik, mümkün olan en kısa sürede 2 ml büyüme ortamı içeren 15 ml'lik Falcon tüpüne (Isolab, Almanya) aktarıldı ve ardından 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst faz, dimetil sülfoksitten (DMSO, #D4540, Sigma-Aldrich, ABD) kurtulmak için atıldı ve pelet taze büyüme ortamı ile süspanse edildi. Daha sonra hücreler, %10 ısıyla inaktive edilmiş Fetal Sığır Serumu (FBS) (Gibco 10500-056, Thermo Fisher Scientific, ABD) ve %1 Penisilin/Streptomisin/Amfoterisin (PSA, Invitrogen, Gibco, İngiltere) içeren büyüme ortamındaki doku kültürü şişesine ekildi. Tüm hücreler, 37°C, %95 nem ve %5 CO₂ koşullarında nemli bir inkübatörde (HF240 Lab CO₂ Inkübatörü, Heal Force, Çin) inkübe edildi.

3.3.2 Hücre Hatları ve Kültür Koşulları

Yağ dokusundan elde edilen kök hücreler (AKMKH'ler), %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin/Amfoterisin ekilmiş düşük DMEM ortamında (Gibco 31885-023, Thermo Fisher Scientific, ABD) kültüre alındı. Tüm hücreler, 37°C'de, %95 hava ve %5 CO₂ koşullarında nemlendirilmiş inkübatörde kültüre edildi.

3.3.3 Hücre Çoğaltılması

Hücreler %70-80 konfluansta pasajlandı. Hücre monokatmanı bir kez 1X Dulbecco fosfat tamponlu salin (DPBS) (Gibco 14190-094, ABD) ile yıkandı ve %0,25 tripsin-EDTA (Gibco 25200056, Thermo Fisher Scientific, ABD) ile 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Tripsin aktivitesini ortadan kaldırmak için hücre süspansiyonuna tam büyüme ortamı eklendi. Ardından hücre süspansiyonu 300xg'de 5 dakika santrifüj edildi, pelet özel tam büyüme ortamında yeniden süspanse edildi ve hücreler hücre kültürü şişelerine (TPP 90026, İsviçre) ekildi (Resim 20).



Resim 20. Hücre kültürü yapılması

3.3.4. Hücrelerin Dondurulması

Dondurma solüsyonu, %10 DMSO ve %90 tam büyüme ortamı karıştırılarak hazırlandı. Hücre pelleti, her kriyo-ovalde 1 x 10⁶ hücre/mL hücre yoğunluğuna sahip 1 mL dondurma karışımı solüsyonunda yeniden süspanse edildi. Hücreler, uzun süreli saklama için sıvı nitrojen tankına aktarılmadan önce, hemen -80°C dondurucuda (New Brunswick, U410, Almanya) bir gece bekletildi.

3.3.5. MTS Hücre Canlılık Testi

MTS testi, metabolik olarak aktif hücreler tarafından MTS tetrazolyum bileşiğinin çözünür bir formazan boyasına indirgenmesiyle hücre canlılığını ölçen bir kalorimetrik testtir. AKMKH'ler, 96 kuyulu plakalara (TPP, İsviçre) 5000 hücre/kuyu yoğunluğunda ekildi. Kurkumin stok solüsyonu (50 mmol/L) ve piperin stok solüsyonu (10 mmol/L) DMSO'da hazırlandı. Sodyum pentaborat pentahidrat (NaB) stok solüsyonu ise besiyerinde hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 20, 30, 40 ve 50 μ mol/L) Kurkumin, farklı konsantrasyonlarda (10, 8, 6, 4, 2, 1 μ mol/L) Piperrin ve farklı konsantrasyonlarda (5000, 2500, 2000, 1500, 1000, 500 ve 250 μ g/ml) NaB büyüme ortamlarında hazırlandı. Kurkumin, NaB ve Piperin kombinasyonunun farklı konsantrasyonları (30 μ M + 1000 μ g + 6 μ M, 30 μ mol + 500 μ g + 6 μ M, 20 μ mol + 1000 μ g + 6 μ M ve 20 μ M + 500 μ g + 6 μ mol) ortamlarda hazırlandı. 24 saat sonra hücreler, 24, 48 ve 72 saat boyunca belirtilen konsantrasyonlarda işleme tabi tutuldu. Hücre canlılığı, üreticinin talimatlarına göre MTS reaktifi (3-(4,5-di-metil-tiyazol-2-il)-5-(3-karboksi-metoksi-fenil)-2-(4-sülfo-fenil)-2H-tetrazolium) (#G3582, CellTiter96 AqueousOne Solution; Promega, Southampton, BK) ile ölçüldü. Kısaca, hücrelerin Curcumin, Piperin ve NaB ile tek başına veya Curcumin, Piperrin ve NaB kombinasyonu ile 24, 48 ve 72 saat inkübe edilmesinin ardından, DPBS'de %10 MTS reaktifi ve 4,5 g/L D-glikoz içeren bir karışım hazırlandı, ardından her kuyucuğa 100 μ L MTS karışımı eklendi ve bu hücreler daha sonra 37°C'de 1,5 saat inkübe edildi. 490 nm'deki absorbans, Varioskan LUX Çok Modlu Mikroplak Okuyucu (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak tespit edildi (Resim 21.).



Resim 21. MTS Deneyi yapılması

3.4. Kök Hücrelerin İntraperitoneal Yolla Verilmesi

Elde edilen MTS sonuçları ile birlikte, hazırlanan adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler ve NaB+Cur+Pip ile muamele edilmiş mezenkimal kök hücreler çoğaltıldıktan sonra santrifüj edilmiş ve pellet 500 µl PBS içinde resüspanse edilip insulin enjektörü ile çekilmiştir ve deney hayvanlarına intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir.

3.5. Gruplara Enjeksiyon Uygulamaları

1. Grup: Sham kontrol grubu (sham) (n:6)

Bu grup sıçanlar sham kontrol grubudur. Normal gece gündüz döngüsü içerisinde barınmışlardır. Ad libitum olarak standart yemi ve su ile beslendiler. Diğer gruplara yapılan madde enjeksiyonunun toplam hacmi kadar haftada iki kez sadece zeytinyağı enjekte edildi. 6. Haftanın sonunda bu grup için enjeksiyon yapılması sonlanmış oldu. 10. Haftanın sonunda sakrifikasyon yapılmıştır.

2. Grup: Karbontetraklorür grubu (CCl₄) (n:6)

Bu grup sıçanlar hastalık grubudur. Normal gece gündüz döngüsü içerisinde barınmışlardır. Ad libitum olarak standart yemi ve su ile beslendiler. Haftada iki kez olmak üzere, altı hafta boyunca 0,5 ml/kg karbontetraklorür maddesi 1:3 oranında zeytinyağında seyreltilerek intraperitoneal yolla enjekte edilmiş ve karaciğer fibrozisi hastalık modeli oluşturulmuştur. Herhangi bir tedaviye yönelik uygulama yapılmamıştır. 6. Haftanın sonunda bu grup için enjeksiyon yapılması sonlanmış oldu. 4 hafta boyunca beklemeye bırakıldı. 10. Haftanın sonunda sakrifikasyon yapılmıştır.

3. Grup: Karbontetraklorür + Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre grubu (CCl₄+AK-MKH) (n:6)

Bu grup sıçanlar hastalık ve tedavi grubudur. Normal gece gündüz döngüsü içerisinde barınmışlardır. Ad libitum olarak standart rat yemi ve su ile beslendiler. Haftada iki kez olmak üzere, altı hafta boyunca 0,5 ml/kg karbontetraklorür maddesi 1:3 oranında zeytinyağında seyreltilerek intraperitoneal yolla enjekte edilmiş ve karaciğer fibrozisi hastalık modeli oluşturulmuştur. 6. Haftanın sonunda bu grup için karbontetraklorür enjeksiyonu yapılması sonlanmış oldu. Hastalık oluşturulduktan sonra 2 haftada bir olmak üzere adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler çözündürülmüştür ve intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir. Her doz 3x10⁶ hücre 500 µl dPBS içerisinde olacak şekilde uygulanmıştır. 10. haftanın sonunda sakrifikasyon yapılmıştır.

4. Grup: Karbontetraklorür + Sodyum pentaborat-pentahidrat+kurkumin+piperin ile muamele edilmiş adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre grubu (CCl₄+NaB+Cur+Pip+AK-MKH) (n:6)

Bu grup sıçanlar hastalık ve tedavi grubudur. Normal gece gündüz döngüsü içerisinde barınmışlardır. Ad libitum olarak standart rat yemi ve su ile beslendiler. Haftada iki kez olmak üzere, altı hafta boyunca 0,5 ml/kg karbontetraklorür maddesi 1:3 oranında zeytinyağında seyreltilerek intraperitoneal yolla enjekte edilmiş ve karaciğer fibrozisi hastalık modeli oluşturulmuştur. 6. Haftanın sonunda bu grup için karbontetraklorür enjeksiyonu sonlanmış oldu. Hastalık oluşturulduktan sonra 2 haftada bir olmak üzere sodyum pentaborat-pentahidrat+kurkumin+piperin ile muamele edilmiş adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler çözündürülmüştür ve intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir. Her doz 3x10⁶ hücre 500 µl dPBS içerisinde olacak şekilde uygulanmıştır. 10. Haftanın sonunda sakrifikasyon yapılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplara Enjeksiyon Uygulanması

Grup No	Grup adı	Uygulama	Sakrifikasyon
1	Sham Grubu (n:6)	6 hafta, haftada 2 kez zeytinyağı	10. haftanın sonu
2	Karbontetraklorür (CCl ₄) Grubu (n:6)	6 hafta, haftada 2 kez CCl ₄	10. haftanın sonu
3	Karbontetraklorür (CCl ₄) + Adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre (AK-MKH) grubu (n:6)	6 hafta, haftada 2 kez CCl ₄ 4 hafta, 2 haftada bir MKH	10. haftanın sonu
4	Karbontetraklorür (CCl ₄) + Sodyum pentaborat - pentahidrat + kurkumin + piperin + adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücre grubu (NaB+Cur+Pip+AK-MKH)	6 hafta, haftada 2 kez CCl ₄ 4 hafta, 2 haftada bir NaB+Cur+Pip+AK-MKH	10. haftanın sonu

3.6. Sakrifikasyon ve Karaciğer Dokusunun Alınması

Deney hayvanları sakrifikasyon işlemine başlamadan önce tartıldı. Daha sonra intraperitoneal olarak ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (50 mg/kg) uygulanarak genel anesteziye alındı. Hayvanların anestezi altında olup olmadıkları arka ayaklarının pensetle sıkıştırılmasına verdikleri tepki ile test edildi. Diseksiyon masasında sırt üstü yatırılan hayvanların karın duvarı kesilerek açıldı ve karaciğerleri alındı. Karaciğerin tamamı bir bütün halinde ışık mikroskobu çalışmaları için formalin fiksatifine alındı. Aynı anda pens ve makas yardımıyla yukarıya doğru ilerleyerek kalp ortaya çıkarıldı ve sol ventrikül apeksinden insülin enjektörü ile 1 ml kan alındı. Alınan kan, serum elde edilmesi için sarı kapaklı kan tüplerine konuldu. Hayvanlar sakrifiye edilmeden önce diğer organlardan

akciğer, böbrek, kalp, beyin, göz ve testisler alındı. Dokular çıkarıldıktan sonra sıçanlar servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi.

3.7. Kan Santrifüjü

Sakrifikasyon esnasında alınan kanlar, Thermo Scientific SL 16R santrifüj cihazında, 5000 rpm'de 10 dakika olacak şekilde santrifüjlendi. Daha sonrasında elde edilen serumlar, eppendorf tüplerine konularak daha sonra ALT-AST çalışmak üzere -80⁰ de muhafaza edildi.

3.8. Doku Takibi

Sakrifikasyon esnasında alınan tüm dokular %10'luk hazırlanmış olan formaldehit içerisine alındı. 48 saati geçen bir sürede formaldehit içerisinde kalarak fiksasyonu yapıldı. Formaldehit içerisindeki karaciğer dokularından doku takibi için küçük parçalar alınarak, doku kasetlerine konuldu (Resim 22.).



Resim 22. Doku takibi

Bir gece akarsuda bekletilerek, formaldehit dokudan uzaklaştırıldı. Kalan formaldehiti dokulardan tamamen uzaklaştırabilmek için bir dizi alkol serisi yapılmaya başlandı. İlk olarak dokular 400 ml %70'lik alkol içerisine alınarak 20 dakika bekletildi. Daha sonra dokular, 400 ml %80 alkole alınarak 20 dakika bekletildi. 400 ml %80 alkolden çıkarılan

dokular, 400 ml %96'lık alkole alınarak 90 dakika bekletildi. 90 dakika sonunda çıkarılan dokular tekrar 400 ml %96'lık alkole alındı ve 90 dakika bekletildi. Ardından dokular son alkol adımı olan %96'lık alkolde 60 dakika daha bekletildi. Alkolden çıkarılan dokular, 200 ml %96'lık alkol ve 200 ml ksilenden oluşan karışım içerisine alındı ve 30 dakika bu karışım içerisinde bekletildi. Daha sonrasında bu karışımdan çıkarılan dokular bir dizi ksilen serisine tabii tutuldu. Dokular 400 ml ksilen içerisine alınarak 15 dakika bekletildi. Ardından ikinci 400 ml'lik ksilene koyulan dokular 15 dakika daha bekletildi. Ksilenden çıkarıldıktan sonra 55⁰-60⁰ etüve konularak, 200 ml ksilen ve 200 ml parafin içerisine alındı. Daha sonra 55⁰-60⁰ etüvde, 400 ml parafin içerisine konulan dokular 60 dakika bekletildi. Ardından ikinci parafin işlemi için, 55⁰-60⁰ etüvde 400 ml parafin içerisine konularak 60 dakika daha bekletildi ve sonuçta doku takibi aşamaları bitirildi.

Tablo 3. Doku Takibi

Doku Takibi Adımları	Süre
%70 Alkol	20 dakika
%80 Alkol	20 dakika
%96 Alkol	90 dakika
%96 Alkol	90 dakika
%96 Alkol	60 dakika
Alkol-Ksilen	30 dakika
Ksilen	15 dakika
Ksilen	15 dakika
Ksilen-Parafin	15 dakika
Parafin	60 dakika
Parafin	60 dakika

3.9. Bloklama-Parafine Gömme

Doku takibinin bitmesinin ardından, etüvden çıkarılan dokular Leica HistoCore Arcadia H marka parafin gömme cihazına alındı. Çelik gömme kalıplarına bir miktar parafin eklendi ve üzerine kasetlerden çıkarılan küçük karaciğer parçaları yerleştirildi. Ardından

tekrar dokuların üzerine parafin eklenerek, etiketlerin bulunduğu kasetlerle kapatılarak Leica HistoCore Arcadia C donma cihazının üzerine bırakıldı. Bir saat dokuların donması beklendi. Tüm dokular için aynı işlemler uygulandıktan sonra çelik gömme kalıplarından çıkarıldı ve kesit almak için hazır hale getirildi.

3.10. Kesit Alma

Parafine gömülerek bloklanan dokular, Leica RM 2245 marka mikrotom cihazında 20 µm kalınlığında trimlenmeye başladı. Doku parçasına ulaşılan kadar trimlendi. Dokuya ulaşıldığında 4 µm kalınlığında kesitler alınmaya başlandı. Her 4 µm kalınlığında alından kesitten sonra, 20 µm trim yapılarak dokunun farklı alanlarının da taranabilmesi amaçlandı. Her hayvandan, 5 adet hematoksilin-eozin boyama için, 5 adet pikro sirius kırmızısı boyama için toplamda 10 lam olacak şekilde kesit alındı. Her lam içerisinde 3 doku kesiti bulunması sebebiyle, her hayvan için 10x3 kesit alınmış oldu. Tüm hayvanlardan kesitler alındıktan sonra boyama aşamasına geçildi.

3.11. Hematoksilin-Eozin Boyama

Hematoksilen-Eozin boyama yapılacak olan lamlar bir dizi işleminden geçirildi. İlk olarak kesitlerin olduğu lamlar, 55⁰-60⁰ Elektro-mag 5040BP marka etüvde 60 dakika bekletilerek, kesitlerin etrafında bulunan parafinlerin eritilmesi sağlandı. Sonrasında ise bir dizi ksilen işlemi yapılarak lam üzerinde kalan parafinlerin tamamen arındırılması amaçlandı. Boyama sepeti içerisine dizilen lamlar, soğuk ksilen 1'e alındı ve 15 dakika boyunca lamlar içerisinde bekletildi. Ardından soğuk ksilen 2'ye alınan lamlar 20 dakika süreyle bekletildi. Son olarak soğuk ksilen 3'e alınan lamlar 20 dakika bekletildi ve ksilen işlemleri bitmiş oldu. Ksilenden çıkarılan lamlar 5-10 saniye açık hava bekletildi ksilenin uçurulması amaçlandı. Ardından bir dizi alkol serisine tabii tutuldu. %96'lık alkole konulan lamlar 5 dakika bekletildi. Daha sonra ikinci %96'lık alkole konuldu ve burada da 5 dakika bekletildi. Ardından %80'lik alkole alındı ve burada da 5 dakika bekletildi. Son olarak %70'lik alkole alındı ve 5 dakika bekletildi. Alkol serisi burada bitmiş oldu ve hemen ardından distile suya konulan lamlar, 5 dakika sonra çıkarıldı. Hematoksilin boyasının içine alınan lamlar, 12 dakika bekletildi. Boya içinden çıkarılan lamlar, akarsu altında 5 dakika boyunca yıkandı ve fazla boyanın arındırılması amaçlandı. Akarsudan alınan lamlar asit-alkol karışımına daldırılıp çıkarıldı. Hemen ardından 3 dakika süreyle eozin boyasının içerisine alındı. Eozin içerisinden çıkarılan lamlar, %80'lik alkole daldırılıp çıkarıldı ve daha sonra %96'lık alkole daldırılıp çıkarıldı. 5-10 saniye süreyle

açık havada bekletilip alkolün uçurulması amaçlandı. Son adım olarak, ksilen 1'e alınıp 5 dakika bekletildi ve ardından ksilen 2'ye alınarak kapatma işlemine geçildi.

Tablo 4. Hematoksilen-Eozin Boyama

Hematoksilen-Eozin Boyama	Süre
Soğuk Ksilen-1	15 dakika
Soğuk Ksilen-2	20 dakika
Soğuk Ksilen-3	20 dakika
%96 Alkol	5 dakika
%96 Alkol	5 dakika
%80 Alkol	5 dakika
%70 Alkol	5 dakika
Distile su	5 dakika
Hematoksilen	12 dakika
Akarsu	5 dakika
Asit-alkol	Daldır-çıkart
Eozin	3 dakika
%80 Alkol	Daldır-çıkart
%96 Alkol	Daldır-çıkart
Ksilen-1	5 dakika
Ksilen-2	Kapatmadan önce

3.12. Pikro Sirius Kırmızısı Boyama

Picro Sirius Kırmızısı boyama yapılacak olan lamlar bir dizi işleminden geçirildi. İlk olarak kesitlerin olduğu lamlar, 55⁰-60⁰ etüvde 60 dakika bekletilerek, kesitlerin etrafında bulunan parafinlerin eritilmesi sağlandı. Sonrasında ise bir dizi ksilen işlemi yapılarak lam üzerinde kalan parafinlerin tamamen arındırılması amaçlandı. Boyama sepeti içerisine dizilen lamlar, soğuk ksilen 1'e alındı ve 15 dakika boyunca lamlar içerisinde bekletildi. Ardından soğuk ksilen 2'ye alınan lamlar 20 dakika süreyle bekletildi. Son

olarak soğuk ksilen 3'e alınan lamalar 20 dakika bekletildi ve ksilen işlemleri bitmiş oldu. Ksilenden çıkarılan lamalar 5-10 saniye açık hava bekletildi ksilenin uçurulması amaçlandı. Ardından bir dizi alkol serisine tabii tutuldu. %96'lık alkole konulan lamalar 5 dakika bekletildi. Daha sonra ikinci %96'lık alkole konuldu ve burada da 5 dakika bekletildi. Ardından %80'lik alkole alındı ve burada da 5 dakika bekletildi. Son olarak %70'lik alkole alındı ve 5 dakika bekletildi. Alkol serisi burada bitmiş oldu ve hemen ardından distile suya konulan lamalar, 5 dakika sonra çıkarıldı. Distile sudan çıkarılan lamalar, 60 dakika boyunca picro sirius kırmızısı boyasına alındı. Bu süre sonunda çıkarılan lamalar, 2 kez asetik asite batırılıp çıkarıldı. Ardından kalan fazla boyalardan arındırılması için iki adımlı alkol dizisine geçildi ve %96'lık alkole batırılıp çıkarıldı. İkinci %96'lık alkole batırılıp çıkarıldıktan sonra ksilene alındı. Ksilen içerisindeyken kapatma işlemine başlandı.

Tablo 5. Picro Sirius Kırmızısı Boyama

Picro Sirius Kırmızısı Boyama	Süre
Soğuk Ksilen-1	15 dakika
Soğuk Ksilen-2	20 dakika
Soğuk Ksilen-3	20 dakika
%96 Alkol	5 dakika
%96 Alkol	5 dakika
%80 Alkol	5 dakika
%70 Alkol	5 dakika
Distile su	5 dakika
Picro Sirius Kırmızısı	60 dakika
Asetik Asit	2 kez daldır-çıkart
%96 Alkol	Daldır-çıkart
%96 Alkol	Daldır-çıkart
Ksilen	Kapatmadan önce

3.13. ALT-AST Analizi

Hazır alınan BT Lab deney kitiyle yapılmıştır. İlk olarak her kuyuya 100 µl numune eklenmiştir ve plaka kapatılmıştır. 37°C’de 90 dakika statik olarak inkübe edilmiştir. Ardından plakayı suya batırmadan iki kez yıkanmıştır. 100 µl biyotin-antikor çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plakayı kapatılıp 37°C’de 60 dakika statik olarak inkübe edilmiştir. Ardından plaka üç kez yıkanmıştır, bu işlemin her birinde plaka su içerisinde 1 dakika bekletilmiştir. 100 µl HRP-Streptavidin Konjugatı (SABC) çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka kapatılıp 37°C’de 30 dakika statik olarak inkübe edilmiştir. Ardından plaka 5 kez yıkanmıştır, bu işlemin her birinde plaka su içerisinde bir dakika bekletilmiştir. 0 µl TMB substrat solüsyonu eklenmiştir. Plaka kapatılıp 37°C’de 10-20 dakika statik olarak inkübe edilmiştir. 50 µl stop solüsyonu eklenmiştir ve 450 nm’de okunup hesaplaması yapılmıştır.

3.14. İstatistiksel Analiz

SPSS analiz programı kullanılarak yapıldı. Bu çalışmada, istatistiksel analizler SPSS 22 paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı olan istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma, medyan ve çeyreklikler) yanı sıra gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi testi veya Kruskal Wallis testi alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testi veya Dunns testi ikili grupların karşılaştırılmasında bağımsız örneklem t testi veya Mann Whitney U testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi, kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

3.15. METAVIR Skorlama

Karaciğer fibrozisinin derecelendirmesinin yapılması için METAVIR skorlama kullanılmaktadır. F0, fibrozis olmadığını göstermektedir. F1, köprüleşme olmadan, minimal yara izi olduğunu göstermektedir ve hafif ila orta derecede fibrozisi temsil etmektedir. F2, seyrek köprüleşme olduğunu, damarların etrafında skar oluşumunu göstermektedir ve önemli derecede fibrozisi temsil etmektedir. F3, çok sayıda köprüleşme olduğunu göstermektedir ve ileri derece fibrozisi temsil etmektedir. F4, ileri derecede skarlaşmayı ve siroz gelişimini temsil etmektedir (Resim 23.).

METAVIR scoring system		
Description	Fibrosis level (Stage)	Severity of fibrosis
No fibrosis/ No scarring	F0	
Portal tract fibrosis without septa formation / Minimal Scarring	F1	Mild to moderate fibrosis
Portal tract fibrosis with infrequent/rare septa formation (Scarring around vessels within the liver)	F2	Significant fibrosis
Numerous septa, but no cirrhosis (Bridging fibrosis)	F3	Severe/ advanced fibrosis
Cirrhosis/advanced scarring	F4	

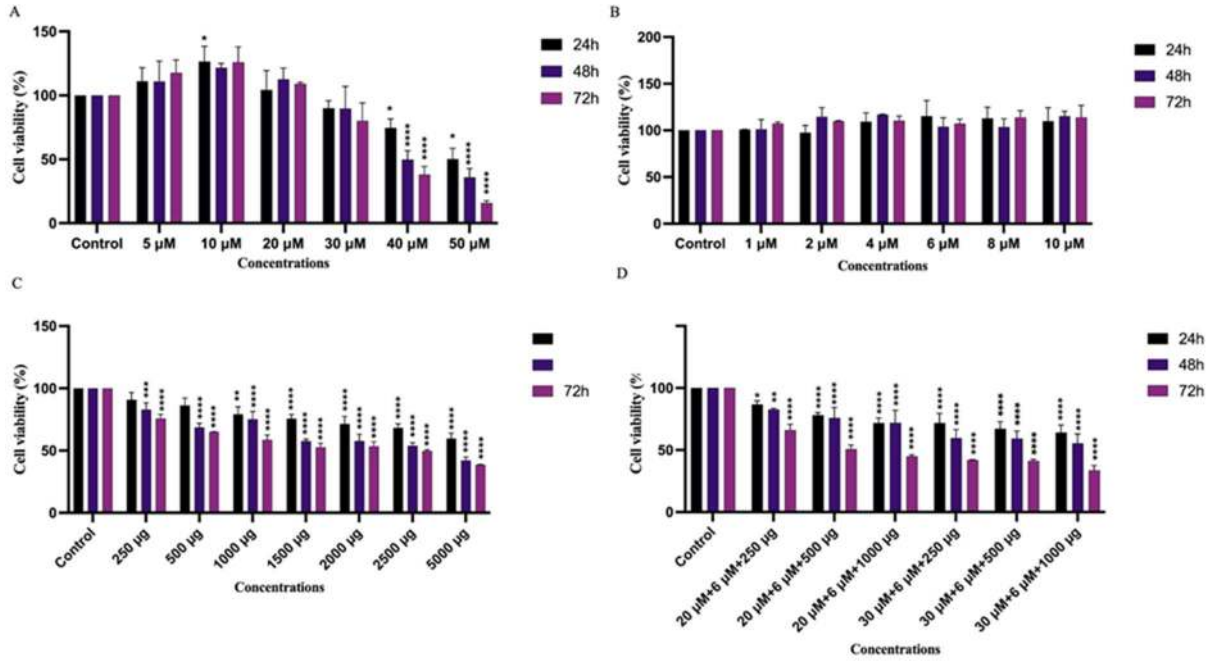
Resim 23. METAVIR skorlama

4. BULGULAR

4.1. Adipoz Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler

AK-MKH hücreleri, üçlü kombinasyonun etkili dozunu belirlemek için 24, 48 ve 72 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda kurkumin, NaB ve piperin ile muamele edildi. MTS hücre çoğalma testi, Cur, NaB, Pip'in tek başına veya Cur, NaB ve Pip kombinasyonunun hücre çoğalma etkilerini ölçmek için kullanıldı. Hücre canlılık yüzdesi, kontrol hücrelerine (Cur, NaB, Pip veya bunların kombinasyonu için muamele edilmemiş) göre hesaplandı.

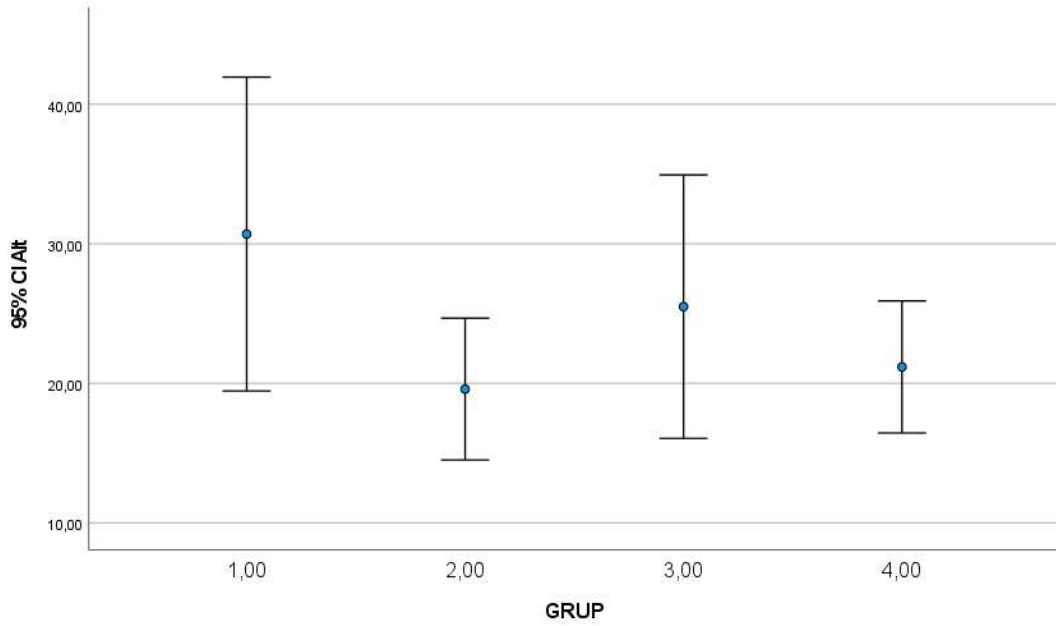
Cur ile muameleden sonra AKMKH'lerin hücre çoğalması Şekil A'da gösterilmektedir. Kurkumin, 30 μ M'den başlayarak belirgin bir sitotoksik etki göstermiş ve 48 ve 72 saatlik maruziyetten sonra 40 μ M ve 50 μ M'de hücre canlılığında önemli bir azalma gözlenmiştir. Ancak, AKMKH'lerin hücre çoğalması, daha düşük Cur konsantrasyonlarında (20, 10 ve 5) kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında 24, 48 ve 72. saatlerde arttı. Şekil B'de gösterildiği gibi, piperin tek başına, araştırılan dozların (1–10 μ M) veya maruz kalma sürelerinin hiçbirinde AKMKH hücre sağ kalımını önemli ölçüde etkilemedi ve bağımsız olarak verildiğinde hücre canlılığında artış gösterdi. Şekil C, tüm NaB konsantrasyonlarıyla tedavi edilen AKMKH hücrelerinin 24, 48 ve 72 saat boyunca hücre çoğalmasının önemli ölçüde azaldığını ortaya koymaktadır. 48 ve 72. saatlerde, kontrole kıyasla 1500 μ g'dan yüksek NaB konsantrasyonlarında AK-MKH'de yaklaşık %50'lik bir azalma gözlemlendi. Daha düşük NaB konsantrasyonları (250 mg ve 500 mg), 24 saatte AKMKH hücre çoğalmasında önemli olmayan bir azalma gösterdi. Şekil D, AKMKH hücrelerinin 24, 48 ve 72. saatlerde Kurkumin, piperin ve NaB ile kombine tedavisini göstermektedir. Sonuçlar, 250, 500 ve 1000 μ g NaB dozlarının 30 μ M + 6 μ M ile birlikte uygulanmasının, 24, 48 ve 72. saatlerde AKMKH hücrelerinde proliferasyonu önemli ölçüde engellediğini göstermektedir. 250, 500 ve 1000 μ g NaB konsantrasyonları, 20 μ M + 6 μ M ile birlikte uygulanması, 24, 48 ve 72. saatlerde hücre proliferasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Bununla birlikte, 20 μ M Cur, 6 μ M pip ve 250 μ g NaB kombinasyonu, 24 saat sonra AKMKH hücrelerinde hücre büyümesini önemli ölçüde azaltmamıştır. Bu sonuçlara dayanarak, 20 μ M Cur + 6 μ M Pip + 250 μ g NaB kombinasyonu, araştırmamızda fibrozis modeli olan hayvanlarda potansiyel kullanım için ASC hücrelerinin tedavisi için seçildi.



Şekil 1. Kurkumin, piperin, NaB veya kurkumin, piperin ve NaB kombinasyonunun AKMKH hücre hattının proliferasyonu üzerindeki etkisi. (A) Farklı kurkumin konsantrasyonları, (B) farklı piperin konsantrasyonları, (C) farklı NaB konsantrasyonları ve (D) farklı kurkumin, piperin ve NaB kombinasyonu konsantrasyonları. Kurkumin, piperin ve NaB, MTS testi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatte AKMKH hücrelerine uygulandı ve absorbans, bir mikro plaka okuyucu kullanılarak 490 nm'de ölçüldü. Veriler, üç farklı deneyden ($n = 3$) elde edilen ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuştur. Hücre canlılığı, tedavi edilmeyen kontrole (%100) göre standardize edilmiştir. İki yönlü ANOVA yürütülmüş ve ardından istatistiksel analiz için Tukey'in post hoc testi uygulanmıştır. Yıldızlar, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. (**** $P \leq 0,0001$, *** $P \leq 0,001$, ** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$).

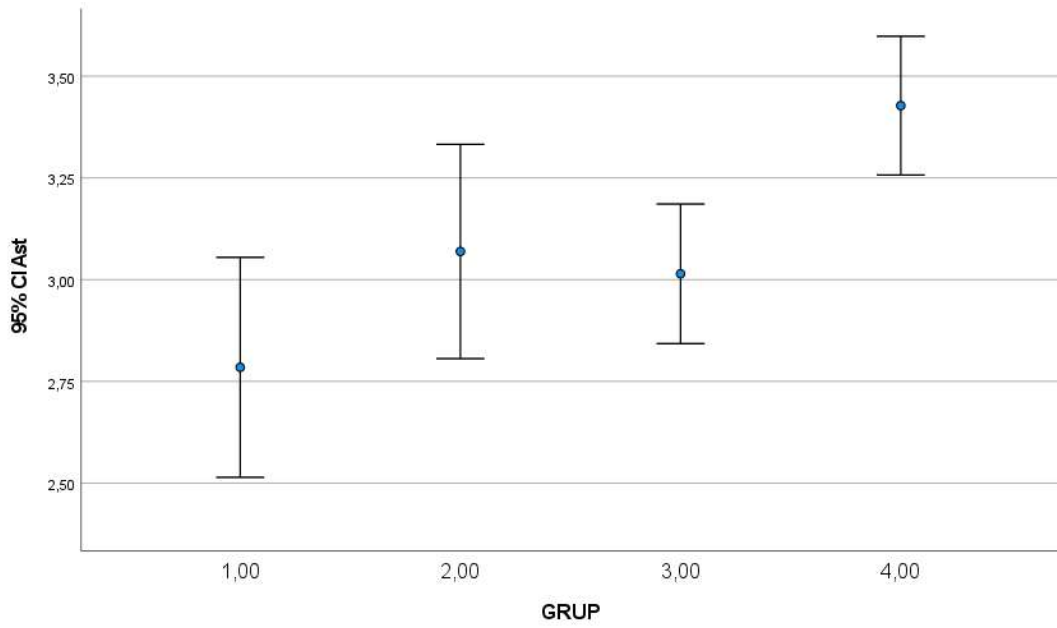
4.2. ALT-AST Analizi

Sakrifikasyon sonrası, serum alenin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) değerleri bakılmak üzere ELISA testi uygulandı. Gruplardaki hayvanlara ait serumdaki ALT ve AST konsantrasyonları IBM SPSS 27 Programında Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk normallik testleri ile değerlendirildi.



Şekil 2. ALT Konsantrasyon İstatistiği

ALT değerleri Kolmogorov Smirnov-Shapiro Wilk normallik testleri ile değerlendirildi. Sonuçların normal dağıldığı sonucuna ulaşıldı. Ardından One Way-ANOVA testi yürütüldü ve sonucunda p değeri 0,71 sonucuna ulaşıldı. $p < 0,05$ anlamlı farklılık olduğunu gösterirken, çalışma sonuçların gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığını göstermiştir.



Şekil 3. AST Konsantrasyon İstatistiği

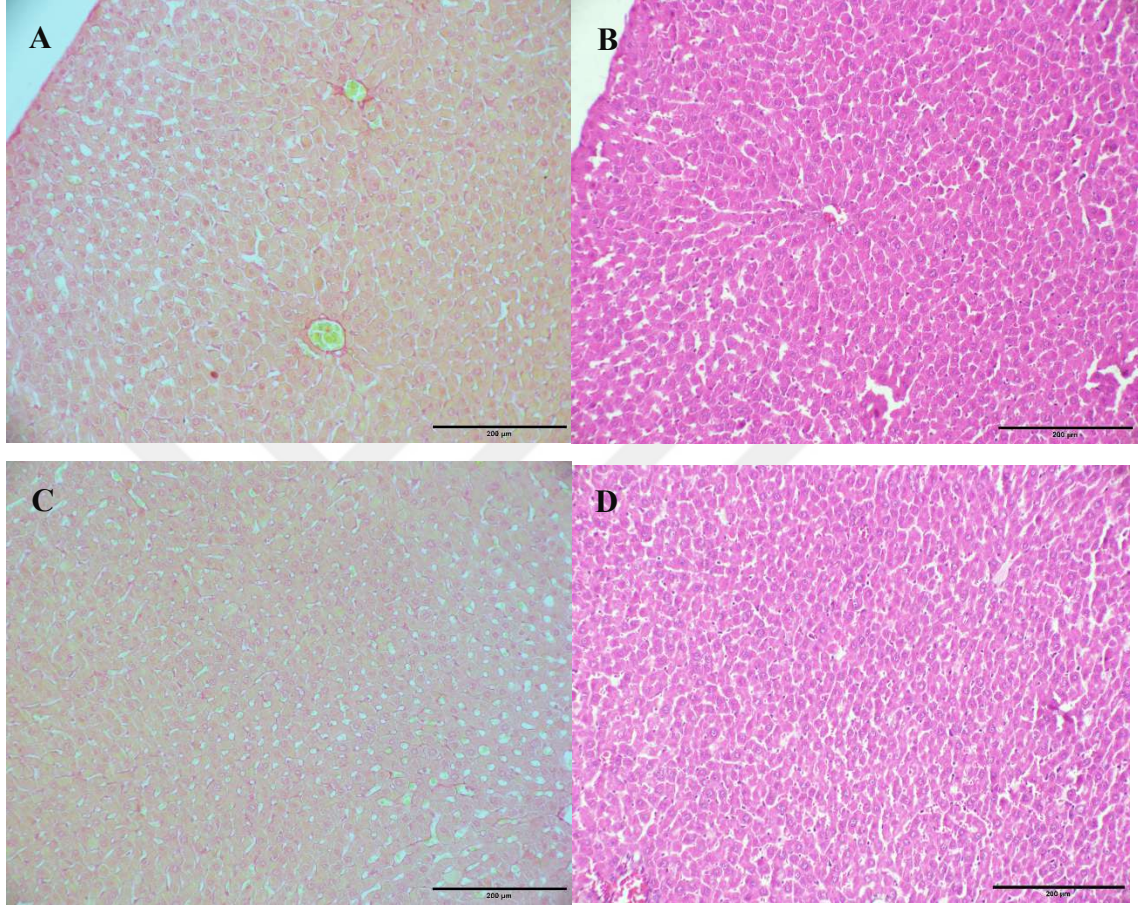
AST değerleri Kolmogorov Smirnov-Shapiro Wilk normallik testleri ile değerlendirildi. Normal dağılım olmadığı gözlemlendi. Bu sebeple Kruskal Wallis testi yürütüldü ve Games Howell testi uygulandı. Çıkan sonuçlarda, 4 gruptan en az 1 tanesinin anlamlı farklılık gösterdiği gözlemlenmiş oldu.

4.3. Sham Grubu Morfolojik Görüntüleri Değerlendirme

Sham kontrol grubunun morfolojik görüntüleri 20x büyütme ile çekilmiştir. Picro sirius kırmızısı ve Hematoksilen-eozin boyamaları yapılmıştır (Resim 24.).

PSR

HE

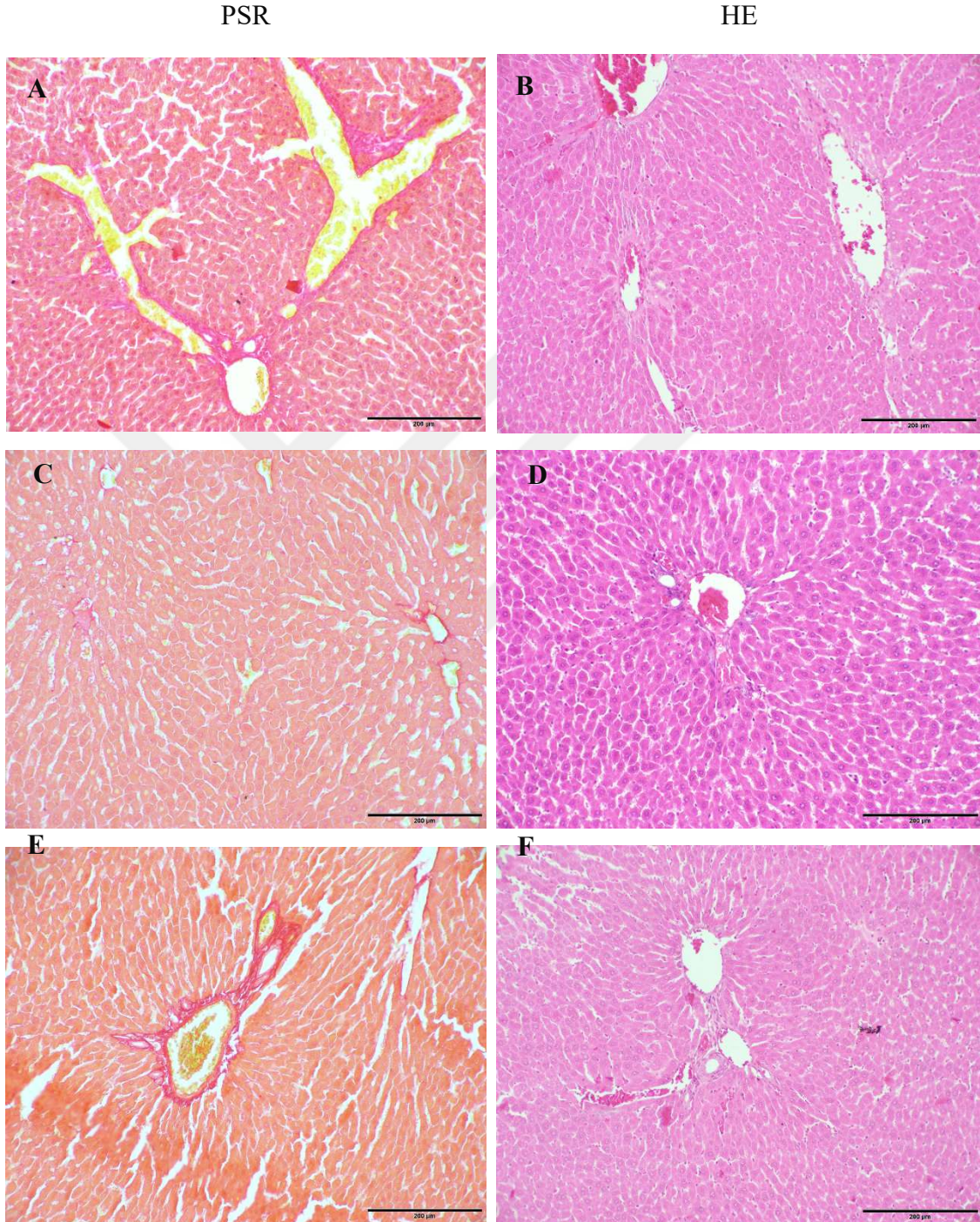


Resim 24. Sham Grubu Morfolojik Değerlendirme

A. PSR boyama kesit görüntülerinde portal alan ve santral ven görüntülerinde herhangi bir yapısal farklılık gözlenmemiştir. B. HE boyama kesit görüntülerinde portal alan ve santral ven görüntülerinde herhangi bir yapısal farklılık gözlenmemiştir. C. PSR boyama kesit görüntülerinde perisinüzoidal aralıklarda anormal bir genişlik gözlenmemiştir. D. HE boyama kesit görüntülerinde perisinüzoidal aralıklarda anormal bir genişlik gözlenmemiştir.

4.4. CCl₄ Grubu Morfolojik Olarak Değerlendirme

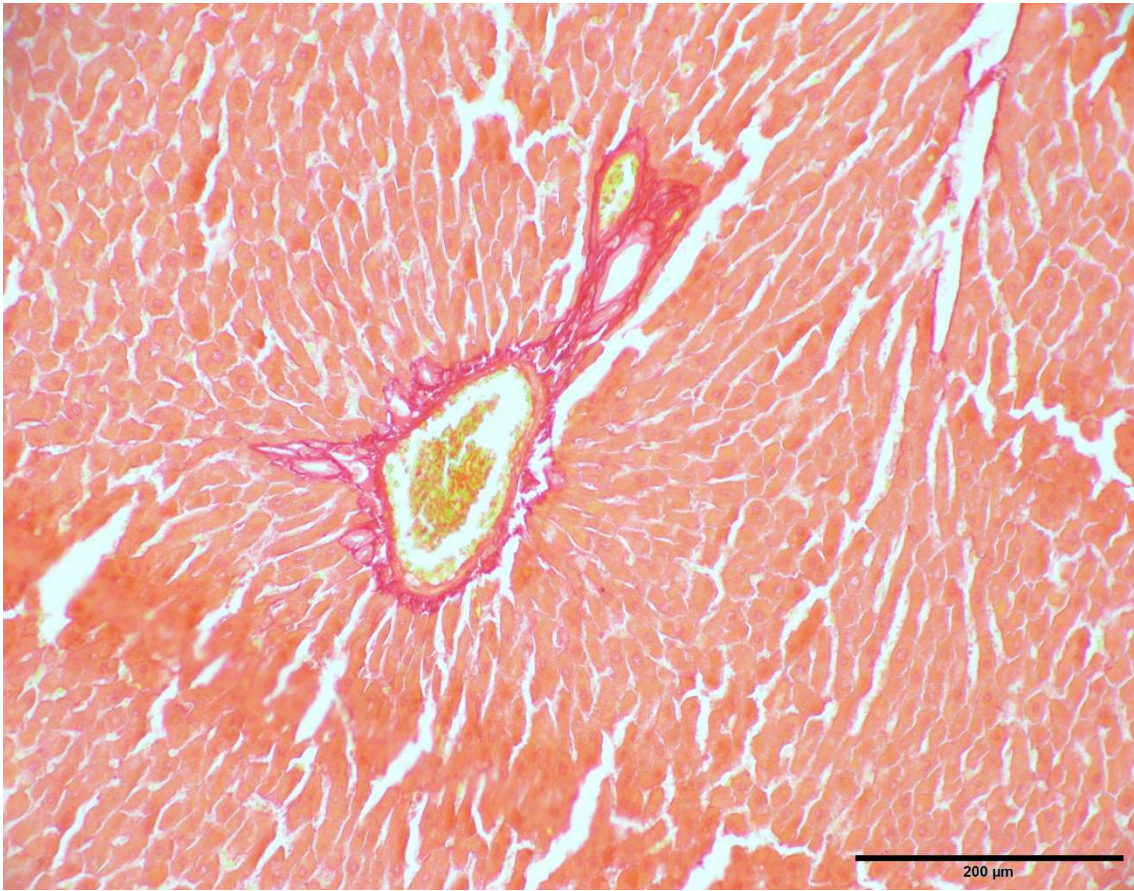
CCl₄ grubunun morfolojik görüntüleri 20x büyütme ile çekilmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 25.) (Resim 26.).



Resim 25. CCl₄ Grubu Morfolojik Değerlendirme

A. PSR boyama kesit görüntülerinde santral venlerin etrafında bağ doku artışı gözlenmiştir. Bununla birlikte santral venden portal triadlara doğru giden köprüleşme bağ

doku artışları gözlenmektedir. B. HE boyama kesit görüntülerinde santral ven etrafında bağ dokuda sinüzoidlerde genişlemeler gözlenmiştir. C. PSR boyama kesit görüntülerinde sinüzoidlerde genişlemeler gözlenmektedir. D. HE boyama kesit görüntülerinde hepatik sinüzoidlerinde genişlemeler gözlenmektedir. E. PSR boyama kesit görüntülerinde perisinüzoidal aralıkların daha yoğun (kırmızı) boyanması bu alanda kapillarizasyonun seyrini göstermektedir. F. HE boyama kesit görüntülerinde portal alanlardaki safra kanallarında artış gözlenmektedir.

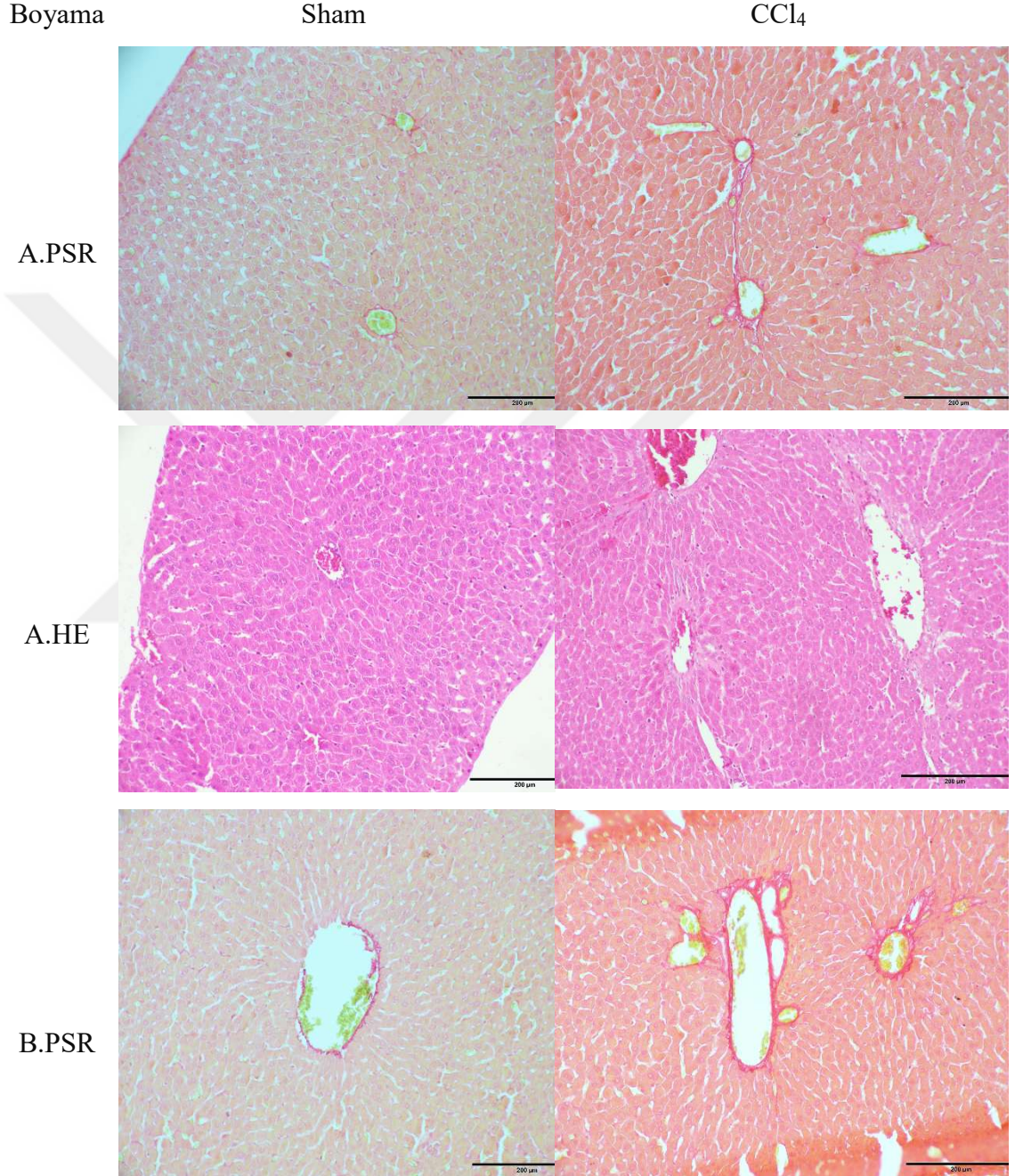


Resim 26. CCl₄ grubunda safra kanalı proliferasyonu

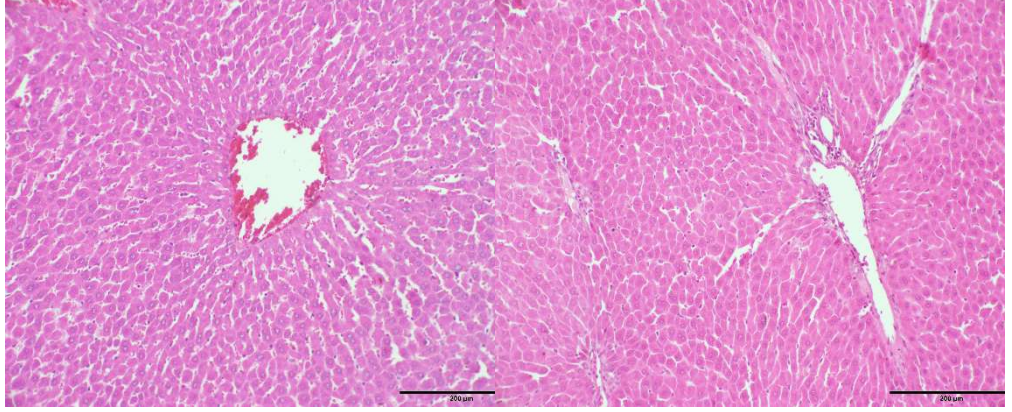
CCl₄ grubunda portal alanlardaki safra kanallarında proliferasyon gözlenmektedir.

4.5. Sham+CCl₄ Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

Sham grubu ve CCl₄ grupları arasındaki morfolojik değerlendirmelerin karşılaştırılması yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile çekilmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-eozin boyama yapılmıştır (Resim 27.).



B.HE

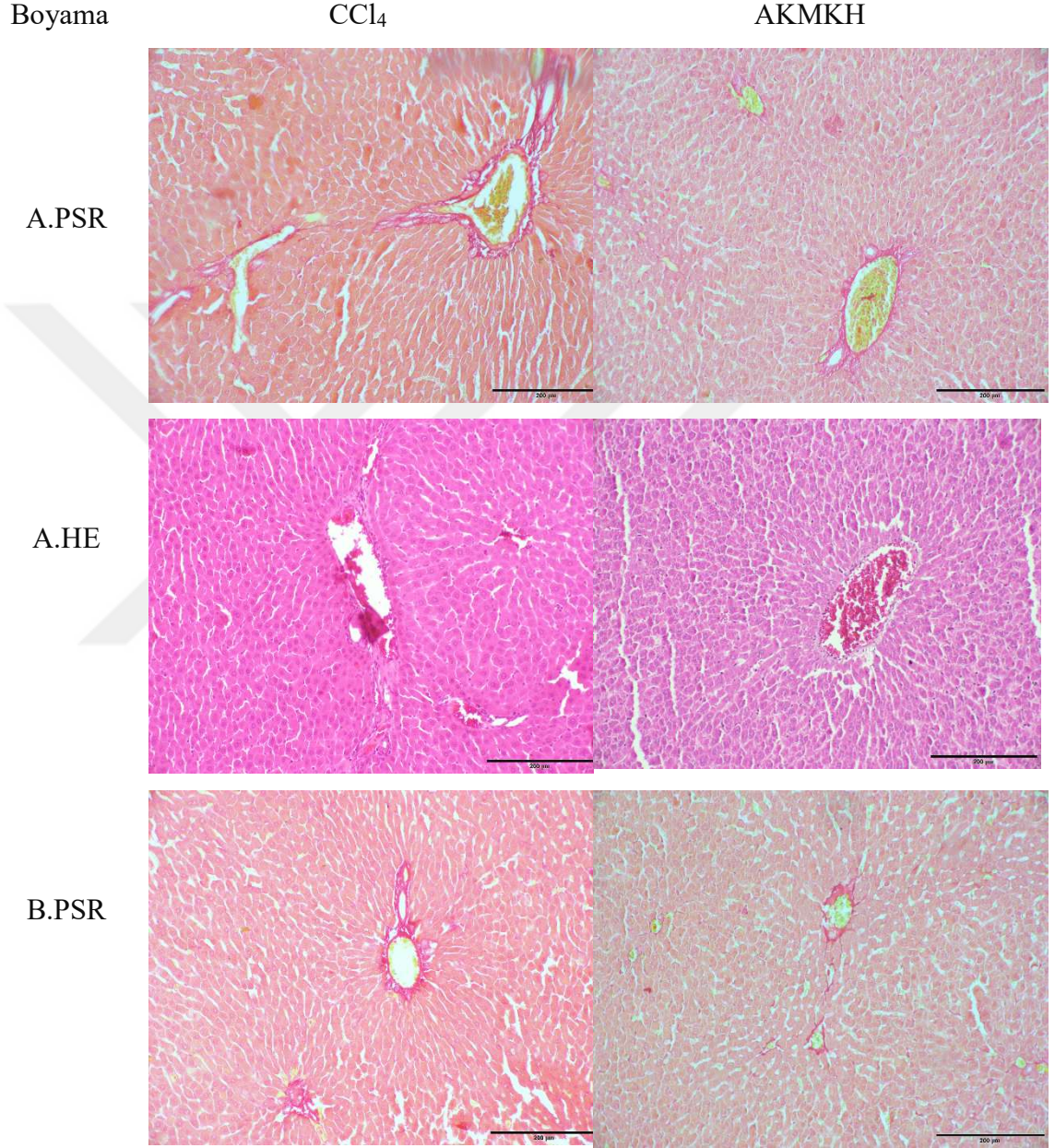


Resim 27. Sham+CCl₄ Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

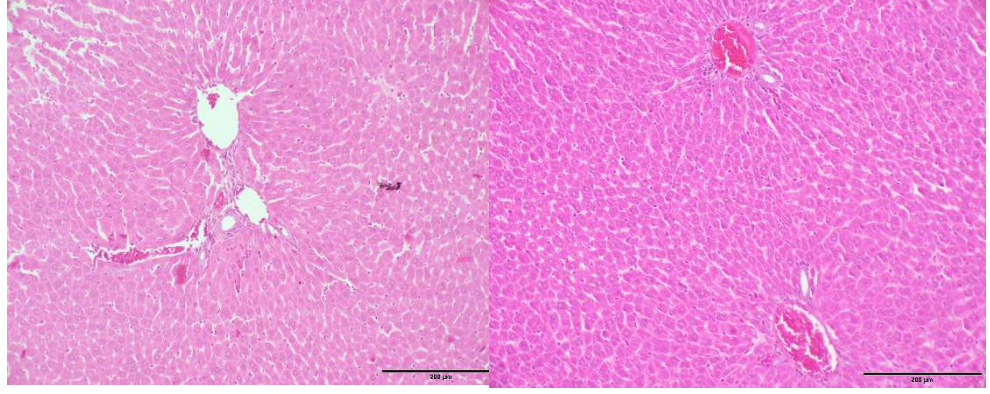
A.PSR boyama kesit görüntülerinde portal alanların ve sinüzoidlerin birbirinden farklılığı gözlenmektedir. Sham grubunda portal alanlar ve sinüzoidler normal bir morfolojiye sahipken, CCl₄ grubunda portal alanların etrafında artan kollajen lifleri portal alanlar arasında köprüleşme ile sonuçlanmıştır ve sinüzoidlerde gözlenmektedir. A.HE boyama sham grubunda portal alanlar ve sinüzoidler normal bir morfolojiye sahipken, CCl₄ grubunda portal alanların etrafında artan kolajen lifleri portal alanlar arasında köprü oluşmuştur ve sinüzoidlerde genişleme meydana gelmiştir. B.PSR boyama kesit görüntülerinde santral venler ve safra kanalı yapıları arasında farklılık gözlenmektedir. Sham grubunda santral ven ve safra kanalı normal bir morfolojiye sahipken, CCl₄ grubunda santral venin etrafında artan kolajen lifleri ve safra kanalı proliferasyonu gözlenmektedir. B.HE boyama kesit görüntülerinde santral venler ve safra kanalı yapıları arasında farklılık gözlenmektedir. Sham grubunda santral ven ve safra kanalı normal bir morfolojiye sahipken, CCl₄ grubunda santral venin etrafında artan bağ dokusu ve safra kanalı proliferasyonu gözlenmektedir.

4.6. CCl₄+AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

CCl₄ grubu ve AKMKH gruplarının morfolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 28.).



B.HE

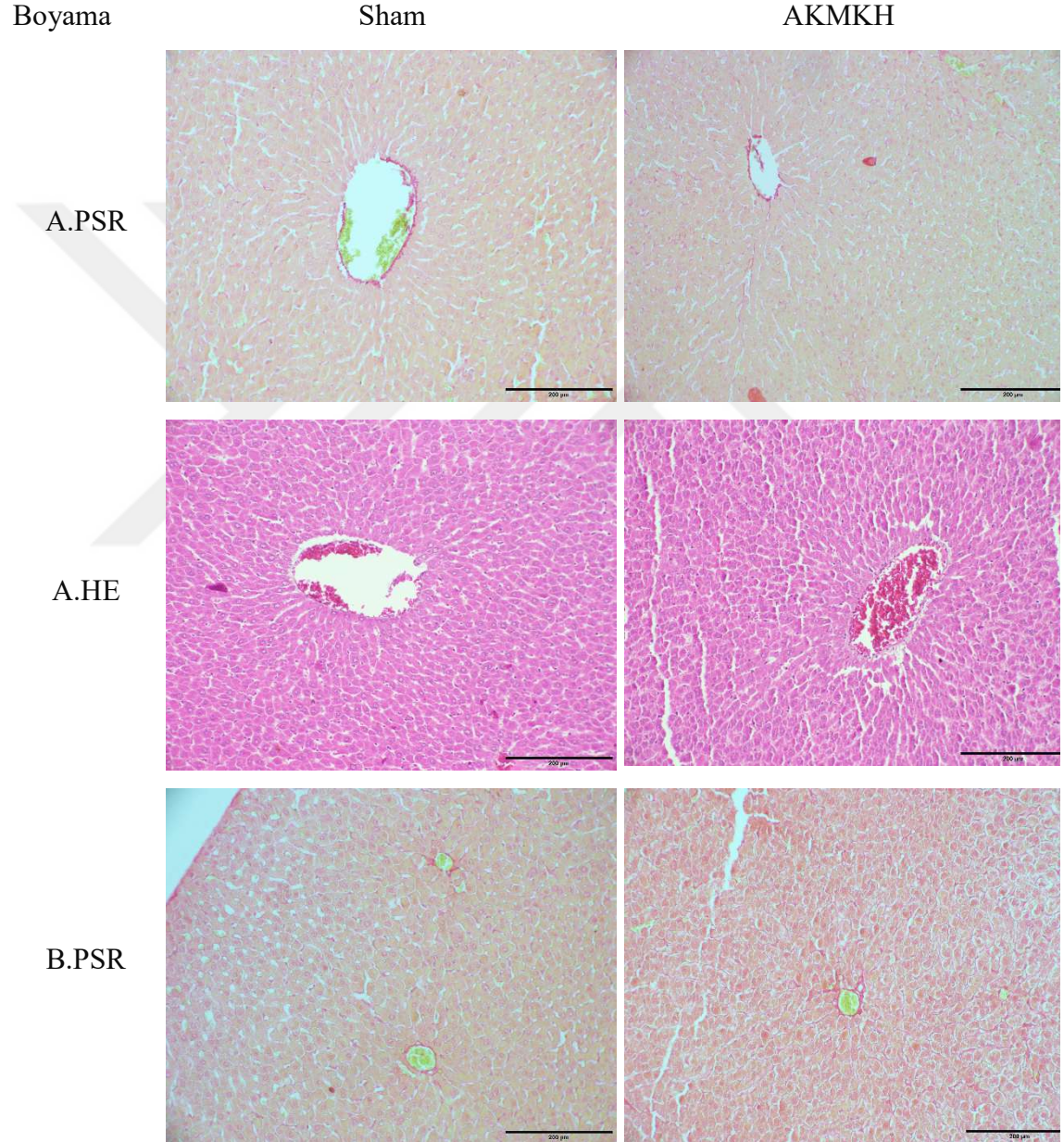


Resim 28. CCl₄+AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

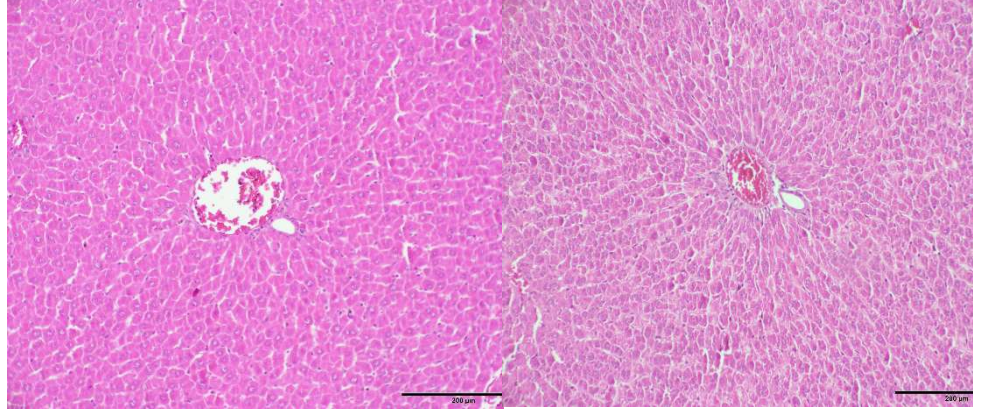
A.PSR boyamada CCl₄ grubunda santral ven ve portal alanların etrafında kolajen lif artışı ve buna bağlı olarak santral ven-portal alanlar, portal alanlar-portal alanlar arasında köprüleşmeler gözlenmektedir ve sinüzodilerde genişleme gözlenmiştir. AKMKH grubunda ise portal alanların etrafındaki kolajen liflerin azalışı gözlenmektedir ve sinüzoidlerde genişlemelerin normal-sağlıklı dokuya benzer olduğu gözlenmiştir. A.HE boyama kesit görüntülerinde portal alanların ve sinüzoidlerin birbirinden farklılığı gözlenmektedir. CCl₄ grubunda portal alanların etrafında artan bağ dokusu ve buna bağlı olarak köprüleşmeler gözlenirken ve sinüzoidlerde genişlemeler mevcutken, AKMKH grubunda portal alanların etrafındaki bağ doku azalışı gözlenmiştir ve sinüzoidlerin nispeten daraldığı gözlenmektedir. B.PSR boyamada CCl₄ grubunda santral venlerin etrafında artan kolajen lifleri ve safra kanalı proliferasyonu gözlenmektedir. AKMKH grubunda ise santral venlerin etrafındaki kolajen liflerin azaldığı ve safra kanallarının normal seyri gözlenmektedir. B.HE boyama kesit görüntülerinde santral venlerin ve safra kanalı sayısının birbirinden farklılığı gözlenmektedir. CCl₄ grubunda santral venlerin etrafında artan bağ dokusu ve safra kanalı proliferasyonu gözlenmektedir. AKMKH grubunda ise santral venlerin etrafındaki bağ dokusunun normal olduğu ve safra kanallarının normal seyri gözlenmektedir.

4.7. Sham+AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

Sham grubu ve AKMKH grupları arasında morfolojik değerlendirmenin karşılaştırılması yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 29.).



B.HE

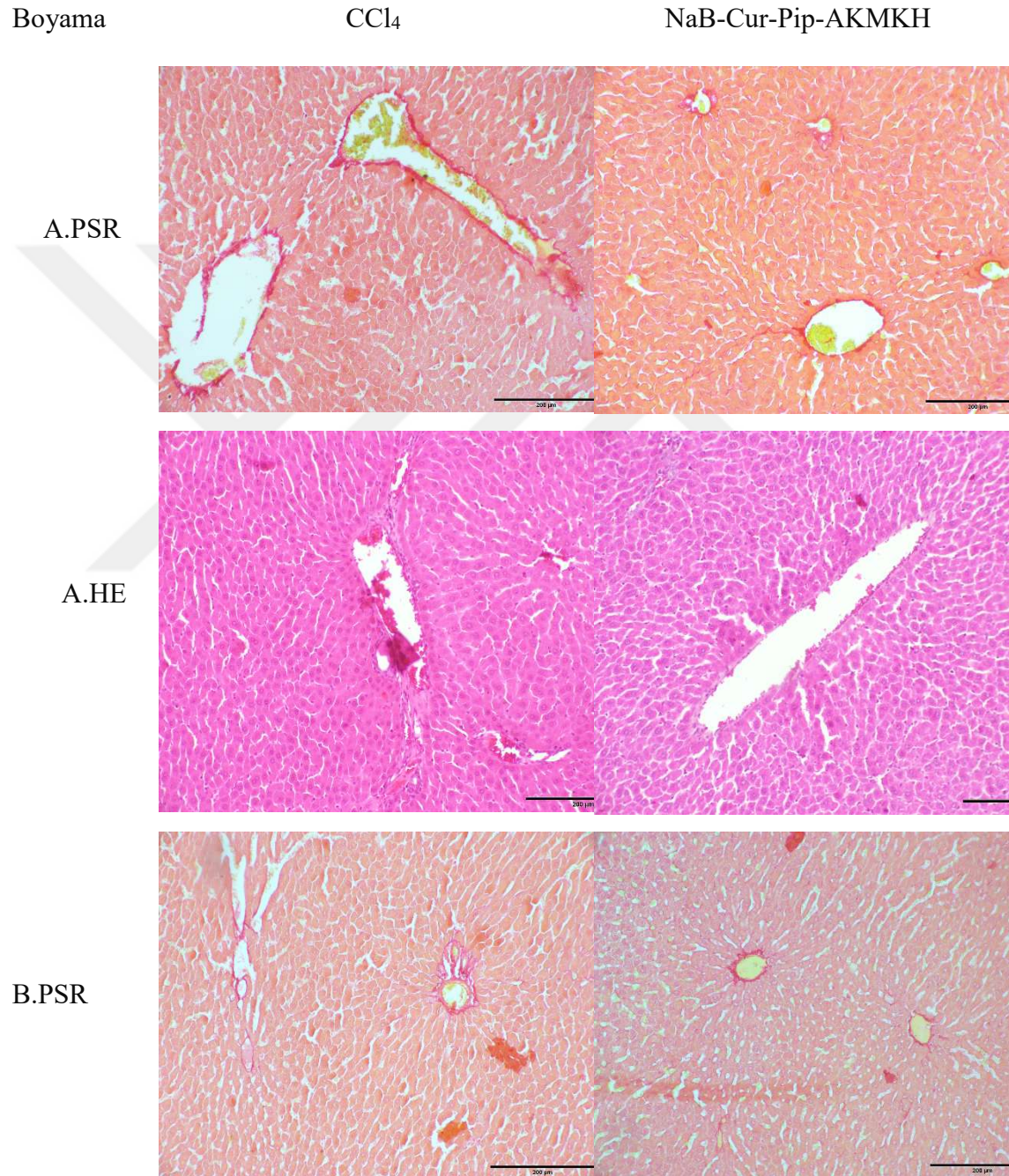


Resim 29. Sham+AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

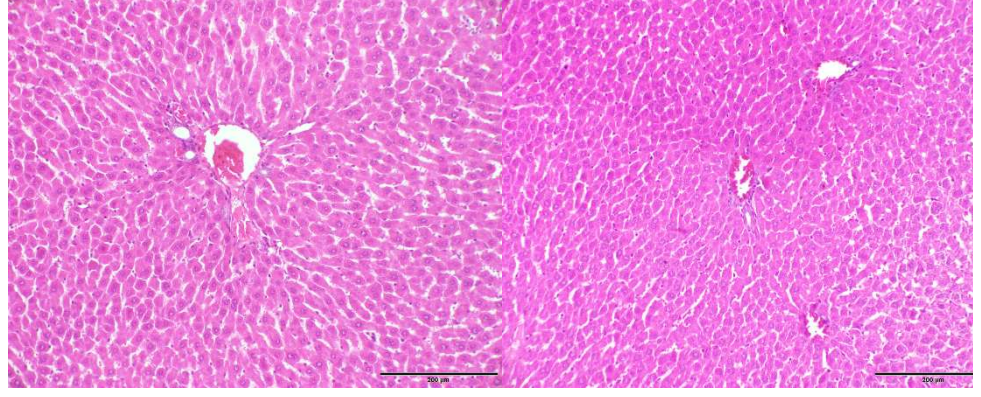
A.PSR boyama kesit görüntülerinde morfolojik değerlendirilmesi yapılmıştır. Sham grubunda normal morfolojiye sahip santral venler ile sinüzoidler gözlenmiştir. AKMKH grubunda ise santral venlerin sham grubundaki venlere nazaran ven etrafındaki kolajen liflerin daha fazla olduğu gözlenmektedir ve sinüzoidlerin sham grubuna benzer bir morfolojik görüntüsü olduğu gözlenmektedir. A.HE boyama kesit görüntülerinde santral venlerin ve sinüzoidlerin morfolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Sham grubunda normal morfolojiye sahip santral venler gözlenmektedir. AKMKH grubunda ise santral venlerin sham grubundaki venlere kıyasla ven etrafındaki bağ dokusunun daha fazla olduğu gözlenmektedir ve sinüzoidlerin sham grubuna benzer bir morfolojik görüntüsü olduğu gözlenmektedir. Buna ek olarak hepatositlerde granüler dejenerasyon meydana geldiği gözlenmektedir. B.PSR boyama kesit görüntülerinde portal alanların morfolojik karşılaştırması yapılmıştır. Sham grubunda normal morfolojiye sahip portal alanlar gözlenmektedir. AKMKH grubunda ise portal alanların sham grubundaki portal alanlara kıyasla portal alan etrafında daha fazla kolajen lif artışı gözlenmektedir. B.HE boyama kesit görüntülerinde portal alanların morfolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Sham grubunda normal morfolojiye sahip portal alanlar gözlenmektedir. AKMKH grubunda ise portal alanların sham grubundaki portal alanlara nazaran portal alan etrafında daha fazla bağ dokusu gözlenmektedir. Buna ek olarak hepatositlerde granüler dejenerasyon meydana geldiği gözlenmektedir.

4.8. CCl₄+NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

CCl₄ grubu ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubu arasında morfolojik değerlendirmenin karşılaştırması yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 30).



B.HE

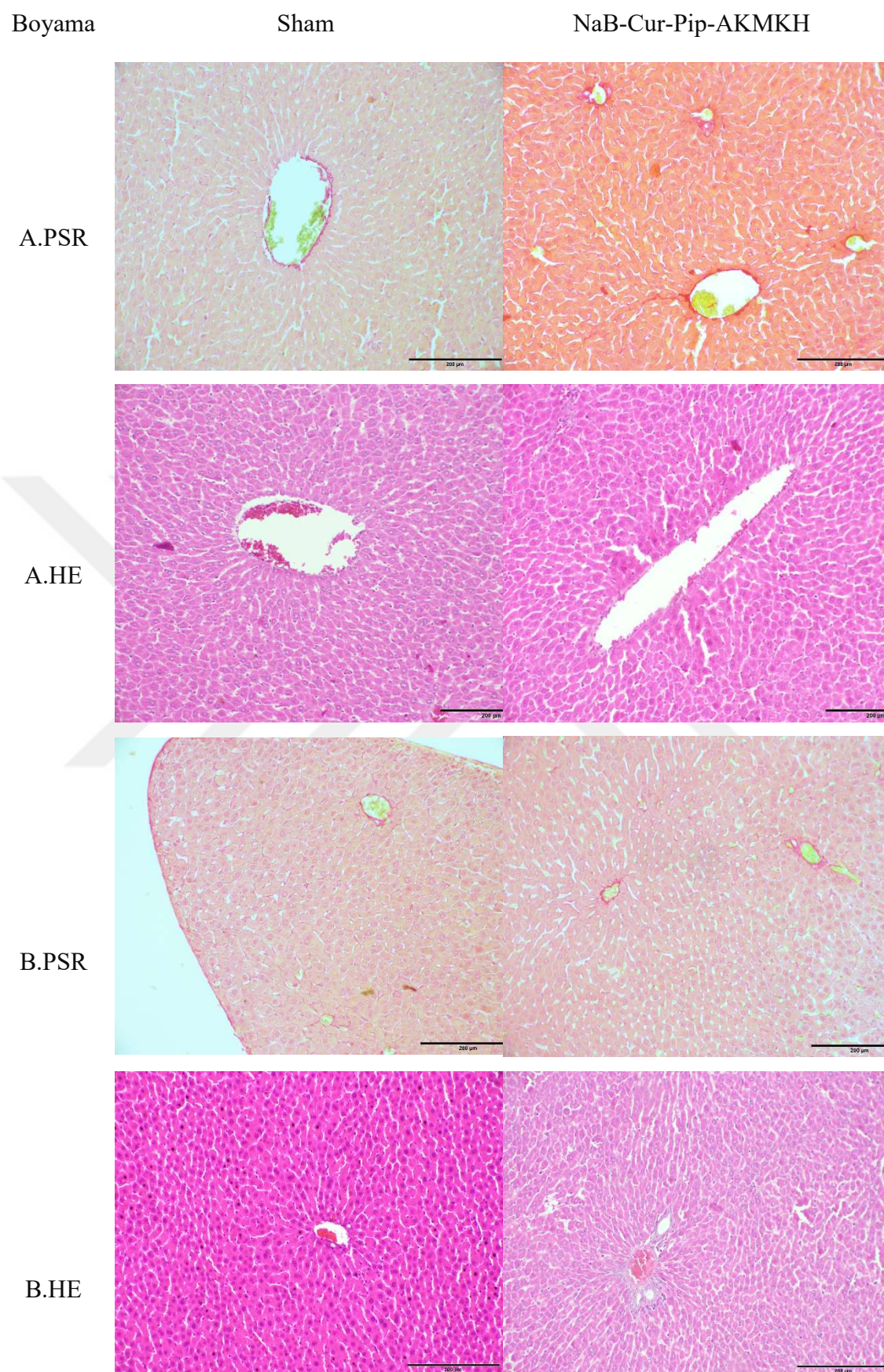


Resim 30. CCl₄+NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

A.PSR boyama kesit görüntülerinde karaciğerin morfolojik olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. CCl₄ grubunda santral venlerin etrafında kolajen lif artışı gözlenmektedir ve sinüzoidlerde genişlemeler gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise santral venlerin CCl₄ grubu ile benzer bir morfolojiye sahip olduğu gözlenmektedir ve sinüzoidlerin CCl₄ grubuna benzer bir morfolojiye sahip olduğu gözlenmektedir. A.HE boyama kesit görüntülerinde santral venlerin ve sinüzoidlerin morfolojik yapılarının karşılaştırılması yapılmıştır. CCl₄ grubunda santral venlerin etrafında bağ dokusu artışı gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise santral venlerin CCl₄ grubu ile benzer bir morfolojiye sahip olduğu gözlenmektedir ve sinüzoidlerin CCl₄ grubuna benzer bir morfolojiye sahip olduğu gözlenmektedir. B.PSR boyama kesit görüntülerinde kolajen lif artışına bakılmıştır. CCl₄ grubunda portal alanların etrafında kolajen birikimi ile birlikte safra kanallarında artış gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise CCl₄ grubuna benzer bir portal alan kolajen lif birikimi vardır. B.HE boyama kesit görüntülerinde portal alanların morfolojik yapılarının karşılaştırılması yapılmıştır. CCl₄ grubunda portal alanların etrafında bağ dokusunda artış ve safra kanalı artışı gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise CCl₄ grubuna benzer bir portal alan morfolojisi gözlenmektedir.

4.9. Sham+NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

Sham grubu ve NaB-Cur-Pip-AKMKH gruplarına ait kesit görüntülerinde morfolojik değerlendirme yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 31.).



Resim 31. Sham+NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

A.PSR boyama kesit görüntülerinde sham santral ven-portal alan ve sinüzoid yapıları normal olarak seyretmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise sham grubuna kıyasla santral ven etrafında kolajen lif artışı ve sinüzoidlerde genişlemeler gözlenmektedir. A.HE boyama kesit görüntülerinde santral venlerin morfolojik yapıları incelenmiştir. Sham grubunda santral ven ve sinüzoid morfolojilerinin normal olduğu gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise sham grubuna kıyasla santral ven etrafında bağ doku artışı ve sinüzodilerde genişlemeler gözlenmektedir. Buna ek olarak hepatositlerde granüler dejenerasyonlar gözlenmektedir. B.PSR boyama kesit görüntülerinde kolajen lif artışının değerlendirilmesi yapılmıştır. Sham grubunda portal alanlarda kolajen lifler normal seyrinde gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise sham grubuna kıyasla portal alanların etrafında kolajen lif birikimi gözlenirken ve safra kanalı artışı yaygın olarak gözlenmektedir. B.HE boyama kesit görüntülerinde morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Sham grubunda portal alanların normal (sağlıklı) morfolojik yapıları gözlenmektedir. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda ise sham grubuna kıyasla portal alanların etrafında bağ dokusu artışı ve safra kanalı artışı gözlenmektedir. Bunlara ek olarak hepatositlerde granüler dejenerasyon alanları gözlenmektedir.

4.10. AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

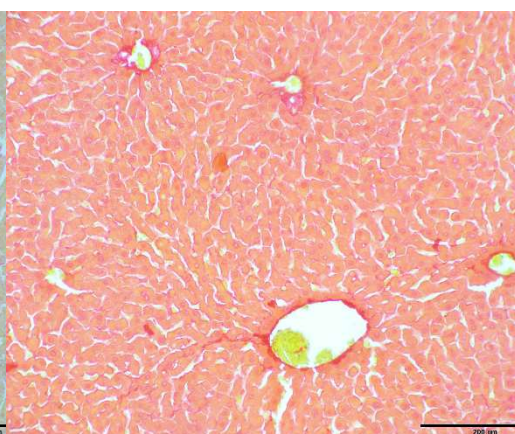
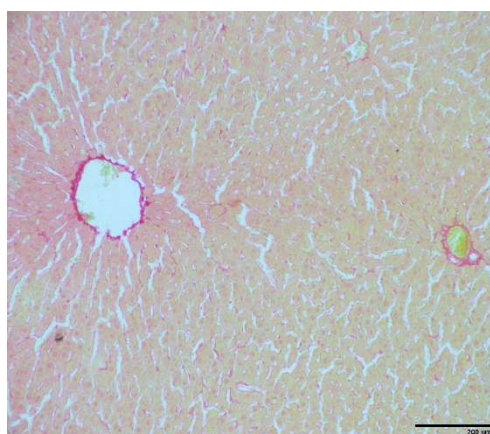
AKMKH grubu ile NaB-Cur-Pip-AKMKH grupları arasında morfolojik olarak değerlendirmenin karşılaştırılması yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyamaları yapılmıştır (Resim 32.).

Boyama

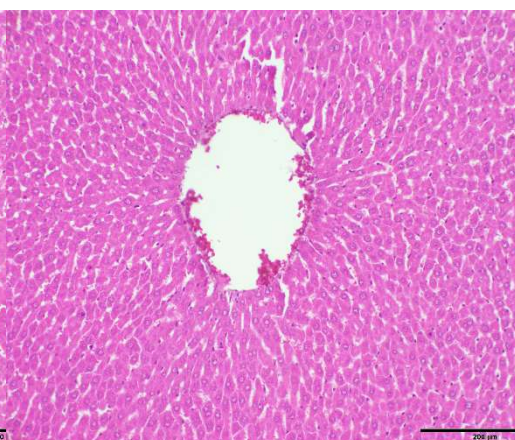
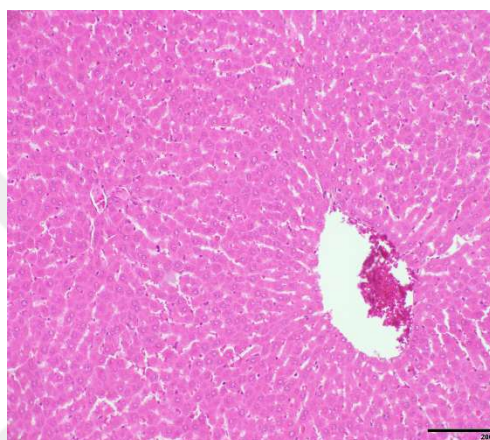
AKMKH

NaB-Cur-Pip-AKMKH

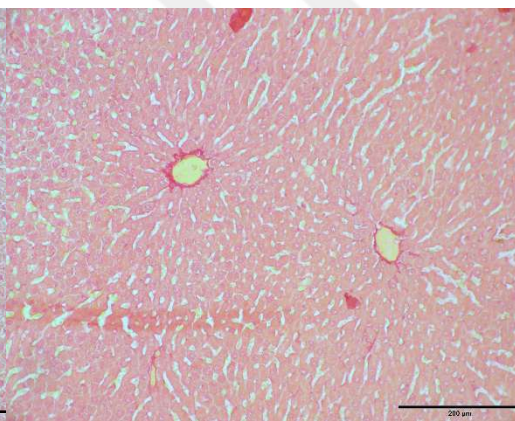
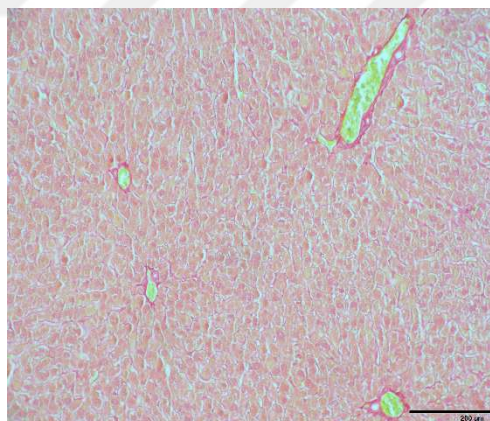
A.PSR



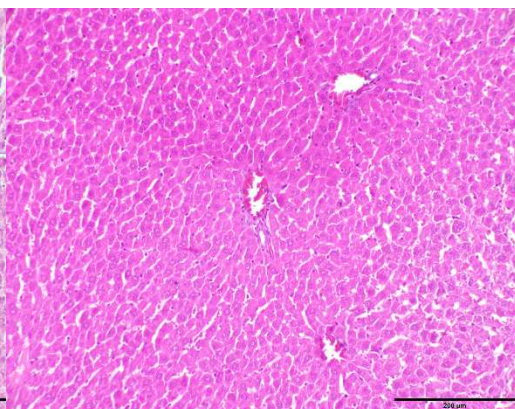
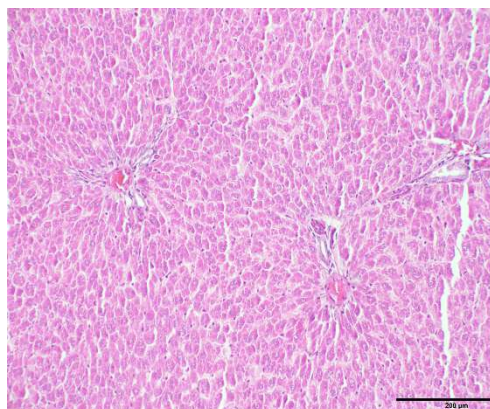
A.HE



B.PSR



B.HE

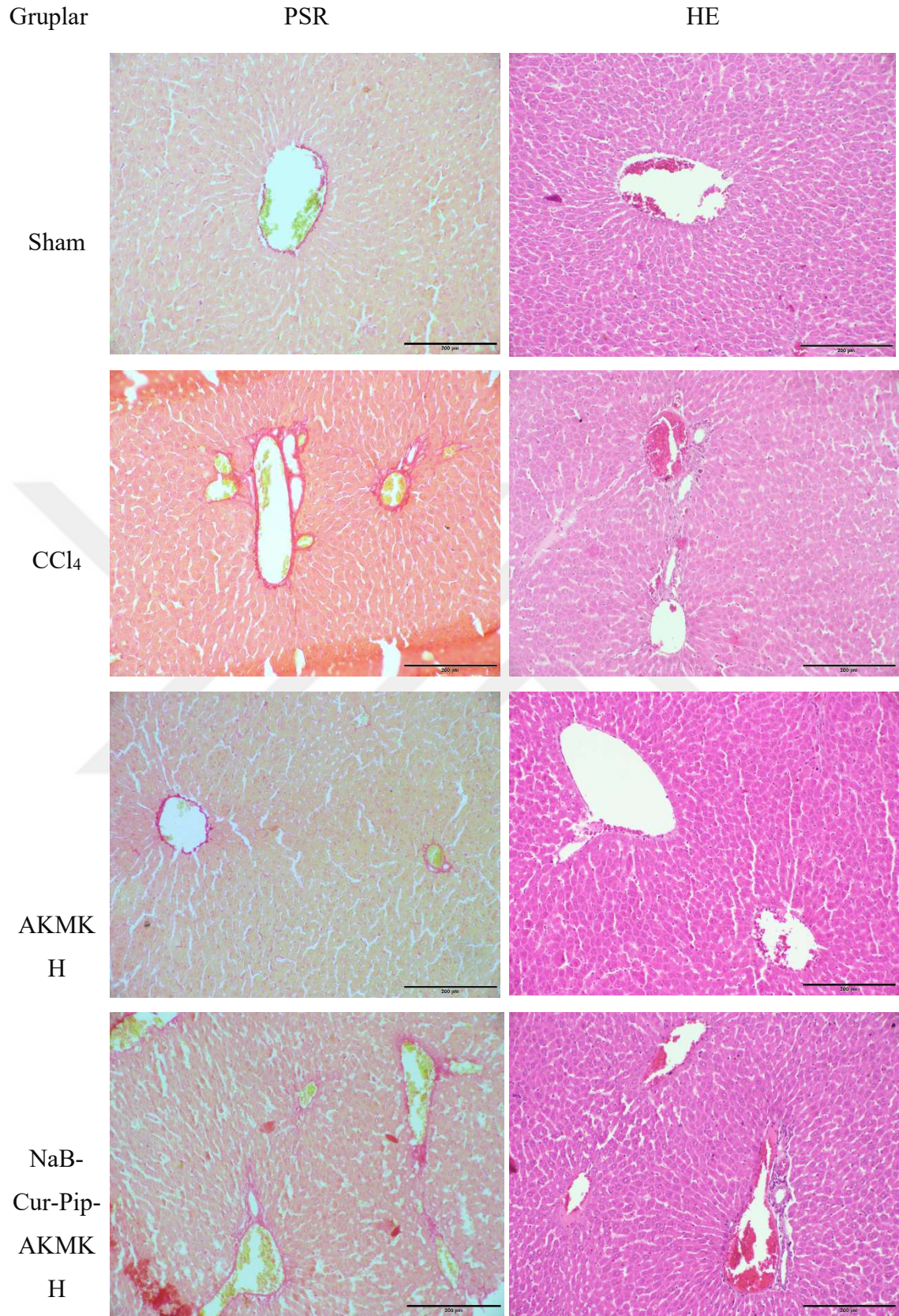


Resim 32. AKMKH ile NaB-Cur-Pip-AKMKH Gruplarının Morfolojik Olarak Değerlendirmesi

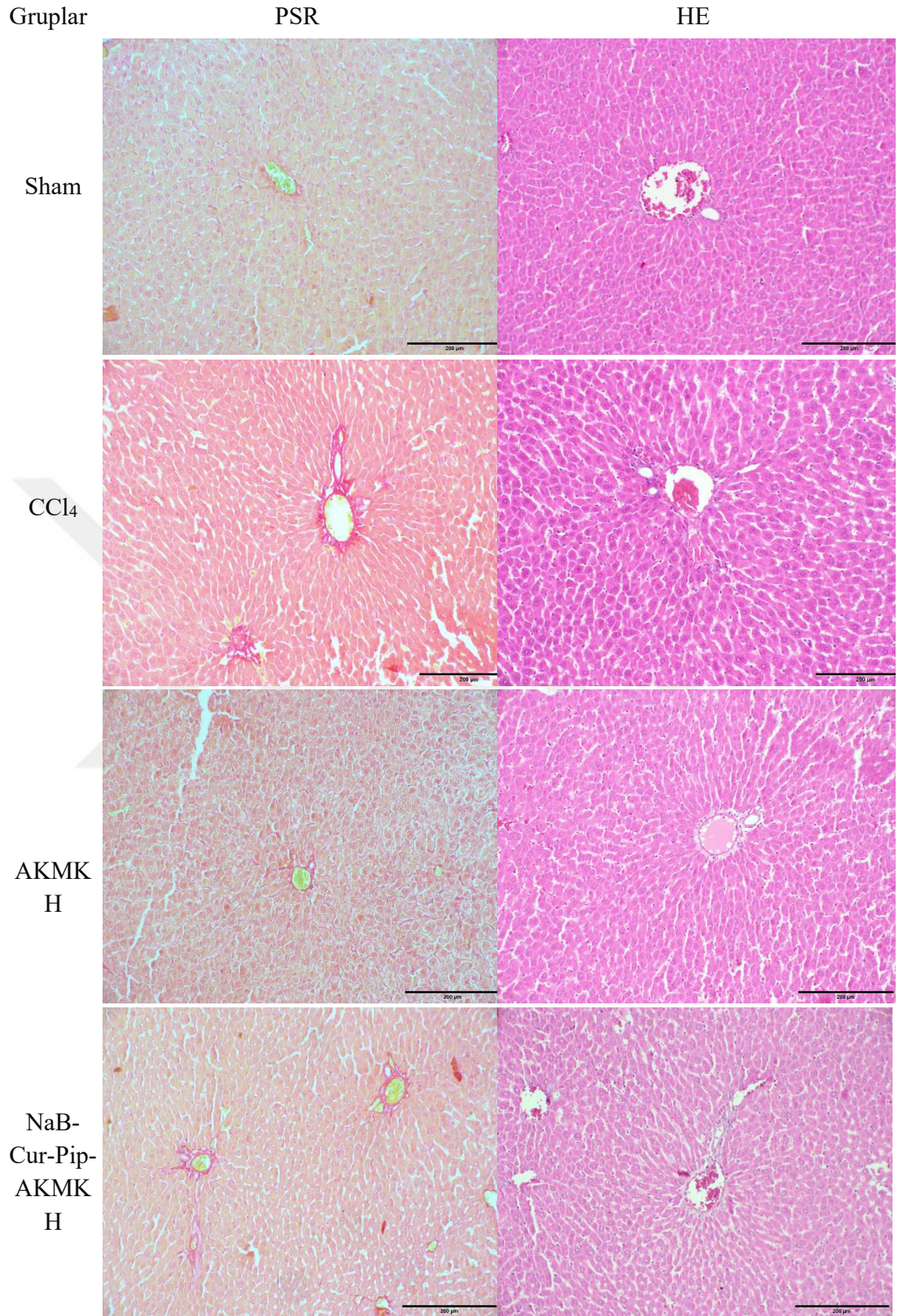
A.PSR boyama kesit görüntülerinde karaciğer dokusunda kolajen lif artışının değerlendirilmesi yapılmıştır. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda benzer santral ven morfolojileri gözlenmektedir. A.HE boyama kesit görüntülerinde santral venlerin morfolojik venlerinin yapılarının karşılaştırılması yapılmıştır. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH gruplarında bağ doku yoğunluğu benzerdir. B.PSR boyama kesit görüntülerinde portal alan ve sinüzoidlerin morfolojik karşılaştırılması yapılmıştır. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda benzer portal alanlar gözlenmektedir. AKMKH grubunda sinüzoidler daha dar gözlenirken, NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda sinüzoidlerin daha geniş olduğu gözlenmektedir. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda hepatositlerde granüler dejenerasyon gözlenmektedir. B.HE boyama boyama kesit görüntülerinde portal alan ve sinüzoidlerin morfolojik karşılaştırılması yapılmıştır. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda benzer portal alanlar gözlenmektedir. AKMKH grubunda sinüzoidler daha dar gözlenirken, NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda sinüzoidlerin daha geniş olduğu gözlenmektedir. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda hepatositlerde granüler dejenerasyon gözlenmektedir.

4.11. Sham+CCl₄+AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme

Sham grubu, CCl₄ grubu, AKMKH grubu ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grupları arasında morfolojik olarak karşılaştırma yapılmıştır. Resimler 20x büyütme ile çekilmiştir. Picro sirius kırmızısı boyama ve Hematoksilen-Eozin boyama yapılmıştır (Resim 33) (Resim 34.).



Resim 33. Sham+CCl₄+AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme



Resim 34. Sham+CCl₄+AKMKH+NaB-Cur-Pip-AKMKH Grupları Arasında Morfolojik Olarak Değerlendirme

4.12. METAVIR Skorlama

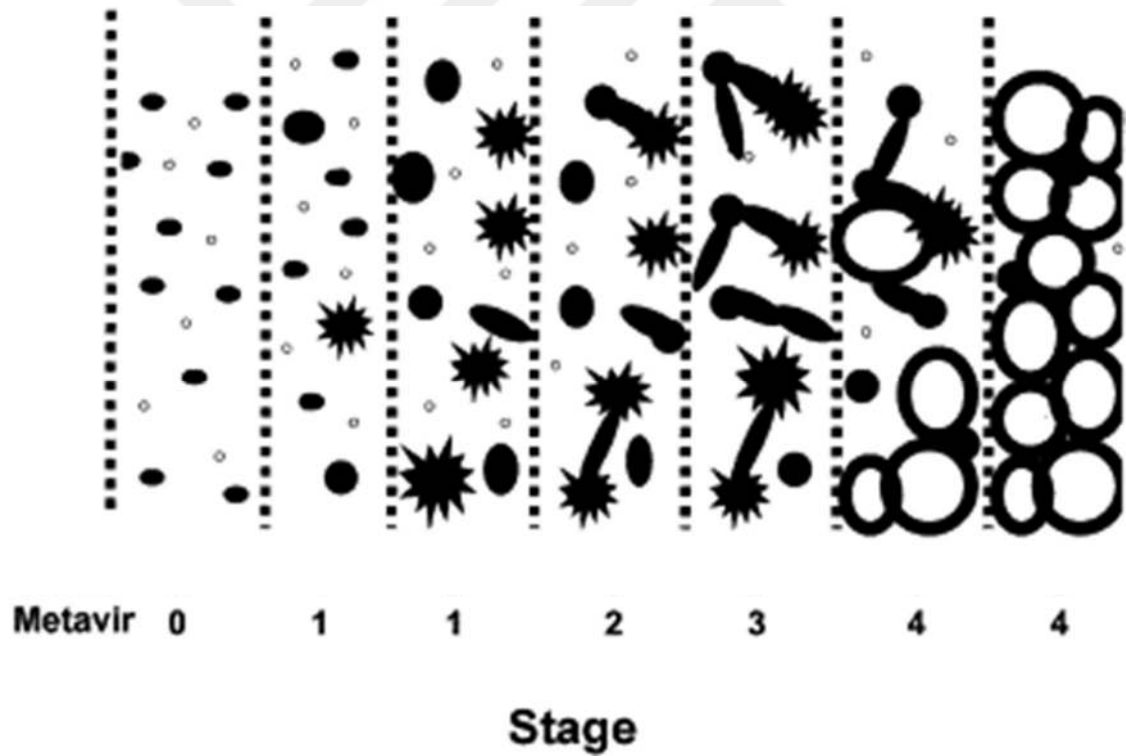
METAVIR skorlamalarının sonucuna göre,

Sham grubu, F0 düzeyinde skorlanmıştır. F0 karaciğerin normal morfolojiye sahip olduğunu ifade etmektedir.

CCl₄ grubunda F3 düzeyinde fibrozis görülmüştür. Çok sayıda köprüleşme oluşumu gözlenmektedir ancak siroz görülmemektedir. F3 ileri seviye fibrozisi ifade etmektedir.

AKMKH grubunda F2 düzeyinde fibrozis görülmüştür. Seyrek köprü oluşumu gözlenmektedir ve venlerin etrafında skar oluşumu gözlenmektedir. F2 önemli düzeyde fibrozisi ifade etmektedir.

NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda F2 düzeyinde fibrozis görülmüştür. Seyrek köprü oluşumu gözlenmektedir ve venlerin etrafında skar oluşumu gözlenmektedir. F2 önemli düzeyde fibrozisi ifade etmektedir (Resim 35.).



Resim 35. METAVIR Skorlama tablosu

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, yüksek konsantrasyonlarda kurkumin ve NaB kombinasyonunun hücrel strese neden olduğu ve dolayısıyla pelet oluşumunu azalttığını gözlemledik. Yapılan toksisite deneyleri sonrası 20 μ M kurkumin değerlendirilmiştir. Piperinin tek başına hücre canlılığını etkilememesi, birincil işlevinin doğrudan sitotoksik etkiler oluşturmaktan ziyade birlikte uygulanan bileşiklerin biyoyararlanımını ve hücrel alımını artırmak olduğunu gösteren önceki araştırmaları destekliyordu (39). Önceki çalışmamızda, kurkumine piperin eklemenin biyoyararlanımını artırdığını gösterdik. Bu çalışmada, 6 μ M piperini kurkumin ve NaB ile birleştirdik (40). Sonuç olarak, 20 μ M kurkumin, 6 μ M piperin ve 250 μ g/mL NaB kombinasyonu, AKMKH modellerinde etkinlik ve kabul edilebilir sitotoksosite arasında bir denge sağlamaktadır. Bu çalışmada, sham grubu, CCl₄ grubu, AKMKH grubu ve NaB-Cur-Pip-AKMKH olmak üzere dört grup bulunmaktadır. Sham grubu hariç, diğer üç gruba CCl₄ ile karaciğer fibrozisi induklendi. Daha sonrasında, AKMKH ve NaB-Cur-Pip-AKMKH enjekte edilerek CCl₄ ile induklenmiş karaciğer fibrozisi üzerindeki etkilerine bakıldı.

Deneyisel çalışmalarda karbon tetraklorür (CCl₄), fibrozis oluşturmak amacıyla en sık kullanılan kimyasal hepatotoksik ajanlardan biridir. CCl₄, karaciğerde sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) enzimi aracılığıyla metabolize edilerek triklormetil (CCl₃•) ve triklormetil peroksil (CCl₃OO•) radikallerine dönüşür. Bu reaktif ara ürünler, lipid peroksidasyonunu indükleyerek hepatosit membran hasarına, nekroza ve apoptoza yol açar (41). Hasar gören hepatositlerden salınan TGF- β 1, hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonunda temel fibrojenik medyatörlerden biridir. TGF- β 1, Smad2/3 proteinlerinin fosforilasyonunu uyararak kollajen I ve III gibi fibrotik genlerin ekspresyonunu artırır. Bununla birlikte MAPK ailesine ait ERK, JNK ve p38 yolları da TGF- β 1 ile sinerjistik biçimde çalışarak fibrozis sürecini güçlendirir (42). Damarların etrafındaki kolajenlerin hızla artışı ve karaciğer lobüllerinin yapısının tahrip olması karaciğer fibrozisinin karakteristik özelliğidir (43). Yapılan çalışmamızda, damarların etrafındaki kolajenin çok fazla arttığını ve lobüller arası bağ doku artışından dolayı karaciğer lobüllerinin tahrip olduğunu gözlemledik.

Aynı zamanda, karaciğer hasarı hepatosit proliferasyonunu tetiklerken, safra kanallarına verilen hasar kolanjiyosit genişlemesine neden olur. Safra kanalının da aldığı hasar sebebiyle, hasarlı hücrelerin yerini almak üzere kolanjiyositlerin çoğalmasını teşvik

etmektedir. Bu süreçte gözlenen duktüler reaksiyon (ductular reaction, DR), kolanjiyositlerin ve karaciğer progenitör hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması ve çevre hücrelerle parakrin etkileşimleriyle karakterizedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, duktüler reaksiyonun fibrogenezin pasif bir sonucu değil, fibrozisin aktif bir sürükleyicisi olduğunu göstermektedir (44, 45). Kolanjiyosit proliferasyonunun başlıca tetikleyicileri arasında TGF- β , Notch, Hedgehog (Hh), Wnt/ β -catenin ve IL-6/STAT3 sinyal yolları yer almaktadır. Karaciğer hasarı sonrası aktive olan bu yollar, kolanjiyositlerin fenotipini değiştirerek onların pro-inflamatuvar ve pro-fibrotik özellik kazanmasına neden olur. Özellikle Hedgehog sinyal yolunun aktivasyonu, kolanjiyositlerin proliferasyonunu artırırken, hepatik yıldız hücrelerinin (HSC) aktivasyonunu kolaylaştırarak fibrozis gelişimini hızlandırır (46). Benzer şekilde, Notch ve Wnt/ β -catenin sinyalleri de kolanjiyositlerin proliferatif kapasitesini artırmakta ve HSC'lerle olan parakrin iletişimi düzenlemektedir (47). Kolanjiyositler yalnızca çoğalmakla kalmaz, aynı zamanda çevre dokular üzerinde fibrojenik etkiler oluşturan mediatörler salgırlar. Bu hücreler tarafından salınan TGF- β 1, PDGF, CTGF, IL-6 ve CCL2 gibi faktörler, HSC aktivasyonunu uyurarak α -SMA ve kollajen tip I ekspresyonunu artırır (45). Ayrıca, kolanjiyositlerin salgıladığı eksozomlar ve mikroveziküller, HSC'lerde profibrojenik gen ekspresyonunu indükleyerek hücreler arası sinyal iletişimini güçlendirir (47). Bu parakrin etkileşim ağı, fibrozisin sürdürülmesinde kritik bir rol oynar. Çalışmamızda, sham grubu hariç, CCl₄ grubunda, AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda safra kanalı proliferasyonu gözlemlenmiştir. AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH gruplarında ise CCl₄ grubuna kıyasla daha az proliferasyon olduğu gözlemlenmiştir. Karaciğer fibrozisinde meydana gelen bir diğer patolojik bulgu ise, sinüzoidlerin fenestra kayıpları ve perisinüzoidal aralıkta artan kolajen lif birikimi ile kapillarizasyon durumunun seyretmesidir (48). Normal fizyolojide LSEC'ler fenestralı yapıları sayesinde hepatositlerle sinüzoidal kan arasındaki madde alışverişini kolaylaştırır. Ancak fibrozis sürecinde, oksidatif stres, inflamatuvar sitokinler ve TGF- β 1 gibi profibrojenik faktörlerin etkisiyle bu fenestrasyonlar kaybolur ve defenestrasyon gerçekleşir (49). Bu değişiklik, LSEC'lerin bazal membran benzeri laminin ve kolajen tip IV birikimini teşvik etmesine neden olur. Böylece sinüzoidler, histolojik olarak kapiller benzeri bir yapıya dönüşür (50). Bu morfolojik değişim yalnızca pasif bir sonuç değil, fibrogenezi aktif olarak hızlandıran bir mekanizmadır. Kapillarize LSEC'ler, hepatik yıldız hücreleri (HSC) ile olan parakrin iletişimini değiştirir. Normal koşullarda LSEC'ler, NO (nitrik oksit) ve hepatosit büyüme faktörü (HGF) gibi antifibrotik sinyaller salgılayarak

HSC'leri inaktif durumda tutar. Ancak defenestrasyon sonrası eNOS ekspresyonu azalır, NO üretimi düşer ve HSC'ler aktive edici sinyallere maruz kalır (51). Aktive olan HSC'ler ise α -SMA, TGF- β 1, ve kollajen tip I sentezini artırarak ECM birikimine neden olur ve böylece fibrozis süreci hızlanır. Kapillarizasyon ayrıca VEGF/VEGFR sinyal dengesinin bozulmasıyla da ilişkilidir. VEGF, fizyolojik koşullarda LSEC fenotipini korurken, kronik hasar koşullarında bu yolda dengesizlik oluşur. LSEC'lerde VEGFR2 ekspresyonunun azalması fenestrasyon kaybına katkıda bulunur (49). Ayrıca, TGF- β /Smad ve PDGF sinyal yolları endotel hücrelerde parsiyel endotel-mezenkimal geçiş (EndMT) benzeri değişiklikleri tetikleyerek ECM bileşenlerinin üretimini artırır (51). Çalışmamızda, CCl₄ grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH gruplarında daha yoğun bir sinüzoidal kapillarizasyon gözlenmiştir. AKMKH grubunda ise sinüzoidal kapillarizasyon gözlenmemiştir.

CCl₄'ün toksik etkileri arasında hepatositlerde granüler dejenerasyon da bulunmaktadır (52). Karaciğer fibrozisinde hepatositlerde sık olarak gözlenen granüler dejenerasyon, hücre hasarının erken ve geri dönüşebilir bir göstergesi olup, genellikle sitoplazmada ince veya kaba granüllerle karakterizedir. Bu granüller, hasar görmüş proteinlerin, mitokondriyal kalıntıların veya lizozomal materyalin birikimine işaret eder. Granüler dejenerasyonun gelişiminde birden fazla hücre stres mekanizması etkilidir ve bu mekanizmalar fibrozisin ilerlemesine doğrudan katkı sağlamaktadır (53). Hepatositlerde granüler dejenerasyonun temelinde öncelikle oksidatif stres yer almaktadır. CCl₄ gibi hepatotoksinler, sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla metabolize olurken triklorometil radikali (CCl₃•) ve reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturur. Bu serbest radikaller, lipid peroksidasyonu yoluyla hücre zarını ve organel bütünlüğünü bozar, özellikle mitokondri ve endoplazmik retikulum (ER) üzerinde hasara neden olur. Bu durum, protein katlanma bozukluklarını tetikler ve hücrede protein agregatları birikmeye başlar (54). Endoplazmik retikulum stresi (ER stress) ve buna yanıt olarak aktive olan katlanmamış protein yanıtı (UPR), granüler dejenerasyonun önemli bir bileşenidir. ER stresinin uzun süreli aktivasyonu, hücrede ubiquitin, p62 ve keratin birikimiyle sonuçlanır. Bu protein agregatları, histolojik olarak granüler görünüm oluşturur (55). Granüler dejenerasyon yalnızca morfolojik bir değişiklik değil, fibrojenizi aktif olarak destekleyen bir süreçtir. Dejenerasyona uğrayan hepatositler, çevre mikroçevreye TGF- β 1, IL-6, Hedgehog ligandları ve DAMP'lar gibi pro-fibrotik sinyaller salgılar. Bu sinyaller hepatik yıldız hücrelerini (HSC) aktive eder, α -SMA ekspresyonunu artırır ve ekstrasellüler matriks

(ECM) birikimini hızlandırır (56). CCl₄ grubunda, AKMKH grubunda ve NaB-Cur-Pip-AKMKH grubunda hepatositlerde granüler dejenerasyon gözlenmektedir.

Karaciğer fibrozisinde serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerindeki artış, hepatosellüler hasarın biyokimyasal göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu enzimler, normal koşullarda hepatositlerin sitoplazma ve mitokondrilerinde bulunur; hücre membran bütünlüğü bozulduğunda kana salınarak düzeyleri yükselir (57). Deneysel çalışmalarda, CCl₄ uygulaması sonrası bu enzimlerdeki artış, karaciğer hücrelerinde meydana gelen nekroz, apoptozis ve oksidatif stresin bir sonucu olarak değerlendirilir.

CCl₄, karaciğerde sitokrom P450 (özellikle CYP2E1) tarafından metabolize edilerek triklormetil (CCl₃•) ve triklormetil peroksil (CCl₃OO•) radikallerine dönüşür. Bu reaktif oksijen türleri hücre zarında lipid peroksidasyonuna yol açarak hepatosit membran bütünlüğünü bozar (47). Bunun sonucunda ALT ve AST enzimleri hücre dışına salınır ve serumda anlamlı düzeyde artar. Bu mekanizma, karaciğer fibrozisinin erken dönemlerinde gözlenen biyokimyasal bozulmanın temelini oluşturur (58). CCl₄ ile oluşturulan kronik fibrozis modellerinde genellikle ALT ve AST düzeylerinin belirgin artışı rapor edilmiştir. Bu artış, hepatositlerdeki hasarın yanı sıra mitokondriyal disfonksiyonun da bir göstergesidir. AST, mitokondri kaynaklı bir enzim olduğundan özellikle CCl₄ gibi mitokondri hedefli toksinlerle indüklenen hasarlarda ALT'ye göre daha fazla artış gösterebilir (57). Nitekim yapılan birçok çalışmada, CCl₄ uygulanan ratlarda AST artışının ALT'ye göre daha belirgin olduğu ve bu durumun mitokondriyal hasarın ciddiyetiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, fibrozisin ilerleyen evrelerinde ALT ve AST düzeylerinin azalabileceği de literatürde belirtilmektedir. Kronik süreçte fibrotik dokunun artması, hepatosit sayısında azalma ve enzim sentez kapasitesinin düşmesi nedeniyle serum enzim düzeyleri normal sınırlara yaklaşabilir (59). Bu nedenle, transaminaz düzeyleri karaciğer fibrozisinin ilerlemesini tek başına yansıtmaz; histopatolojik bulgularla birlikte değerlendirilmelidir. Yaptığımız çalışmada, ALT düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir. AST gruplarında ise en az bir grubun anlamlı farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Sham grubu ve NaB-Cur-Pip+AKMKH grupları arasında AST düzeyinde anlamlı bir farklılık vardır. AKMKH grubu ve NaB-Cur-Pip+AKMKH grupları arasında AST düzeyinde anlamlı bir farklılık vardır. Daha sonrasında yapılacak çalışmalarda, pre-op ALT ve AST değerleri ve post-op ALT ve AST değerleri arasında kıyaslama yapıldığında daha verimli sonuçlar alınabilir.

METAVIR skorlaması, karaciğer hasarının hangi seviyede olduğunu belirtmek için kullanılan bir skorlama sistemidir. F0 seviyesi, karaciğer hasarı olmadığını göstermektedir. F1 seviyesi, hafif ile orta seviye karaciğer fibrozisini göstermektedir. F2 seviyesi, önemli karaciğer fibrozis derecesini göstermektedir. F3 seviyesi, şiddetli ileri derece karaciğer fibrozisini göstermektedir. F4 seviyesi, ileri derece siroz meydana geldiğini göstermektedir (60). Yapılan çalışmamızda, sham grubu F0 derecesinde skorlandırılmıştır. CCl₄ ise F3 seviyesinde, yani şiddetli ileri derece karaciğer fibrozisi skorlaması yapılmıştır. AKMKH grubu F2 seviyesi, yani önemli karaciğer fibrozisi skorlaması yapılmıştır. NaB-Cur-Pip-AKMKH grubu ise F2 seviyesi, yani önemli karaciğer fibrozisi skorlaması yapılmıştır.

AKMKH grubu ve NaB-Cur-Pip AKMKH grubu aynı düzeyde karaciğer fibrozisi skorlaması gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçları göz önüne alınarak, daha sonra yapılacak çalışmalarda muamele edilen her madde için ayrı bir hayvan grubu oluşturarak enjeksiyon yapılması daha verimli sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Ghanem SS, Al-Barazengi T, Badi R, Abdelalim EM. Bridging pancreatic and hepatic development: overlapping genes and their role in diabetes. *Cellular & Molecular Biology Letters*. 2025;30(1):113.
2. Chavan R, Ligresti D, Baraldo S, Keane G, Kuo Y, Mamone G, Quintini D, Nabi Z, Rajput S, Tarantino I. A Station-wise Approach to Liver Anatomy for Linear Endoscopic Ultrasound. *VideoGIE*. 2025.
3. Erdem Koc G, Gokcimen A, Sahin F. The Effect of Boric Acid and Sodium Pentaborate Pentahydrate-Treated Foreskin Derived Mesenchymal Stem Cells on Liver Fibrosis. *Biol Trace Elem Res*. 2023;201(10):4834-4849.
4. Marei M, El-Nikhely N, Sheta E, Ragab H, Wahid A, Saeed H, Rostom SAF. Biochemical and Molecular Studies on the Role of Celecoxib and Some Related Bipyrazoles in Mitigating Induced Liver Injury in Experimental Animals. *Drug Des Devel Ther*. 2025;19:3857-3882.
5. Muns JA, Schooten E, van Dasselaar RDJ, Noordman YE, Adamzek K, Eibergen AC, Pronk SD, Cali S, Sijbrandi NJ, Merkul E, Oliveira S, van Bergen En Henegouwen PMP, Takkenberg RB, Verheij J, van de Graaf SFJ, Nijmeijer BA, van Dongen G. Preclinical targeting of liver fibrosis with a (89)Zr-labeled Fibrobody® directed against platelet derived growth factor receptor-β. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2024;51(12):3545-3558.
6. Hong Y, Geng S, Ao H, Fu M, Yang X, Cao G, Han Y. Paridis Rhizoma Saponins ameliorate CCl4-induced liver fibrosis via modulation of the Nrf2-HO-1/NQO-1 and TGF-β1/Smads signaling pathways. *Biochem Biophys Rep*. 2025;42:102040.
7. Xue W, Liu H, Su Z, Wang S, Cheng J, Pan Y, Zhang L. Qinggan Yipi capsule ameliorates hepatic fibrosis in rats by down-regulating the TGF-β1/Smad2/3 signaling pathway and improving gut microbiota imbalance. *Front Pharmacol*. 2025;16:1525914.
8. Zhang N, Niu W, Niu W, Li Y, Guo S, Li Y, He W, He H. Isovalerylspiramycin I alleviates liver injury and liver fibrosis by targeting the nucleotide-binding protein 2 (NUBP2)-vascular non-inflammatory molecule-1 (VNN1) pathway. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2025;15(3):101048.
9. Zhang L, Tao M, Zhang H, Zhang S, Hou X, Zong C, Sun G, Feng S, Yan H, Lu Y, Yang X, Wei L, Zhang L. Lipopolysaccharide modification enhances the inhibitory effect of clodronate liposomes on hepatic fibrosis by depletion of macrophages and hepatic stellate cells. *Chemico-Biological Interactions*. 2024;395:111015.
10. Didamoony MA, Soubh AA, Ahmed LA. Cutting-edge insights into liver fibrosis: advanced therapeutic strategies and future perspectives using engineered mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Drug Deliv Transl Res*. 2025;15(8):2608-2623.
11. Han X, Ning Y, Dou X, Wang Y, Shan Q, Shi K, Wang Z, Ding C, Hao M, Wang K, Peng M, Kuang H, Yang Q, Sang X, Cao G. Cornus officinalis with high pressure wine steaming enhanced anti-hepatic fibrosis: Possible through SIRT3-AMPK axis. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2024;14(5):100927.
12. Kumar H, Kimta N, Kapoor S, Nepovimova E, Chopra C, Suthar T, Ungai D, Béla K, Harsanyi E, Shaikh AM. Dietary antioxidants in mitigating carbon

- tetrachloride-induced hepatotoxicity: An integrative review of preclinical insights. *Journal of Functional Foods*. 2025;133:107020.
13. Haratizadeh S, Liu H, Li H, Adeli M, Ali AH. Biomaterials and cell-based therapy post spinal cord injury. *Journal of Translational Medicine*. 2025;23(1):1042.
 14. Li F, Xu W, Wu J, Zhang J, Wei X, Liao D. Advanced cell-derived drug delivery systems for pulmonary diseases: from bench to bedside. *Drug Deliv*. 2025;32(1):2564814.
 15. Şen Halıcıoğlu B, Tuğlu Mİ. Yağ doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin ve koşullu besiyerinin deneysel prematür over yetmezliği modeli üzerine etkileri. *Cukurova Medical Journal*. 2021;46(2):523-531.
 16. Jiang T, Su S, Tian R, Jiao Y, Zheng S, Liu T, Yu Y, Hua P, Cao X, Xing Y, Ni P, Wang R, Yu F, Wang J. Immunoregulatory orchestrations in osteoarthritis and mesenchymal stromal cells for therapy. *J Orthop Translat*. 2025;55:38-54.
 17. Liu P, Qian Y, Liu X, Zhu X, Zhang X, Lv Y, Xiang J. Immunomodulatory role of mesenchymal stem cell therapy in liver fibrosis. *Front Immunol*. 2022;13:1096402.
 18. Sun Y, Zhu M, Qiu L. Efficacy of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma therapies on wound healing: A Systematic Review and meta-analysis. *Regen Ther*. 2025;30:75-91.
 19. Bao L, Wang Z, Li L, Tang S, Zhao G, Zhang H, Zhang X. Mesenchymal stem cells in injury repair of vital organs: from mechanism to clinical application. *Am J Stem Cells*. 2025;14(2):53-72.
 20. Yang S, Liu J, Khe JS, Lu AJH, Lim V. Emerging insights into mesenchymal stem cells and exosome-based therapies for liver injury. *Biomol Biomed*. 2025;25(8):1691-1708.
 21. Bozorgi V, Babaahmadi M, Salehi M, Vafaeimanesh J, Hajizadeh-Saffar E. From signaling pathways to clinical trials: mesenchymal stem cells as multimodal regenerative architects in liver cirrhosis therapy. *Stem Cell Research & Therapy*. 2025;16(1):421.
 22. Baghaei H, Faegh A, Jahani S, Hekmati P, Majidi Zolbin M. Stem cell therapy for urethra and ureter tissue engineering: A systematic literature review on animal studies. *Regen Ther*. 2025;30:92-99.
 23. Zhao J, Xin S, Liu X, Shi W, Wang B, Wang H, Wang Y, Hua R, Li Y, Gao L, Lu X, Xu J. Multi-function of adipose-derived stem cells on gut disorder: from bench to bedside. *Stem Cell Res Ther*. 2025;16(1):444.
 24. Qin D, Huang P, Chen J, Wu C, Liang Y. The therapeutic potential of different mesenchymal stem cells and their derived exosomes in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2025;16:1558194.
 25. Khaliq H. Exploring the role of boron-containing compounds in biological systems: Potential applications and key challenges. *J Trace Elem Med Biol*. 2025;87:127594.
 26. Sentürk NB, Kasapoglu B, Sahin E, Ozcan O, Ozansoy M, Ozansoy MB, Siyah P, Sezerman U, Sahin F. The Potential Role of Boron in the Modulation of Gut Microbiota Composition: An In Vivo Pilot Study. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(10).
 27. Öztaş N, Kara E, Demir D, Yetkin D, Ceylan S, İyigündoğdu Z. Biologically active sodium pentaborate pentahydrate and *Hypericum perforatum* oil loaded polyvinyl alcohol: chitosan membranes. *Int J Biol Macromol*. 2024;269(Pt 2):132133.

28. Kuchta-Gładysz M, Wojciechowska-Puchałka J, Grzesiakowska-Dul A, Kmiecik M, Khachatryan K, Khachatryan G. The In Vitro Toxicity Profile of Nanoencapsulated Curcumin in a Chitosan-Alginate Gel Carrier Using Rabbit Lymphocytes: Preliminary Research. *Int J Mol Sci.* 2025;26(17).
29. Karimi M, Javadi M, Sharifi M, Valizadeh F, Karimi MA, Asbaghi O. Effects of Curcuminoids Plus Piperine Co-Supplementation on Liver Enzymes and Inflammation in Adults: A GRADE-Assessed Systematic Review and Meta-Analysis. *Food Sci Nutr.* 2025;13(7):e70588.
30. Ma K, Shen Y, Hu J, Li J, Zhang X. Curcumin as a therapeutic agent in liver cancer: a systematic review of preclinical models and mechanisms. *Eur J Med Res.* 2025;30(1):640.
31. Wu Z, Zhao Y, Wang Y, Li H, Xu F, Zhang W, Fu H, Yin L, Amevor FK, Lin J, Li D, Shu G. Investigating Protective Effect of Suspension of Paeoniflorin in Combination with Curcumin Against Acute Liver Injury Based on Inhibition of TLR4/NF- κ B/NLRP3 Inflammatory Pathway. *Int J Mol Sci.* 2025;26(13).
32. Fan Y, Yang C, Pan J, Ye W, Zhang J, Zeng R, Chen Z, Liu X. A new target for curcumin in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: the FTO protein. *Int J Biol Macromol.* 2025;319(Pt 3):145642.
33. Yaikwawong M, Jansarikit L, Jirawatnotai S, Chuengsamarn S. Curcumin for Inflammation Control in Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus and Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease: A Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 2025;17(12).
34. Chiu Y-H, Chou W-L, Ko M-C, Liao J-C, Huang T-H. Curcumin mitigates obesity-driven dysbiosis and liver steatosis while promoting browning and thermogenesis in white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 2025;143:109920.
35. Eldken ZH, Youssef OM, Khalil RM, Kassab AAM, Ramadan A, Sakr NH. Curcumin's dual effect on pyroptosis and autophagy in metabolic- associated fatty liver disease: a potential therapeutic strategy. *Scientific Reports.* 2025;15(1):34309.
36. Marati K, Palatheeya S, Chettupalli AK, Naik Bukke SP. Characterization and interactions between piperine and ezetimibe in their Anti-hyperlipidemic efficacy using Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2025;26(1):7.
37. Wei M, P LY, Li P, Hu J, Wu R, Ouyang Q, Guo K. Baolier Capsule's Secret Weapon: Piperine Boosts Cholesterol Excretion to Combat Atherosclerosis. *Drug Des Devel Ther.* 2024;18:6427-6446.
38. Shrestha A, Elliott S, Abasszade JH, Wu K, Worland T, Simpson I, Dev A. Drug-Induced Liver Injury Associated with Turmeric and Piperine: A Case and Review. *Case Rep Gastroenterol.* 2025;19(1):96-106.
39. Benayad S, Wahnou H, El Kebbij R, Liagre B, Sol V, Oudghiri M, Saad EM, Duval RE, Limami Y. The Promise of Piperine in Cancer Chemoprevention. *Cancers (Basel).* 2023;15(22).
40. Omeroglu Ulu Z, Degirmenci NS, Bolat ZB, Sahin F. Synergistic anti-cancer effect of sodium pentaborate pentahydrate, curcumin and piperine on hepatocellular carcinoma cells. *Sci Rep.* 2023;13(1):14404.
41. Dong S, Chen QL, Song YN, Sun Y, Wei B, Li XY, Hu YY, Liu P, Su SB. Mechanisms of CCl₄-induced liver fibrosis with combined transcriptomic and proteomic analysis. *J Toxicol Sci.* 2016;41(4):561-572.

42. Li X, Yao Y, Wei L. Indirubin alleviates CCl₄-induced liver fibrosis by regulation of TGF- β -mediated signaling pathways. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(9):1047-1052.
 43. Li X, Yang W, Weng Y, Zhao Y, Chen H, Chen Y, Qiu J, Jiang B, Li C, Lai Y. Scutellarin Alleviates CCl₄-Induced Liver Fibrosis by Regulating Intestinal Flora and PI3K/AKT Signaling Axis. *Int J Mol Sci.* 2025;26(7).
 44. Mavila N, Siraganahalli Eshwaraiah M, Kennedy J. Ductular Reactions in Liver Injury, Regeneration, and Disease Progression-An Overview. *Cells.* 2024;13(7).
 45. Marakovits C, Francis H. Unraveling the complexities of fibrosis and ductular reaction in liver disease: pathogenesis, mechanisms, and therapeutic insights. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2024;326(3):C698-c706.
 46. Hu Y, Bao X, Zhang Z, Chen L, Liang Y, Qu Y, Zhou Q, Zhou X, Fang J, Xiao Z, Fu Y, Yang H, Liu W, Lv Y, Cao H, Chen G, Ping J, Zhang H, Mu Y, Liu C, Lin CP, Wu J, Liu P, Chen J. Hepatic progenitor cell-originated ductular reaction facilitates liver fibrosis through activation of hedgehog signaling. *Theranostics.* 2024;14(6):2379-2395.
 47. Wang WL, Lian H, Liang Y, Ye Y, Tam PKH, Chen Y. Molecular Mechanisms of Fibrosis in Cholestatic Liver Diseases and Regenerative Medicine-Based Therapies. *Cells.* 2024;13(23).
 48. Qu J, Wang L, Li Y, Li X. Liver sinusoidal endothelial cell: An important yet often overlooked player in the liver fibrosis. *Clin Mol Hepatol.* 2024;30(3):303-325.
 49. McConnell MJ, Kostallari E, Ibrahim SH, Iwakiri Y. The evolving role of liver sinusoidal endothelial cells in liver health and disease. *Hepatology.* 2023;78(2):649-669.
 50. Gao J, Zuo B, He Y. Liver sinusoidal endothelial cells as potential drivers of liver fibrosis (Review). *Mol Med Rep.* 2024;29(3).
 51. Ruan B, Duan JL, Xu H, Tao KS, Han H, Dou GR, Wang L. Capillarized Liver Sinusoidal Endothelial Cells Undergo Partial Endothelial-Mesenchymal Transition to Actively Deposit Sinusoidal ECM in Liver Fibrosis. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:671081.
 52. Chang H, Meng H-y, Liu S-m, Wang Y, Yang X-x, Lu F, Wang H-y. Identification of key metabolic changes during liver fibrosis progression in rats using a urine and serum metabolomics approach. *Scientific Reports.* 2017;7(1):11433.
 53. Li YY, Zheng TL, Xiao SY, Wang P, Yang WJ, Jiang LL, Chen LL, Sha JC, Jin Y, Chen SD, Byrne CD, Targher G, Li JM, Zheng MH. Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: Dilemmas and future directions. *Liver Int.* 2023;43(6):1170-1182.
 54. Carvalho-Gontijo R, Han C, Zhang L, Zhang V, Hosseini M, Mekeel K, Schnabl B, Loomba R, Karin M, Brenner DA, Kisseleva T. Metabolic Injury of Hepatocytes Promotes Progression of NAFLD and AALD. *Semin Liver Dis.* 2022;42(3):233-249.
 55. Kurtovic E, Zubair M. Mallory Bodies. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC., 2025.
56. Zuñiga-Aguilar E, Ramírez-Fernández O. Fibrosis and hepatic regeneration mechanism. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2022;7:9.

57. Algefare AI, Alfwuaires M, Famurewa AC, Elsayy H, Sedky A. Geraniol prevents CCl₄-induced hepatotoxicity via suppression of hepatic oxidative stress, pro-inflammation and apoptosis in rats. *Toxicol Rep.* 2024;12:128-134.
58. Zhao Z, Hou Y, Zhou W, Keerthiga R, Fu A. Mitochondrial transplantation therapy inhibit carbon tetrachloride-induced liver injury through scavenging free radicals and protecting hepatocytes. *Bioeng Transl Med.* 2021;6(2):e10209.
59. Brol M, Drebber U, Luetkens J, Odenthal M, Trebicka J. “The pathogenesis of hepatic fibrosis: basic facts and clinical challenges”—assessment of liver fibrosis: a narrative review. *Digestive Medicine Research.* 2022;5:24-24.
60. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol.* 2007;47(4):598-607.



ÖZGEÇMİŞ

İlk ve ortaöğrenimimi Nizip’te tamamladım. 2017-2022 yılları arasında Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde öğrenim gördüm. 2022 yılında Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım. Yüksek lisans öğrenimim boyunca karaciğer fibrozisi üzerine teorik ve deney hayvanları çalışmaları yürüttüm.



EK 1: Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih Sayı: 22.04.2025-643381



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI



TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	TOPLANTI YERİ
17.04.2025	5	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı (Türkçe ve İngilizce)	Bor İçeren Bileşik İle Muamele Edilmiş Adipoz Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerinin Karbon Tetraklorür İle İndüklenmiş Siçan Karaciğer Fibrozisi Üzerine Etkisi The Effect of Boron Containing Compound-Treated Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells on Carbon Tetrachloride-Induced Rat Liver Fibrosis
	Başvuru Tarihi	08.04.2025
	Protokol no	456
	Kullanılacak deney hayvanı (tür/ırk/cinsiyet/sayı)	Siçan / Wistar Albino / Erkek / 24

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2025/27 ☒ Kabul ☐ Red Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ' un yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, başvurunun Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesince "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.
-----------------	--

Yürütücü	Dr. Öğr. Üyesi Gülüna ERDEM KOÇ Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Araştırmacılar	Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN, Dr. Nurdan Sena DEĞİRMENÇİ, Yüksek Lisans Öğrencisi Feryal Kübra ALKURT

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. Davut Sinan KAPLAN (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	e-imzalıdır
Prof. Dr. Remziye Aysun KEPEKÇİ (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	H	E	e-imzalıdır
Doç. Dr. Berna KAYA UĞUR (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.	H	H	KATILMADI
Doç. Dr. Hasan GÜNDOĞAR (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji AD.	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Nurullah AKSOY (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ERİNMEZ (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÖZTÜRK (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Sema AYTAÇ (Üye)	GAÜN Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik	H	E	e-imzalıdır
Dr. Öğr. Üyesi Türkan GÜRER (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	H	E	e-imzalıdır
Veteriner Hekim Filiz BİÇİCİ (Üye)	GAÜN Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNDAM)	H	E	e-imzalıdır
Veteriner Hekim M. Celal ÖZSÖYLER (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	H	KATILMADI
Avukat. Orhan BEYAZ (Üye)	Serbest, STK Üyesi	H	H	KATILMADI

E: Evet, H: Hayır

Bu belge, güvenli elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5578&eD=BSV8EFBZLH&eS=643381> adresinden yapılabilir.

