

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

**KARBON TETRAKLORÜR İLE  
OLUŞTURULAN AKUT VE KRONİK  
KARACİĞER HASARINA KARŞI  
RESVERATROL VE MELATONİNİN  
ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Birgül YİĞİTCAN  
HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Doç. Dr. Mehmet GÜL**

**MALATYA - 2012**

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

**KARBON TETRAKLORÜR İLE  
OLUŞTURULAN AKUT VE KRONİK  
KARACİĞER HASARINA KARŞI  
RESVERATROL VE MELATONİNİN  
ETKİLERİ**

**Birgül YİĞİTCAN**  
**Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Mehmet GÜL**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
2010/89 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA – 2012**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı/Histoloji-Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Yrd.Doç.Dr. Hilal SAPMAZ



Üye

Prof.Dr. Nigar VARDI



Danışman

Doç.Dr. Mehmet GÜL



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2012 tarih ve 2012/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sedat YILDIZ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yoğun tez dönemimde yaptığım deneysel çalışmada ve bu tezin hazırlanması aşamalarında bana büyük bir titizlikle ve sabırla yol gösteren tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Mehmet GÜL' e, yine her konuda fikirleri ile bana destek olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ali OTLU hocama, benden desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Nigar VARDI ve Doç. Dr. Meltem KURUŞ' a, çalışmamın istatistiksel analizinde bana yardımcı olan Prof. Dr. Saim YOLOĞLU' na, laboratuvar çalışmalarımda büyük emeği geçen Bio. Mustafa HÜZ' e ve diğer bütün bölüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca 2010/89 nolu projeme maddi yönden katkılarından dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne teşekkür ederim.

## ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda karbontetraklorür ile oluşturulan akut ve kronik karaciğer hasarı üzerine resveratrol ve melatonin' in etkilerinin, histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Karbon tetraklorür deneysel olarak nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı modeli oluşturmada yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir. Karaciğerde serbest radikallerin üretimini arttırarak, antioksidan enzimlerin aktivitelerini azaltarak ve hücre ve organellerin membranlarında lipid peroksidasyonu oluşturarak hasara neden olur.

Vücutta başlıca epifiz bezinde sentezlenip salgılanan melatonin, endokrin ve sirkadyen ritmin düzenlenmesi ve bağışıklık fonksiyonlarının uyarılması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynar. Ayrıca, melatonin iyi bilinen bir antioksidan ve serbest radikal süpürücüdür.

Resveratrol başlıca üzüm kabuğu ve çekirdeği olmak üzere, kiraz, yerfıstığı, dut gibi bitkilerde bulunan bir polifenolik bileşiktir. Resveratrolün sitoprotektif, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinmektedir. Bunun dışında makrofaj ve adhezyon moleküllerinin inhibisyonunu sağladığı, endotel hücrelerinde nitrik oksid üretimini uyarak kan damarlarında vasodilatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada toplam 80 adet erkek Wistar albino sıçan (150-180 g) kullanıldı. Sıçanlar on gruba ayrıldı (n=8).

1. grup: Serum fizyolojik (SF), 0.5 ml
2. grup: Zeytinyağı, 0.5 ml
3. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg/ gün (1/1 oranında),
4. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg + Resveratrol 10 mg/kg
5. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg + Melatonin 20 mg/kg
6. grup: Serum fizyolojik (SF), 0.5 ml
7. grup: Zeytinyağı, 0.5 ml
8. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg (1/1 oranında),
9. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg + Resveratrol 10 mg/kg
10. grup: Zeytinyağı-CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg + Melatonin 20 mg/kg

İlk beş gruptaki (1-5. gruplar) uygulamalar 4 gün, son 5 gruptaki (6-10. gruplar) uygulamalar 20 gün süreyle günde bir kez intraperitoneal olarak yapıldı. 1-5. gruplardaki sıçanlar 5. gün, 6-10. gruplardaki sıçanlar 20. gün servikal dislokasyonla kurban edilip intrakardiyak kan alındıktan sonra karaciğerden ışık mikroskopik, elektron mikroskopik ve biyokimyasal incelemeler için doku örnekleri alındı.

Akut ve kronik karbontetraklorür gruplarındaki sıçanların karaciğer kesitlerinde hepatositlerde belirgin vakuolizasyon, apoptotik cisimcikler, intrasellüler ödem, mitokondri ve granüler endoplazmik retikulum hasarı saptandı. Ayrıca inflamatuvar hücre infiltrasyonu, nekroz ve fibrozis görüldü.

Resveratrol ve melatonin gruplarında karboneteraklorürün oluşturduğu karaciğer hasarı bulgularında belirgin azalma olduğu tespit edildi.

Akut ve kronik nonalkolik karaciğer yağlanması ve hasarı üzerine melatonin ve resveratrolün yararlı etkilerinin olduğu düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: karaciğer, karaciğer yağlanması, histoloji

## ABSTRACT

### PROTECTIVE EFFECTS OF RESVERATROL AND MELATONIN ON CARBON TETRACHLORIDE INDUCED LIVER DAMAGE

The aim of this study was to investigate the protective effects of resveratrol and melatonin against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) induced hepatic injury, using biochemical and histological parameters.

Carbon tetrachloride, a xenobiotic commonly used in the generation of experimental nonalcoholic fatty liver disease. The principle causes of CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage is lipid peroxidation in cell and organel membranes and decreased activities of antioxidant enzymes and generation of free radicals.

Melatonin is mainly secreted by the pineal gland, plays an important role in various physiological processes, including the regulation of circadian and endocrine rhythms, stimulation of immune functions. Also, melatonin is a well- known antioxidant and free radical scavenger.

Resveratrol is a polyphenolic compound and found of high concentration in the skin and seeds of grapes, berries and peanuts. Its well- known cytoprotective, antioxidant and antiinflammatory effects. On the otherhand, it provides inhibition of kupffer cells and adhesion molecules. Previously, it was suggested that resveratrol stimulated nitric oxide production in endothelial cells, has a vasodilatory effect on blood vessels.

In this study total eighty male Wistar albino rats (150- 180 g) were divided ten groups.

Group 1: Control. 0.9% NaCl, 1ml/kg/day

Group 2: Olive oil. 1ml/kg/day

Group 3: CCl<sub>4</sub>. 1ml/kg/day (dissolved in olive oil)

Group 4: Resveratrol. 10mg/ kg/day

Group 5: Melatonin. 20mg/kg/day

Group 6: Control. 0.9% NaCl, 1ml/kg/day

Group 7: Olive oil. 1ml/kg/day

Group 8: CCl<sub>4</sub>. 1ml/kg/day (dissolved in olive oil)

Group 9: Resveratrol. 10mg/ kg/day

Group 10: Melatonin. 20mg/kg/day

First five groups were given for 4 days, last five groups were given for 20 days intraperitoneally (i.p). The rats in five groups 5th day of experiment, in last five groups 21th day of experiment were sacrificed. After intracardiac blood was taken, livers were removed. The liver tissue samples were processed by routine tissue processed for light and electron microscopic examination.

The liver sections of the acute and cronic CCl<sub>4</sub> groups showed histologic alterations such as vacuolation, apoptotic badies, intracelluler oedema, mitochondria and endoplasmic reticulum injury in hepatocities. Furthermore, inflammatory cell infiltration, necrosis and fibrosis were observed.

The groups treated with melatonin and resveratrol were observed significantly improvement in histological parameters of liver damage induced by carbon tetrachloride.

As a result, we conclude that melatonin and resveratrol treatments show beneficial effects on CCl<sub>4</sub>- induced liver steatosis and damage in rats.

Key words: liver, steatosiz, histology

**İÇİNDEKİLER****SayfaNo**

|                                                  |      |
|--------------------------------------------------|------|
| ONAY SAYFASI.....                                | iii  |
| TEŞEKKÜR.....                                    | iv   |
| ÖZET.....                                        | v    |
| ABSTRACT .....                                   | viii |
| İÇİNDEKİLER.....                                 | ix   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....              | x    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                            | xiii |
| TABLolar DİZİNİ.....                             | xv   |
| 1. GİRİŞ .....                                   | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                          | 4    |
| 2.1. Karaciğer Anatomisi .....                   | 4    |
| 2.2. Karaciğer Embriyolojisi .....               | 8    |
| 2.3. Karaciğer Fizyolojisi.....                  | 10   |
| 2.4. Karaciğer Histolojisi .....                 | 16   |
| 2.5. Karaciğerde Rejenerasyon.....               | 22   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                         | 23   |
| 3.1. Deney Grupları .....                        | 23   |
| 3.2. Işık Mikroskobik Takip .....                | 24   |
| 3.4. Transmisyon Elektron Mikroskobik Takip..... | 27   |
| 3.5. Biyoistatistik Yöntemi.....                 | 29   |
| 3.6. Biyokimya Yöntemi .....                     | 29   |
| 4. BULGULAR.....                                 | 33   |
| 4.1. Histolojik Bulgular.....                    | 33   |
| 4.2. İstatiksel Bulgular .....                   | 90   |
| 5. TARTIŞMA.....                                 | 96   |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                       | 105  |
| KAYNAKLAR.....                                   | 106  |
| EKLER                                            |      |
| EK 1. ETİK KURUL.....                            | 114  |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                    | 115  |

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

|                                    |                                      |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>CCL<sub>4</sub>:</b>            | Karbontetraklorür                    |
| <b>CCL<sub>3</sub>:</b>            | Triklormetil                         |
| <b>RES:</b>                        | Resveratrol                          |
| <b>MEL:</b>                        | Melatonin                            |
| <b>Asetil CoA:</b>                 | Asetil koenzim A                     |
| <b>VLDL:</b>                       | Çok düşük dansiteli lipoprotein      |
| <b>LDL:</b>                        | Düşük dansiteli lipoprotein          |
| <b>HDL:</b>                        | Yüksek dansiteli lipoprotein         |
| <b>CO<sub>2</sub>:</b>             | Karbondioksit                        |
| <b>H<sub>2</sub>O:</b>             | Su                                   |
| <b>RBP:</b>                        | Rodopsin bağlayıcı protein           |
| <b>GER:</b>                        | Granüllü endoplazmik retikulum       |
| <b>AGE R:</b>                      | Agranüler endoplazmik retikulum      |
| <b>NAFLD:</b>                      | Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı |
| <b>NASH:</b>                       | Nonalkolik steatohepatitis           |
| <b>İ.p. :</b>                      | İntraperitoneal                      |
| <b>NTF:</b>                        | Nötral tamponlu formaldehit          |
| <b>H&amp;E:</b>                    | Hematoksilen – Eosin                 |
| <b>PAS:</b>                        | Periyodik asit schiff                |
| <b>Trk:</b>                        | Trikrom boyama                       |
| <b>DDSA:</b>                       | Dodecenly Succinic Anhydride         |
| <b>BDMA:</b>                       | Benzyl Dimethylamine                 |
| <b>TEM:</b>                        | Transmisyon Elektron Mikroskopi      |
| <b>CAT:</b>                        | Katalaz                              |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b> | Hidrojen peroksit                    |
| <b>SOD:</b>                        | Superoksit dismutaz                  |
| <b>XO:</b>                         | Ksantin oksidaz                      |
| <b>O<sub>2</sub><sup>-</sup>:</b>  | Superoksit radikali                  |
| <b>EDTA:</b>                       | Etilen diamin tetra asetik asit      |
| <b>GSH:</b>                        | Total Glutasyon                      |
| <b>TNB:</b>                        | 5-tio-2-nitrobenzoat                 |

**MDA:** Malondialdehit

**HCl:** Hidroklorür

**ALT:** Alanin aminotransferaz

**AST:** Aspartat aminotransferaz

**SD:** Standart sapma

$\bar{X}$  : Ortalama simgesi

**TNF:** Tümör Nekroz Faktör

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Resim 1. grup 1: H&E, x10**

**Resim 2. grup 1: H&E, x20**

**Resim 3. grup 1: H&E, x40**

**Resim 4. grup 1: PAS, x20**

**Resim 5. grup 1: Trk, x20**

**Resim 6. grup 1: TEM x10**

**Resim 7. grup 2: H&E x10**

**Resim 8. grup 2: H&E x20**

**Resim 9. grup 2: H&E x40**

**Resim 10. grup 2: PAS x20,**

**Resim 11. grup 2: Trk x20,**

**Resim 12. grup 2 TEM x7000,**

**Resim 13. grup 3: H&E x10,**

**Resim 14. grup 3: x20, H&E, Multivakuoler ve Univakuoler şeklinde yağlanma**

**Resim 15. grup 3: x20, H&E, Glisson Kapsülünde Kalınlaşma**

**Resim 16. grup 3: x20, H&E, İnfiltrasyon alanları**

**Resim 17. grup 3: x40, H&E, Apoptosiz**

**Resim 18. grup 3: x20, PAS**

**Resim 19. grup 3: x20, Trk**

**Resim 20. grup 3: TEM, x8000, Vakuolizasyon ve lizozom**

**Resim 21. grup3: TEM x6300, Düzensiz sınırlı nukleus yapısı ve nukleer vakuolizasyon**

**Resim 22. grup 3: TEM x6300, Apoptotik Yapıda Nukleus**

**Resim 23. grup 3: TEM x7000**

**Resim 24. grup 3: TEM x6656**

**Resim 25. grup 3: TEM x6300**

**Resim 26. grup 3: TEM x8000**

**Resim 27. grup 4: H&E x10**

**Resim 28. grup 4: H&E x20**

**Resim 29. grup 4: H&E x40**

**Resim 30. grup 4: PAS x20**

**Resim 31. grup 4: Trk x20**

**Resim 32. grup 4: TEM x6300**

**Resim 33. grup 4: TEM x7000**

**Resim 34. grup 5: H&E x10**

**Resim 35. grup 5: H&E x20**

**Resim 36. grup 5: H&E x20**

**Resim 37. grup 5: H&E x40**

**Resim 38. grup 5: PAS x40**

**Resim 39. grup 5: Trk x20**

**Resim 40. grup 5: TEM x6300**

**Resim 41. grup 5: TEM x7000**

**Resim 42. grup 6- Makroskopik**

**Resim 43. grup 7- Makroskopik**

**Resim 44. grup 6: H&E x10**

**Resim 45. grup 6: H&E x20**

**Resim 46. grup 6: H&E x20**

**Resim 47. grup 6: H&E x40**

**Resim 48. grup 6: PAS x20**

**Resim 49. grup 6: Trk x40**

**Resim 50. grup 6: TEM x8000**

**Resim 51. grup 7: H&E x10**

**Resim 52. grup 7: H&E x20**

**Resim 53. grup 7: H&E x40**

**Resim 54. grup 7: PAS x20**

**Resim 55. grup 7: Trk x20**

**Resim 56. grup 7: TEM x7000**

**Resim 57. grup 8- Makroskopik**

**Resim 58. grup 8: H&E x 10**

**Resim 59. grup 8: H&E x20, Glisson kapsülünde kalınlaşma ve subkapsüler alanda yağ dokusu**

- Resim 60. grup 8: H&E x20, İnfiltrasyon Alanları**
- Resim 61. grup 8: H&E x40, Apoptotik cisimcikler**
- Resim 62. grup 8: x40, H&E, Sinuzoidlerde dilatasyon**
- Resim 63. grup 8: PAS x20**
- Resim 64. grup 8: Trk x20**
- Resim 65. grup 8: TEM x6514**
- Resim 66. grup 8: TEM x6300**
- Resim 67. grup 8: TEM x6300**
- Resim 68. grup 8: TEM x6300**
- Resim 69. grup 8: TEM x6500**
- Resim 70. grup 9- makroskopik**
- Resim 71. grup 9: H&E x10**
- Resim 72. grup 9: H&E x20**
- Resim 73. grup 9: H&E x20**
- Resim 74. grup 9: H&E x40**
- Resim 75. grup 9: H&E x40**
- Resim 76. grup 9: PAS x20**
- Resim 77. grup 9: Trk x20**
- Resim 78. grup 9: TEM x10000**
- Resim 79. grup 9: TEM x7000**
- Resim 80. grup 9: TEM x6300**
- Resim 81. grup 10- makroskopik**
- Resim 82. grup 10: H&E x10**
- Resim 83. grup 10: H&E x10**
- Resim 84. grup 10: H&E x10**
- Resim 85. grup 10: H&E x20**
- Resim 86. grup 10: H&E x20**
- Resim 87. grup 10: H&E x40**
- Resim 88. grup 10: PAS x20**
- Resim 89. grup 10: Trk x20**
- Resim 90. grup 10: TEM x8000**
- Resim 91. grup 10: TEM x6300**

**TABLolar DİZİNİ**

**Tablo1. Hücre Hasar Parametrelerinin İstatiksel Dağılımı**

**Tablo2. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hücre Hasar Parametreleri  
Bakımından Farklı Olan Gruplar**

**Tablo3. Karaciğer Doku Biyokimyası Parametre Sonuçları**

**Tablo4. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Karaciğer Doku Biyokimyası  
Bakımında Farklı Olan Gruplar**

**Tablo5. Karaciğer Enzimlerinin İstatiksel Dağılımı**

**Tablo6. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Karaciğer Enzimleri Bakımından  
İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

**Tablo7. Mitoz Figürlerinin İstatiksel Dağılımı**

**Tablo8. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Mitoz Figürleri Bakımından  
Farklı Olan Gruplar**

**Tablo9. Hepatositlerde Glikojen Kaybının İstatiksel Dağılımı**

**Tablo10. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Glikojen Kaybı Bakımından  
İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

**Tablo11. Hayvan Ağırlıklarının İstatiksel Değişimi**

**Tablo12. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hayvan Ağırlıkları Bakımından  
İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

**Tablo13. Hayvan Ağırlıklarının İstatiksel Değişimi (kronik)**

**Tablo14. Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hayvan Ağırlıkları Bakımından  
İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

## 1. GİRİŞ

Karaciğer yağlanması, hangi nedenlere bağlı olursa olsun lipidlerin karaciğer ağırlığının % 5' inden fazlasını oluşturması veya histopatolojik incelemede hepatositlerin % 5' inden daha fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi olarak tanımlanır (1- 4). Değişik sebeplerle yapılan karaciğer biyopsilerinde sıklıkla karşılaşılan bu bulgu klinik tablonun gelişimine göre akut veya kronik karaciğer hastalığı formundaki karaciğer yağlanması şeklinde karşımıza çıkar (1). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) alkol dışı nedenlere bağlı olarak meydana gelen klinik ve histopatolojik olarak karaciğer yağlanmalarını tanımlar (1- 3, 5). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı; nonalkolik steatohepatit (NASH) ve basit steatosizi kapsayan geniş histopatolojik spektrumlu bir olgudur (2, 3, 5- 7). Basit steatosizli karaciğerde yağlanma görülmekte ancak histopatolojik olarak balonlaşma dejenerasyonu, nekroz, iltihabi infiltrasyon, fibrozis ve siroz bulunmamaktadır (2- 5). Nonalkolik steatohepatit (NASH), nonalkolik karaciğer yağlanması ile birlikte hepatosellüler hasar, nekroz, inflamasyonun, fibrosizin birlikteliği nonalkolik steatohepatit olarak isimlendirilir (2, 3, 6). Hastalık spektrumunun diğer unsurları (inflamasyon, fibrosiz, hepatosellüler hasar vs.) karaciğerde farklı mekanizmalar ile gelişir (1, 2, 8). İnflamasyon ve fibrosize neden olan belirleyiciler oksidatif stres, mitokondriyal fonksiyon bozuklukları, TNF-a gibi sitokinlerdir (1- 3).

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı hepatositlerde trigliserid birikimi şeklinde oluşmaktadır (1, 3, 8- 10). Histopatolojik olarak mikroveziküler/ makroveziküler/ mikst şeklinde yağlanma olarak karşımıza çıkar (1). Steatoz sıklıkla büyük damlacıklar veya makroveziküler yağlanma olup 3 nolu asinar zona yerleşir (8, 11). Karaciğer parenkimi tamamen hasarlandığında steatotik hepatositler tüm parenkimde görülebilir. Makrovezikül çekirdeği periferde doğru iter ve hepatositler büyümüştür. Bu duruma mikroveziküller de eşlik eder (11). Nonalkolik steatohepatit' de; karaciğerde makrovezikül şeklinde belirgin yağlanma, (9, 10) lobüler hepatit, fokal nekroz, miks tipi iltihabi infiltrasyon ve fibrozis patogenezi karşımıza çıkar (1, 2). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı tanısında en önemli laboratuvar bulguları ise transaminaz yüksekliğidir (1- 3, 6). Transaminazlardaki artış çoğu olguda normalin 1- 3 katı arasındadır (1). ALT seviyesi ALT /AST seviyesinden daha yüksektir (6). Ancak bazı durumlarda AST seviyesi ALT seviyesinden daha yüksek olur. Bu durum fibrosizin varlığına ve siroza işaret eder (2, 3, 6, 8). Aminotransminaz seviyesindeki artış steatosiz ve inflamasyonun (steatohepatit) ilerlediğini gösterir (1, 6).

Fibrozis, karaciğer hasarının başlangıcında zon- 3 de santral ven çevresinde ve peri sinuzoidal alanda kollajen depolanmasıdır. Progressif hasar sonucunda portal alanda da fibrozis görülebilir. Portal- portal ve central- portal köprüleşmeler ve siroz görülebilir (11).

Karbontetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ), deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan ksenobiyotiktir (12- 15). Karbontetraklorür karbondisülfürün klorlanmasıyla veya aynı bileşiğin kükürt monoklorür ile tepkimeye sokulmasıyla elde edilir (16).

Mitokondriyal monooksijenaz (P450-2E1) sistemi tarafından metabolize edilir ve öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti, triklorometil ( $\text{CCl}_3$ ) serbest radikali oluştuktan sonra lipidler ve proteinler ile kovalent bağlar oluşturarak hızla triklorometil peroksit ( $\text{CCl}_3 \text{COO}^-$ ) formuna dönüşür (12- 14, 17, 18). Daha sonra sekonder olarak lipid yıkıcı enzimler, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar oluşur (12, 13). Oluşan bu serbest radikaller hücre membranındaki fosfolipidlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücre harabiyetine yol açarlar. Sonuçta hem hücre membran yapıları hem de hücre içi organel membran yapıları tamamen bozulur (12, 13, 19). Bu süreci  $\text{CCl}_4$  kaynaklı karaciğer hasarında potansiyel olan aktive hepatik makrofajlar olan inflamatuvar mediatörlerin serbest kalması takip eder (14).

Karbontetraklorür' e bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreçte yağlanma, fibrozis hatta siroz oluşabilir (12, 13).

Polifenoller, antioksidant, antiinflamatuvar ve antikanser gibi çeşitli biyokimyasal fonksiyonlara sahiptir (20). Resveratrol başlıca üzüm kabuğu ve çekirdeği olmak üzere, kiraz, yerfıstığı, dut gibi bitkilerde bulunan bir polifenolik bileşiktir (20- 22). Bazı bitkilerde hasar, stres, UV ışınları ve mantar enfeksiyonlarına karşı sentezlenir (64, 65, 70, 71, 73). Resveratrol, DNA hasarı, lipid peroksidasyonun önlemesi, serbest oksijen radikallerini süpürmesi ile yüksek antioksidatif etki, antiplatelet aktivite, östrojenik aktivite, siklooksijenaz inhibisyonu gibi antiinflamatuvar etkiye sahiptir (20- 22, 24, 26- 29). Bunun dışında Kupfer hücrelerinin ve adhezyon moleküllerinin inhibisyonunu da sağlar (20, 25). Yapılan çalışmalarda endotel hücrelerinde nitrik oksid üretimini uyarak kan damarlarında vasodilatör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (22, 27, 28).

Pineal bezden salınan bir hormon olan melatonin (5- methoxy- N- acetyl- trytamine) birçok biyolojik etkisinin yanı sıra hücre içi kalsiyum düzeyini düzenleyebilmesi, güçlü bir

radikal süpürücü (hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, peroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonu) ve antioksidan (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon reduktaz, glikoz- 6- fosfat dehidrogenaz stimülasyonu), immun sistem uyarımı, düz kas kasılmasının modülasyonu, mevsimsel üreme, yaşlanma karşıtı, 24 saatlik ritmin düzenlenmesi, uyku gibi birçok özelliklere sahiptir (30- 38). Bu antioksidan etkisi reaktif serbest radikallere karşı direkt koruyucu etkisinden daha çok antioksidatif enzimleri stimüle etme yeteneğinden kaynaklanır (39). Pineal bezin yanında over, retina ve gastrointestinal sistem organlarından sentezlenir (33, 40). Melatonin hem yağda hem de suda çözülebilir özelliğe sahip olduğu için nukleus dahil hücrenin her organeline ulaşabilir (32, 35). Hem in vitro hem de in vivo deneyler melatoninin serbest radikal üretici ajanlar tarafından indüklenen oksidatif hasara karşı ve bir takım safrol, lipopolisakkarit (LPS), CCl<sub>4</sub> iskemi reperfüzyon hasarına karşı hücreleri ve dokuları koruduğunu göstermiştir (34, 36, 38, 39).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, karın boşluğunun sağ üst tarafında ve diafragmanın altında yer alır (41, 42). Karaciğerin büyük bölümü kaburgalar altında yerleşiktir ve regio hypochondrica dextranın tamamını, regio epigastricanın büyük bir kısmını doldurur (41- 43). Diafragma ile plevra, akciğerler, perikardium ve kalpten ayrılmıştır. Karaciğerin üst yüzü (facies diafragmatica) diafragmanın alt yüzünün şekline, arka alt yüzü (facies visceralis) komşuluğundaki organların şekline uyum gösterir. Arka alt yüzü özofagusun pars abdominalisi, mide, duodenum, fleksura coli dekstra, sağ böbrek, glandula suprarenalis dekstra ve safra kesesi ile temas halinde olduğundan şekli düzensizdir.

Karaciğer 25- 30 cm uzunluğunda, sağda ön-arka yönde 14-16 cm, yüksekliği 8 cm kadardır. Karaciğerin ağırlığı erişkinlerde vücut ağırlığının %2' si, çocuklarda ise % 5' i kadardır. Erkeklerde 1.4- 1.8 kg, kadınlarda 1.2- 1.4 kg ağırlığındadır (41- 43).

#### 2.1.2. Karaciğerin Komşulukları

Önde: Diafragma, sağ ve sol arcus costalis, her iki akciğerin basis pulmonis' leri, processus xiphoideus ve karın ön duvarı ile komşudur (43).

Arkada: Diafragma, sağ böbrek, flexura coli dekstra, duodenum, safra kesesi, vena cava inferior, özafagus ve fundus gastricus ile komşudur (43).

#### 2.1.3. Makroskopik özellikleri

Karaciğerin facies diaphragmatica ve facies visceralis olmak üzere iki yüzü vardır.

**1 - Facies diaphragmatica:** Karaciğerin diafragma ile komşuluk yaptığı yüzüdür (42, 43). Dört bölümde incelenir.

**A – Pars superior:** Facies diaphragmaticanın üst kısmıdır. Diafragma ile sıkı komşuluk yapar. Diafragma aracılığı ile sağ tarafta pleura ve akciğerle, sol tarafta da perikardiyum ve kalp ile komşudur. Kalbin oturduğu yer olması açısından orta kısmı çukur olup **impressio cardiaca** adını alır. Üst yüzün büyük bölümü periton ile kaplıdır. Bu yüzün arka kısmı peritonsuzdur. Diafragmaya bağ dokusu ile bağlanır (41- 43).

**B - Pars anterior:** Facies diaphragmaticanın ön bölümüdür. Pars anterior, lig. falciforme hepatisin tutunduğu yer hariç her tarafı peritonla kaplıdır (42, 43).

**C - Pars dextra:** Facies diaphragmaticanın periton ile örtülü sağ tarafıdır. Bu bölüm 6. – 11. kaburgalar arasındadır. Pars dextra, karaciğer biyopsileri için tercih edilen yer olması açısından önemlidir (43).

**D - Pars Posterior:** Karaciğerin diafragma ile temas eden peritonsuz bölümüdür. Gevşek bağ doku aracılığı ile diafragmaya bağlıdır. Pars posteriorun sağ tarafında v. cava inferiorun yerleştiği sulcus venae cavae denilen oluk bulunur. Bu oluğun üst bölümünde v. hepaticaların açıldığı delikler bulunur. Sulcus venae cavaenin 2 -3 cm solunda fissura ligamenti venosi bulunur. Fissura ligamenti venosi yarığında, embriyonik bir yapıdan ductus venosusun kapanması ile oluşan lig. venosum bulunur (42, 43).

**2 - Fascies Visceralis:** Karaciğerin karın organları ile komşu olan konkav alt yüzüdür. Bu yüz kolon, sağ böbrek, sağ böbrek üstü bezi, duodenum ve mide ile komşudur. Fascies visceralisin ortasında **porta hepatis** denilen bir geçit bulunur. Porta hepatis ile karaciğere v. portae hepatis, a. hepatica propria, sempatik ve parasempatik sinir lifleri içeren sinir ağı (plexus hepaticus) girer, safra kanalları ve lenf damarları çıkar (42, 43).

Facies visceralisin porta hepatis, fossa vesica biliaris, sulcus venae cavae, fissura ligamenti venosi hariç her tarafı peritonla kaplıdır (41- 43).

#### **Porta hepatis**

Porta hepatis 5 cm uzunluğunda, 1,5- 2 cm genişliğindedir. Porta hepatis v. portae hepatis, a. hepatica propria, sempatik ve parasempatik sinir lifleri içeren **plexus hepaticus** sinir ağı girer. **Ductus hepaticus dexter** ve **ductus hepaticus sinister** ile lenf damarları çıkar (43).

#### **2.1.4. Karaciğerin Kenarları:**

**Margo inferior** ve **margo posterior** olmak üzere 2 kenarı vardır.

**1. Margo posterior (arka kenar):** Karaciğerin facies visceralis ve facies diaphragmatica arasında, arka tarafında oluşan kenardır.

**2. Margo inferior (alt kenar):** Karaciğerin facies visceralisi ile facies diaphragmaticası arasında ön, kısmen de yan tarafta oluşan kenarıdır (42, 43).

### 2.1.5. Karaciğer Lobları

Karaciğer, facies diaphragmaticasında lig. falciforme hepatis tarafından **lobus hepatis dexter** ve **lobus hepatis sinister** olarak ikiye ayrılır. Facies visceralis' de H harfi şeklindeki oluklar karaciğeri 4 loba ayırır. Sulcus sagittalis dexterin sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinisterin sol tarafında kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denir. Bu iki oluk arasında ve porta hepatis'in önünde kalan kısma **lobus quadratus**, arkada kalan kısma ise **lobus caudatus** denilir (41- 43).

### 2.1.6. Karaciğer Ligamentleri

Karaciğer diafragmanın alt yüzüne ve karın ön duvarına 6 bağ aracılığı ile tutunur (42, 43). Bunlardan beşi (lig. falciforme hepatis, lig. coronarium, lig. hepatorenale, lig. triangulare dextrum ve sinistrum) peritonun oluşturduğu bağlardır. Birisi ise (lig. teres hepatis) embriyonik v. umbilicalisin kapanması ile oluşan bağdır. Karaciğer ayrıca peritoneal bir yapı olan omentum minus aracılığı ile mide ve duodenum' a bağlanır (42).

### 2.1.7. Karaciğeri Yerinde Tutan Oluşumlar

İçerisindeki kan ile beraber yaklaşık 2,5 kg olan karaciğer, bu ağırlığına rağmen aşağıdaki kuvvetler sayesinde karın boşluğunun sağ üst kısmında asılı olarak durmaktadır (43).

- 1 – Karın boşluğunun, özellikle de diafragmanın altındaki negatif hava basıncı karaciğeri yerinde tutan en önemli etkenlerden biridir.
- 2 – Karaciğerin karın iç organlar ile komşuluğu ve diğer organların üzerine oturması.
- 3 – Karın çevresindeki kasların tonusu.
- 4 – Karaciğeri diafragma bağlayan periton bağları.
- 5–Area nuda karaciğerin diafragmaya tutunmasını ve konumunun korunmasında önemli rol oynar.
- 6 – Karaciğerin v.hepaticalar aracılığı ile v.cava inferiora tutunması, damarların karaciğeri yukarıdan asmasına neden olur (42, 43).

### 2.1.8. Karaciğer Fissürleri

Anatomik olarak tanımlanan dört adet fissür (**Sağ Fissür, Median Fissür, Sol Fissür, Portoumblikal Fissür**) içerisinde sadece portoumblikal fissür süperfisial olarak tanımlanabilmektedir. Diğer üç fissür ise üç adet hepatik ven temel alınarak göreceli olarak belirlenmiştir. Karaciğer yüzeyinde bulunan fissürler ve hepatik pedikül elemanlarının dağılımı karaciğer parankiminin segmentlere ayrılarak incelenebilmesine olanak vermektedir (44).

### 2.1.9. Arteriyal ve Venöz Dolaşım

Karaciğere kan akımı % 30 oranında hepatik arter % 70 oranında ise portal ven aracılığı ile sağlanır. Bu damarların taşıdığı kanın miktarı ve niteliği farklıdır. A. hepatica ile gelen kan oksijen bakımından zengindir. Portal ven ile gelen kan ise oksijen bakımından fakir, sindirim ürünlerinden zengin içeriklidir. Arteriel ve venöz kan akımı sinüzoidlerde toplandıktan sonra santral venlere iletilir. Santral venler daha sonra hepatik venlere ve bunlar da direkt olarak v.cava inferiora dökülürler (42- 44).

### 2.1.10. Lenf Drenajı

Karaciğer oldukça fazla miktarda lenfatik drenajı olan bir organdır. Vücuttaki toplam lenf üretiminin %30- 50' si burada yapılır (44). Karaciğerin lenf damarlarının çoğu porta hepatis gelerek buradaki **nodus lymphatici hepatici**ye açılırlar. Bunların bir kısmı da safra kesesi boynunun etrafındaki **nodus cysticus** ile foramen bursa omentalis çevresindeki lenf nodüllerine (nodus foraminialis) açılır (42, 43). Efferent lenf damarları diafragma yoluyla area nudadan **posterior mediastinal** lenf nodlarına iletilir (42- 44).

### 2.1.11. Sinirsel İnnervasyonu

Karaciğerin sempatik sinir lifleri n.splanchniciden, parasempatik sinir lifleri ise sağ ve sol n.vagus ve n. phrenicustan gelir. Bu lifler önce **plexus coeliacus**u oluştururlar. Bunlardan çıkan lifler ise a. hepatica propria ve v. portae hepatis çevresinde **plexus hepaticus**u oluştururlar (42, 43).

## 2.2. Karaciğer Embriyolojisi

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalı sistemi intrauterin dönemde 4. haftada ön bağırsağın kaudal kısmından endodermal - ventral bir çıkıntı olarak gelişir (45- 48). Son çalışmalara ait bulgular, hepatik divertikül ve pankreasın ventral tomurcuğunun embriyonik endoderme ait iki farklı hücre topluluğundan geliştiğini ileri sürmektedir (48). Hepatik divertikül, gelişmekte olan kalp ve mide arasındaki splanknik mezoderm kitlesi olan **septum transversum** doğru uzanır. Hepatik çıkıntı genişler ve ventral mezogastriumu iki kısma ayırır. Hepatik çıkıntının geniş olan kranial kısmı karaciğer primordiyumudur. Epitel kalınlaşması şeklinde çoğalan endodermal hücreler, ağ şeklinde yayılan hepatosit kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitel hücrelerini oluştururlar (45, 47- 49).

Hepatik kordonlar, endotelle döşeli boşlukların etrafında ağ oluşturarak hepatik sinüzoidlerin taslaklarını meydana getirirler (46, 48). Karaciğerin stromal bağ dokusu ve Kupffer hücreleri, septum transversumdaki mezenşimden köken alır (47). Başlangıçta birbirleriyle anastomozlaşan hücre toplulukları şeklindeki hepatositler, çevrelerindeki mezenşim tarafından poligonal lobüller şeklinde sınırlandırılırlar. Daha sonra lobüllerin periferinde portal dolaşıma ait küçük damarlar, merkezinde ise v. centralis gelişir (45, 46, 48- 50). **Umbilikal v**enden gelen kanın oksijen miktarı, karaciğerin gelişimini ve fonksiyonunu belirler (46, 48). Gelişimin erken dönemlerinde hepatik kordonların çoğalması simetriktir, gelişim ilerledikçe sağ lobun büyümesi hızlanır ve daha fazla büyür. Karaciğer hızla büyüyerek 5. haftadan 10. haftaya kadar üst abdominal kavitenin büyük kısmını doldurur (45, 46, 48). Fetal gelişimin 9. haftasında karaciğer, fetus ağırlığının % 10' unu oluşturur (45- 49).

Karaciğer intrauterin dönemdeki hematopoietik fonksiyonu intrauterin 6. haftada başlar ve 7. aya kadar artarak devam eder. 7. aydan doğuma kadar azalarak da olsa hematopoietik aktivite sürer. Doğumda karaciğerde birkaç kan adacığı kalmıştır. Karaciğerin hematopoietik potansiyeli gizli olarak bütün yaşam süresince devam eder (49). Karaciğer divertikülünün küçük kaudal parçası **safra kesesini**, divertikülün sapı da **safra sistik kanalını** oluşturur. Başlangıçta, ekstrahepatik safra sistemi epitel hücreleriyle tıkalıdır. Daha sonra merkezdeki hücrelerin dejenerasyonu ile kanalize olur. Hepatik ve sistik kanalları duodenuma bağlayan sap, safra kanalını oluşturur. Başlangıçta duodenumun ön yüzünde yerleşik olan safra kanalı, duodenumun büyümesi ve

rotasyonuyla arka yüze taşınır (45- 48). Hepatositlerde safra yapımı intrauterin 12. haftada başlar ve 13. haftadan itibaren, üretilen safranin duodenuma boşalmasına bağlı olarak sindirim kanalının içeriğinin rengi koyu yeşil renk alır (45, 46, 48, 51).

Karaciğer hücreleri septum transversumun tümünü işgal ettiğinde, organ karın boşluğunda kaudele doğru büyür. Aynı anda karaciğerle ön bağırsak ve karaciğerle karın ön duvarı arasındaki septum transversum mezodermi membranöz hale gelerek sırasıyla, **küçük omentumu** ve **falsiform ligamenti** oluşturur. Bu iki ligament birlikte ön bağırsakla karın ön duvarı arasındaki peritoneal bağlantıyı oluştururlar ve **ventral mezogastrium** adıyla bilinirler.

Karaciğer yüzeyindeki mezoderm, üst yüzdeki küçük bir alan dışında farklı olarak **visseral periton** haline gelir. Karaciğer bu bölgede septum transversum ile olan temasını devam ettirir. Septumun bu parçası, yoğun mezenşimal bir doku halindedir ve ileride diyaframın tendinöz parçasını oluşturacaktır. Gelecekteki diyaframla temas eden karaciğerin bu yüzeyi peritonla hiçbir zaman örtülmez ve **karaciğerin çıplak bölgesi** olarak bilinir (51).

### 2.3. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğer genel dolaşım ile bağırsaklar arasına yerleşmiş, vücudun bütün sistemleri ile ilişkili, çok sayıda önemli fonksiyonları olan bir organdır. Bağırsaklardan emilen maddeler portal ven yolu ile karaciğere ulaştırılır. Bu maddeler karaciğer hücreleri tarafından metabolize edildikten sonra ya karaciğerde depolanır ya da gerekli yerlerde kullanılmak üzere kana verilir (52- 54).

Karaciğerin karbonhidratların depolanması ve metabolizmalarının kontrolü, safra yapımı, keton bileşiklerinin yapımı, plazma proteinlerinin sentezi, çeşitli ilaç ve zehirlerin detoksifikasyonu, üre yapımı, bazı hormonların inaktivasyonu, yağ metabolizması gibi fonksiyonları vardır. Karaciğer ayrıca tüm bu fonksiyonların birleri ile ilişkisini de sağlar. Bu nedenle karaciğerdeki herhangi bir patolojik durumunda işlevlerinin çoğu eş zamanlı olarak bozulur (52, 55).

#### 2.3.1. Karaciğerin Çeşitli Görevleri

- 1- Kanın depolanması ve filtrasyonu ile ilgili vasküler fonksiyonlar
- 2-Karbonhidratların, proteinlerin, yağların, hormonların ve yabancı kimyasalların metabolize edilmesi
- 3- Safra yapımı ve sekresyonu
- 4- Vitaminlerin ve demirin depo edilmesi
- 5- Pıhtılaşma faktörlerinin yapımıdır (52, 53, 56).

#### 2.3.2. Karaciğerin Kan Depo İşlevi

Karaciğer damarlarında önemli miktarda kan depolanabilir. Hepatik venlerdeki ve hepatik sinuslardaki kan ile birlikte karaciğerin normal kan volumü 450 mililitre yani yaklaşık olarak vücuttaki toplam kan hacminin %10' u kadardır. Karaciğer, kan hacmi azaldığında ek kan sağlama yeteneği olan ve kan hacmi aşırı şekilde arttığında ise önemli miktarda kan depolayarak genişleyebilen bir organdır (52).

### 2.3.3. Karbonhidrat Metabolizması

Sindirim sisteminde monosakkaritelere kadar parçalanmış karbonhidratlar, bağırsaklardan emildikten sonra portal sistemle karaciğere ulaşırlar. Bundan sonra;

- Glikojene çevrilerek karaciğerde depolanabilir
- Kaslarda glikojene çevrilerek depolanabilir
- Yağa dönüştürülerek adipoz dokuda depolanabilir
- Glukoz halinde kanda dolaşabilir
- Hücrelerde enerji sağlamak üzere okside olabilir.

Karaciğerde glikojen sentezinde rol alan enzim, glikojen sentatazdır. Karaciğer, özellikle kanda normal glukoz konsantrasyonunun devamı bakımından önemlidir. Karaciğer glukozu kana iki şekilde temin edebilir;

- Depolanmış glikojeni glukozla çevirerek (glukogenoliz).
- Açlık durumunda, glikojen deposu tükendiği zaman yağ ve proteinlerden glukoz elde ederek (glukoneogenez) (57).

Karaciğerde glikojenin glukozla çevrilmesinde glikojen fosforilaz enziminin katalizör rolü vardır, etkili hormon ise pankreastan salgılanan glukagondur. Glukagon, glikojen sentatazin aktivitesini baskılayarak, glikojen fosforilaz enzimini aktive eder. İnsulin ise bu iki hormona antagonistik etki gösterir (52, 57).

#### 2.3.3.1. Glukozun Hücre İçine Taşınması

Glukozun hücre içine alınabilmesi için taşıyıcıya gerek vardır. Hücre içindeki glukoz konsantrasyon farkına göre işleyen bu mekanizmada glukoz dört adımda içeri alınır.

- 1- Glukoz taşıyıcıya bağlanır
- 2- Bir konfigürasyon değişikliği ile glukoz taşıyıcının iç kısmına geçer
- 3- Taşıyıcı glukozu sitoplazmaya salar
- 4- Taşıyıcı yine bir konfigürasyon değişikliği ile dışarı döner.

Sitoplazmaya giren glukoz hemen fosforilasyona uğrar. Böylece hücre dışına çıkması önlenir (57).

### 2.3.3.2. Glukoz Metabolizmasına Etki Eden Hormonlar

**İnsülin:** Glukozun plazmadan çekilmesini sağlayan en önemli hormondur. İnsülin karaciğerde, hepatosit membranından glukoz taşınmasını dolaylı olarak etkiler. Glikojen sentezini hızlandırarak hepatositin sitoplazması içindeki glukoz konsantrasyonunu azaltır. Böylece hücre içine daha çok glikoz girmesini sağlar. İnsülinin salgısı kandaki glukoz düzeyine bağlıdır. Kanda glukoz arttığı zaman endokrin pankreasın  $\beta$  hücrelerinden insülin sentezlenerek kana verilir (57).

**Katekolaminler:** Glukoz alınımasını engeller. Epinefrin, glikojenin glukoz dönüşümünü destekler. Aynı zamanda insülin salgısını da inhibe eder.

**Kortizol:** Glikoneogenezi hızlandırır. Bunu da protein yıkımı ile karaciğere glukoz yapmak üzere amino asit sağlayarak gerçekleştirir. Glikoneogenetik enzimleri aktive eder.

**Somatotrop hormon (Büyüme hormonu):** Glukoz metabolizması üzerinde iki tür etkisi vardır. Kısa süreli salgılanması, insülin gibi etki gösterir. Uzun süreli salgılanması ise kas ve adipoz dokunun glukoz almasını önler ve bir tür diabetes mellitus hastalığına neden olur (57).

### 2.3.4. Yağ Metabolizması

Yağ metabolizması vücuttaki bütün hücrelerde yürütülmesine rağmen, bu metabolizmanın bazı işlemleri başlıca karaciğerde yapılmaktadır.

- Diğer vücut işlevleri için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu
- Büyük miktarda kolesterol, fosfolipit ve lipoprotein sentezi
- Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi (52, 56, 57).

Karaciğerin lipid metabolizmasındaki ilk rolü yağların ve yağda çözünen vitaminlerin bağırsaktan emilimine yardımcı olan safra tuzlarını duodenuma salgılamasıdır (58).

Enerji elde etmek üzere nötral yağlar ilk olarak gliserol ve yağ asitlerine ayrılır (52, 57). Daha sonra yağ asitleri beta oksidasyonla iki karbonlu asetil köklerine ayrılır. Bunlar da asetil koenzim A (asetil CoA) yı oluştururlar. Asetil koenzim A, sitrik asit döngüsüne girerek okside olur ve büyük miktarda enerji sağlar. Beta oksidasyon vücuttaki bütün hücrelerde yapılsa da hepatositlerde bu olay daha hızlıdır. Karaciğer, oluşan asetil-CoA' nın hepsini kullanamaz; bunun yerine, iki molekül asetil CoA' nın birleşmesiyle oluşan

asetoasetik asit, çok kolay eriyen bir asittir ve karaciğer hücrelerinden hücre dışı sıvılara geçip, bütün vücuda taşınarak dokular tarafından absorbe edilir. Dokular da asetoasetik asidi tekrar asetil-coA ya çevirerek normal yoldan okside ederler. Bu nedenlerle yağ metabolizmasından büyük ölçüde karaciğer sorumludur (52).

Üç yağ asidi ile bir gliserol molekülünün esterleşmesinden oluşan trigliseridler yoğun enerji depolarıdır. Trigliseridler, suda erimediği için lipoprotein sistemi tarafından kanda emülsiyon halinde taşınırlar. Lipoprotein partikülü, kolesterol ve trigliserid içeren bir yapı ile bunu çevreleyen hidrofilik lipoprotein membranından oluşur (58). Karaciğerden salınan trigliseridler, VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein) partikülleri ile kaslara taşınarak enerjiye dönüştürülürler veya yağ depolarında birikirler. Çok düşük dansiteli lipoprotein partikülleri, trigliseridlerini dokulara verince, hacimleri küçülür, dansiteleri biraz artarak LDL (düşük dansiteli lipoprotein) haline geçerler. Düşük dansiteli lipoproteinler partikülü % 9 oranında trigliserid, % 50 oranında kolesterol içerir. Kısaca LDL' nin görevi karaciğerden dokulara kolesterol taşımaktadır (57, 58).

Karaciğerde sentezlenen kolestrolün yaklaşık % 80' i safra tuzlarına çevrilir, geri kalanı lipoproteinler içinde kanla vücudun tüm hücrelerine taşınırlar.

Fosfolipidler de karaciğerde aynı şekilde sentez edilerek başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar. Kolestrol ve fosfolipidler hücrelerde zarların, hücre içi yapılarının oluşumunda ve hücre işlevleri için önemli olan kimyasal maddelerin yapımında kullanılırlar.

Vücutta karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde gerçekleşir. Karaciğerde sentezi yapıldıktan sonra yağ, lipoproteinler içerisinde yağ dokusuna taşınarak depo edilirler (52).

### **2.3.5. Protein Metabolizması**

Karaciğerin protein metabolizması olmaksızın, vücudun birkaç günden fazla canlı kalabilmesi mümkün değildir. Karaciğerin protein metabolizmasındaki işlevi şöyle sıralanabilir:

- 1- Amino asitlerin deaminasyonu
- 2- Üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması
- 3- Plazma proteinlerinin oluşumu
- 4- Vücuttaki metabolik olaylar için önemli aminoasitlerin ve öteki maddelerin

birbirine dönüşümleri (52, 56, 57).





Karaciğerdeki aktif kimyasal ortamın sulfonamid, penisilin, ampisilin ve eritromisin gibi çeşitli ilaçları zehirsizleştirerek safra ile vücuttan uzaklaştırdığı iyi bilinmektedir. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden salgılanan östrojen, kortizol, aldosteron gibi tüm steroid hormonlar ve tiroksin de karaciğer tarafından ya kimyasal olarak değiştirilir ya da atılır. Vücuttan atılan kalsiyum da karaciğerden safraya salgılanarak uzaklaştırılır (52).

#### 2.4. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer genel dolaşım ile bağırsaklar arasına yerleşmiş, ekzokrin ve endokrin fonksiyonları olan bir organdır. Safra salgısını duodenuma boşalttığı için ekzokrin, sentezlediği diğer maddeleri doğrudan kana verdiği için endokrin sekresyon yapan bir organdır. (54, 60- 62). Yetişkinlerdeki karaciğer dokusunun yaklaşık % 80' i ışımsal kordonlar şeklinde düzenlenmiş hepatositlerden oluşan **parankim** yapısındadır. Geriye kalan % 20' lik kısım ise, organı dıştan saran **Glisson Kapsülü** ve parankimayı destekleyen **stroma**dır (61).

Karaciğer dıştan bağ dokusu bir kapsül (Glisson kapsülü) ile sarılmıştır. Kapsülü, peritona bakan yüzünde mezotel örter. Glisson kapsülü 70-100 µm kalınlığında, elastik ve kollajen fibriller içeren bağ dokusu yapısındadır. Glisson kapsülü hilus bölgesinde kalınlaşır ve bu bölgeden organ içine doğru septalar oluşturarak karaciğer parankimasını poligonal şekilli lobüllere ayırır. Karaciğerin lobüler yapısını şekillendiren bağ dokusu septalar içerisinde damarlar, safra kanalları ve sinirler seyredir. İnterlobüler bağ dokusu, lobüllerin köşelerinde kalınlaşarak üçgen şekilli bağ dokusu alanları (portal triad, Glisson üçgeni) oluşturur (54, 60, 61, 63- 65).

Karaciğerin fonksiyonel ve yapısal birimleri **karaciğer lobülleridir** (60, 61, 63- 65). Fonksiyonel olarak üç farklı karaciğer lobülü tanımlanmıştır.

**Klasik Karaciğer Lobülü;** Ortasında santral ven bulunan, periferde **portal alanlar**la sınırlı poligonal şekilli yapılardır. Santral venden başlayarak perifere doğru ışımsal tarzda birbirleri ile anastomozlaşarak ilerleyen hepatosit kordonlarını ve kordonlar arasında sinuzoid kapilleri içerir. Lobüllerin köşelerinde yer alan portal alanlar (portal triad – Glisson üçgeni), portal venin ve hepatik arterin birer dalını, safra kanalını, lenf damarlarını ve sinirleri içeren bağ dokusu alanlarıdır. Triadlar, aynı zamanda komşu lobüllerin buluşma noktalarını belirler (60- 67).

Klasik karaciğer lobülünün periferindeki son sıra hepatositler ile perilobüler bağ dokusu arasında kalan mikroskobik mesafeye **Mall Mesafesi** denir. Mall mesafesi karaciğerde lenfin kaynaklandığı alandır (60, 62, 64, 68). Her bir klasik karaciğer lobülü, portal alanların bağ dokusunun devamı olan ince bir bağ dokusu ile sınırlanmıştır. Ancak insan karaciğerinde bu bağ dokusu çok ince seyrettiği için lobüllerin sınırlarını seçmek zordur (60- 65, 69). **Portal Lobül**; Köşelerinde santral venlerin, merkezinde bir portal triadın yer aldığı üçgen şekilli alanlardır. Portal lobül tanımlaması karaciğerin ekzokrin fonksiyonunu olan safra sekresyonunu vurgulamak için uygundur (60, 62, 68, 70). **Karaciğer asinüsü**; kısa eksenini iki portal alan arasında, uzun eksenini iki santral ven arasında uzanan elips şeklindeki karaciğer parankima alandır (60, 61, 68). Karaciğer parankiminin kanlanması ile bağlantılı olarak tanımlanan bu yapı metabolik ve patolojik değişikliklerin açıklanması için uygundur (61, 64, 65, 68). Asinüsün kısa eksenine en yakın bölüm 1. zon, en uzak bölüm 3. zon olarak bilinir. İkinci zon karaciğer asinüsünün santral bölgesidir. Hepatositlerin yerleşim zonları beslenmelerini, zararlı etkenlere maruz kalma derecelerini, dejenerasyon ve rejenerasyon oranlarını yakından etkiler (60- 62, 68, 70). Birinci zondaki hepatositler, besin maddeleri ve oksijenden zengin kanı ilk alan ve toksik maddelere de ilk olarak maruz kalan hücrelerdir. Birinci zondaki hepatositler glikojen ve plazma proteini üretiminin en fazla olduğu hücrelerdir (60- 62, 64, 65, 68). Ayrıca en önce rejenere olan ve en son ölen hücreler bu zonda bulunur. Safra kanalı tıkanıklıklarından ilk olarak etkilenip morfolojik değişikliklere uğrayan hücreler de bu bölgedeki hücrelerdir (60, 68). Üçüncü zondaki hepatositler oksijen ve besin maddelerinden daha fakir kan ile beslenirler ve iskemiden ilk etkilenen hücrelerdir. Bu zondaki hepatositlerde yağ birikimi de erken ortaya çıkar. Toksik maddelerden ve safra kanal tıkanıklıklarından en son etkilenen hepatositler bu zondadır (60- 62, 68). Karaciğer asinüsünün zonları arasında hepatositlerin organel, enzim aktivitesi ve glikojen biriktirme kapasiteleri yönünden farklılıklar vardır (60).

#### 2.4.1. Hepatositlerin İnce Yapısı

Hepatositler çok yüksek metabolizma hızına sahip aktif bir biyokimyasal hücre havuzu oluştururlar. Burada çeşitli metabolik sistemler, substrat ve enerjilerini paylaşırlar. Vücudun diğer bölgelerine taşınacak birçok madde sentez edilir ve işlenir (52).

Karaciğerin parankimal hücreleri olan **hepatositler** santral venden periferine doğru ışınsal hücre kordonları şeklinde dizilmiş, poligonal şekilli, 20-30 µm çapında, ökromatik nükleuslu hücrelerdir (60, 62, 68). Hücrelerin birbirine bakan yüzlerinde safra kanalikülleri yer alır. Hepatositlerin diğer yüzleri sinuzoid kan kapillerine dönüktür. Sitoplazmaları asidofil boyanan bu hücrelerde merkezi yerleşimli, yuvarlak, ökromatik bir ya da iki adet nükleus bulunur. Hepatositlerin yaklaşık %20' si çift nükleusludur. Nükleus içinde belirgin bir ya da iki nükleolus izlenir (60, 61, 68).

Hepatositler aktif sentez ve sekresyon yapan, dolayısı ile organelden zengin hücrelerdir (60). Granüllü endoplazmik retikulumu (GER) oldukça gelişmiştir ve **bazofilik granüller şeklinde** boyanırlar (63- 65). Hepatositler sentezledikleri proteinleri genellikle salgı granülleri şeklinde depo etmez, sürekli olarak kan dolaşımına verir. Ayrıca hepatositler bol miktarda serbest ribozoma sahiptirler (63, 70).

Hepatositler yüksek düzeyde enerji gereksinimlerini karşılamak için çok sayıda mitokondriyon içerirler. Her bir hepatositte yaklaşık 800 - 2000 adet mitokondriyon bulunur (62, 63, 68).

Hepatositlerde, Agranüler endoplazmik retikulum (AGER), kolesterol ve lipid sentezinden sorumlu enzimler ile toksik ürünlerin, ilaçların yıkımı ve konjugasyonu için gerekli enzimleri içerir. (60, 62- 65, 68, 70, 71). Toksik ajanlara maruz kalındığında, alkol, ilaç kullanımı sonrasında hepatositlerde AGER genişler ve miktarı artar (60, 62, 63, 68).

Hepatosit sitoplazmasında bol miktarda glikojen granülleri bulunur. Glikojen elektron mikroskobunda, genellikle sitosolde AGER yakınında toplanmış, rozet formunda granüller şeklinde görülür (62, 63). Karaciğerde bulunan glikojenin miktarı günlük ritme ve kişinin beslenme durumuna göre değişir. Hepatositler, vücut tarafından kullanılan enerjinin ana kaynaklarından biri olan kan glikozunu sabit bir düzeyde tutar (54, 63).

Hepatosit sitoplazmasında sayıları 50' ye varan golgi apparatusu bulunabilir (63, 68). Golgi apparatusu salgılanan proteinlerin glikolizasyonuna ve lizozomal enzimlerin çeşitlenme işlemlerine katılır (64, 65). Lizozomların oluşturulması ve plazma proteinlerinin (albumin, kompleman sisteminin proteinleri), glikoproteinlerin (transferin) ve lipoproteinlerinin salgılanmasında görev yaparlar (63, 70). Bu organelin özellikle safra kanaliküllerine yakın yerleşmesi safra sekresyonunda rolü olduğunu işaret etmektedir (60, 62, 68). Yer yer granüler ve AGER lümeninde görülen granüllere benzer yoğun granüller

golgi keselerinde de görülmektedir. Bunların çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) ve diğer lipid prekürsörleri olduğu düşünülmektedir. Çok düşük dansiteli lipoproteinlerin yapım yeri başlıca karaciğerdir ancak az miktarda ince barsakta da sentezlenir. Çok düşük dansiteli lipoproteinler, trigliseridleri karaciğerden diğer organlara taşır. Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ise başlıca plazmada yapılır, az miktarda karaciğerde de sentez söz konusudur. Düşük dansiteli lipoproteinler kolesterol esterlerini karaciğerden diğer organlara taşırlar. Yüksek dansiteli lipoproteinler ise aksine kolesterolü periferik organlardan karaciğere taşırlar (60, 68).

Hepatosit sitoplazmasında sıklıkla görülen diğer bir organel olan peroksizomlar, daha önceden var olan peroksizomlardan tomurcuklanarak oluşurlar. Peroksizomlar, peroksizomal matriks proteinlerini içerirler. Morfolojik ve fonksiyonel olarak mitokondriyonlara benzerlik gösterirler (64, 65). Mitokondriyonlar gibi oksijen kullanan organellerdir. Oksijen kullanımı oksidazlar aracılığı ile serbest radikal oluşumuna yol açtığından dolayı bu zararlı son ürünlerin de ortadan kaldırılması zorunludur. Oksijen son derece toksik bir ürün olan hidrojen peroksit'e yıkılır (60, 68). Peroksizomlar da hidrojen peroksiti su ve oksijene yıkan katalaz enzimi içerirler (60, 63- 65, 68). İnsanlarda ayrıca D-amino asit oksidaz ve alkol dehidrogenaz enzimleri bulunur. Peroksizomlar yağ asitlerinin  $\beta$  oksidasyonu, glukoneogenezde de görev alır. Ayrıca kolesterol, safra asitleri ve myelin yapımında kullanılan bazı lipitlerin sentezine katılmaktadır (60, 63, 68).

Lizozomlar golgi komplekslerinde yapıllar ve genellikle safra kanaliküllerine yakın yerleşimli olarak bulunurlar. Lizozomlar ayrıca hücre içi organellerin yıkımı ve dönüşümü için gereklidir (63). Hepatositlerdeki lizozomlar, ferritinin yıkım ürünü olan ve eriyebilir ferritin ile erimeyen hemosiderin şeklinde bulunan demiri depolarlar (45). Sitoplazmik lizozom içeriği hücre hasarı ve bazı hastalıklarda artış gösterir (60, 68).

Hepatositlerin birbirine komşu yüzlerinde yer alan intersellüler mesafe **safrakanaliküllerini** oluşturur (60- 63, 66). Safra kanalikülleri, karşılıklı plazma membranlarının periferden sıkı bağlantı komplekleri ile birbirine bağlanması ile oluşan, hücreler arası küçük kanalcıklar olup ışık mikroskopik düzeyde izlenemeyen intersellüler alanlardır (60- 65). Bu bölgede hepatositler arasında zonula okludens, zonula adherens ve desmozomalar bulunur (60). Hepatosit yüzeyinden kanalikül lümenine doğru mikrovilluslar uzanır (60, 62, 63). Mikrovilluslar ATPaz gibi enzimleri taşıyan membran alanını artırır (60). Safra kanalikülleri, lobül içinde anastomozlar yapar ve lobülün periferinde Herring kanalları ile

devam eder. Safranın akım yönü, kan akımını tersine, lobülün merkezinden periferine doğrudur (60- 65). Herring kanalları, apikal yüzlerinde mikrovilluslar içeren tek katlı kübik epitelle döşelidir. Epitel hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri mevcuttur (60, 62). Herring kanalının epitel hücreleri rejenerasyonda görev alan kök hücre özelliğinde olabilir (60). Safra, intralobüler Herring kanalını takiben portal alanlarda yer alan interlobüler safra kanallarına akıtılır (60, 61, 63- 66). Portal alanlardaki safra kanalları başlangıçta tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Kanalın çapı arttıkça epiteli tek katlı prizmatik epitele dönüşür ve bağ dokusu kılıfı belirginleşir (60, 61, 63). Safra kanalı epitel hücreleri de safra kanalikülleri ve Herring kanalında olduğu gibi apikal yüzlerinde mikrovilluslara sahiptir (60). Bu kanallar birleşip genişleyerek **sağ ve sol hepatik kanalları** oluştururlar (62, 63). Sağ ve sol hepatik safra kanalının birleşmesi ile oluşan duktus hepatikus, duktus sistikus ve duktus koledokus ekstrahepatik safra yollarını oluşturur (54, 60, 64, 65).

Hepatosit kordonları arasında izlenen **sinuzoidler** 9-15 µm çapında, düzensiz lümenli kapillerlerdir (60, 61, 63, 67). Sinuzoidler portal alanda seyreden intralobüler damarlardan kanlanırlar. Bağırsaktan ve dalaktan gelen portal venöz kan ve aortadan gelen arteriyel kan sinuzoidlerde karışır (60, 64, 65, 67). Kan akımı periferden santral vene doğrudur. Klasik karaciğer lobülünün merkezinde bulunan santral ven sublobüler venlere açılır. Bu damarlar daha sonra birleşerek hepatik veni oluştururlar, venöz dönüş nihai olarak vena kava inferiora olur (60, 62, 66, 68). Santral ven çok ince duvarlı bir damardır. Endotel altında ince bir bağ dokusu yer alır (60, 68). Pencereci kapiller özelliği gösteren sinuzoidleri döşeyen endotel hücreleri aralıklı olarak yerleşmişlerdir (60- 63, 66, 68). Bunun dışında endotel hücrelerinde de tamamen açık pencereler bulunur. Endotel altında yer alan bazal lamina da yer yer kesintili seyreder. Böylece kan ile hepatositler arasında madde değişimi mümkün olur (60, 62, 68). Sinuzoid duvarının hücreleri ile hepatositlerin sinuzoide bakan mikrovilluslu yüzeyi arasında **Disse mesafesi (perisinuzoidal mesafe)** denilen bir aralık bulunur. Bu alanlar kan plazması ile hepatositler arasında madde değişiminin yapıldığı alanlardır (60, 62, 63, 66, 68, 69). Disse aralığı tip I, III, IV kollajen lifleri içerir (62, 64, 65). Karaciğerin lenf sıvısı disse aralığından köken alır ve portal alanlardaki küçük lenf damarlarına boşalır. Bu alanda kan plazması serbestçe hareket eder. Hepatositlerin disse mesafesine bakan yüzlerindeki mikrovillusların varlığı membran yüzey alanını artırmaya yöneliktir (60- 62, 68). Kan plazması endotel duvarından kolayca geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Bu geçiş sadece çok sayıda büyük molekülün

(lipoprotein, albumin, fibrinojen) hepatositler tarafından kana verilmesi nedeniyle değil, aynı zamanda bu makromoleküllerin hepatositlerce alınıp çözünmesi nedeniyle de fizyolojik önem taşır (62, 63).

Sinuzoid duvarında endotel hücrelerinden başka **Kupffer hücreleri** ve **Ito hücreleri** bulunur (60, 62, 63, 68, 69). Kupffer hücreleri mononükleer fagosit sistemine ait makrofajlardır. Bu hücrelerin gelişimi kemik iliğinde sırası ile promonosit, monoblast ve monosit farklılaşması ile başlar. Monositler karaciğere yerleşerek Kupffer hücrelerine dönüşürler (60). Uzantılı yıldız şekilli bu hücrelerin gövdelerinin büyük bölümü sinuzoid lümeninde bulunur (60, 63, 68). Sitoplazmik uzantıları ile sinuzoid duvarına tutunurlar (60, 68). Bu hücreler kalın bağırsaktan portal kana geçen bakterileri, hasarlanmış eritrositlerden kaynaklanan sitoplazmik parçaları ve demiri fagosit ederler (60- 63, 68, 70, 71). Lizozomlar yönünden zengin olan bu hücrelerin çok sayıda yalancı ayaklar şeklinde sitoplazmik çıkıntıları, endositik vezikülleri vardır. Ferritin, hemosiderin granülleri şeklinde Kupffer hücrelerinin sitoplazmasında depolanabilir (60- 63, 68). Kupffer hücreleri karaciğer hücre topluluğunun yaklaşık %15' ini oluşturur (63).

Perisinüzoidal alanda yerleşen bir başka hücre tipi **Ito hücresi** (liposit, yağ depolayan hücre, stalleta hücre) olarak isimlendirilen hücrelerdir (60- 65, 68, 70). Mezenkimal orjinli olan bu hücreler, içerdikleri sitoplazmik lipid damlalarında retinil esterleri şeklinde A vitamini depolarlar (60, 64, 65, 68, 70, 71). Bu hücrelerden retinol olarak salınan A vitamini proteinlere bağlanarak retinaya ulaşır. Burada içerdği 11- cis retinal opsin proteini ile bağlanarak rodopsini oluşturur. Rodopsin görmeyi sağlayan bir retina pigmentidir (60, 68). Bu hücrelerin ekstrasellüler matriks proteinlerini ve proteoglikanları, büyüme faktörleri ve sitokinleri salgılayabildikleri, çeşitli düzenleyici maddelere (prostoglandin, tromboksan A2) yanıt olarak sinuzoid lümen çapının düzenlenmesinde görev aldığı bilinmektedir (60- 65, 68). Normal şartlarda karaciğer hücrelerinin yaklaşık % 5- 8' ini oluşturan bu hücrelerin lipid depolamalarının yanı sıra lipid yapısındaki antijenleri NK hücrelere sunarak onların proliferasyonunu stimüle eden antijen sunan hücreler olabilecekleri öne sürülmüştür (60, 62). Karaciğer hasarını takiben Ito hücreleri aktive olur, sitoplazmalarında lipid miktarı azalır. Ito hücrelerinde proliferasyon, kontraktilite ve kemotaksis görülür. İçerdikleri desmin ve  $\alpha$  aktin sayesinde kasılarak sinuzoidin vasküler rezistansını artırır. Bu durum portal hipertansiyonla sonuçlanır (60, 68). Ito hücreleri kronik inflamasyon veya sirozda miyofibroblastlara

dönüşerek tip I, II ve III kollajen sentezlerler (60- 65, 68, 70). Ito hücreleri miyofibroblastlara benzetmekle birlikte reelin içermeleri ile miyofibroblastlardan ayrılırlar. Reelin ekspresyonu karaciğer hasarını takiben artar. Parankima yerine bağ dokusunun yapımı fonksiyonel olan bir dokunun yerini fonksiyonel olmayan bir dokunun alması anlamına gelir (60, 68). Bu durum sirozun en önemli histopatolojik özelliğidir (60, 64, 65, 68).

## 2.5. Karaciğer Rejenerasyonu

Hepatositler yaklaşık 150 günlük yaşam yaşam süresine sahiptirler ve normalde mitoz seyrek olarak görülür. Hepatotoksik ajanlara maruz kalındığında veya hepatektomi sonrasında hepatositlerde proliferasyon artar (62). Kısmi hepatektomiden sonra sadece hepatositlerde değil, safra kanalı epitel hücrelerinde (oval hücreler = kolonjiyol ve hering kanalında bulunur) ve endotel hücrelerinde de proliferasyon görülür (60, 62). Hücre proliferasyonu periportal alandan başlar, lobülün merkezine doğru ilerler. Prolifere olan hücreler öncelikle gruplar oluştururlar, daha sonra hücre dizileri şeklinde yeniden düzenlenirler. Çoğalmakta olan hepatositler kısmen fetal fenotiplerinin özelliklerine geri dönerler, alfa- fetoprotein taşırlar. Hücreler rejenere olurken normal metabolik faaliyetlerini sürdürmeye devam ederler. Karaciğer rejenerasyonu bir takım mitojenik faktörlerin ve büyüme faktörlerinin stimüle edici etkisi ile gerçekleşir. Bunlardan bazıları hepatosit growth faktör, TNF-  $\alpha$ , interleukin- 6, epidermal growth faktör, transforming growth factor- $\alpha$ , transforming growth factor-  $\beta$ , norepinefrin ve insülin (60, 62). Erişkin memelilerde normal şartlarda hepatositler hücre siklusunun G<sub>0</sub> safhasındadırlar. Karaciğerin kısmi olarak çıkarılması veya harap olması hepatositlerin bu safhadan çıkarak mitozun ilerleyen safhalarına girmesine neden olur, böylece proliferasyon gerçekleşir. Farelerde kısmi hepatektomiden sonra DNA replikasyonunun 20- 24 saat içinde başladığı ve 48 saat sonra hepatositlerin çoğunun S safhasında bulunduğu gösterilmiştir (60).

Hepatositler toksik maddelerden ve iskemiden kolaylıkla etkilenirler. Hücreye zarar veren ajanların en önemli hedeflerinden biri membran sistemi olduğundan dolayı membrandan zengin endoplazma retikulumu, mitokondriyon gibi organeller çabuk zarar görür. Endoplazma retikulumu dilatasyonu, mitokondriyonlarda ödem, krista kaybı, myelin

figür oluşumu en sık rastlanan organel değişiklikleridir. Hepatositler etkene ve etkenin dozuna bağlı olarak apopitoz veya nekrozla ölümler (68).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 80 adet, erişkin, 150-180 g ağırlığında Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar havalandırması olan,  $22 \pm 2$  °C' lik ısı ve mevsimsel gün ışığı ritmindeki aydınlatmalı odalardaki özel kafeslerde dörtlü gruplar şeklinde konuldu. Bütün sıçanlar standart pelet sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

Sıçanlar 10 gruba (n=8) ayrıldı ve tartılarak deney başlangıcındaki ağırlıkları kaydedildi.

#### 3.1. Deney Grupları

1. grup: % 0,9 NaCl 1 ml/kg/gün
2. grup: Zeytinyağı 1 ml/kg/gün
3. grup: CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg/gün
4. grup: Resveratrol 10 mg/kg/gün
5. grup: Melatonin 20 mg/kg/gün

İlk beş gruptaki (grup 1-5) uygulamalar 4 gün süreyle ve intraperitoneal (i.p.) yolla yapıldı.

6. grup: % 0,9 NaCl 1 ml/kg/gün
7. grup: Zeytinyağı 1 ml/kg/gün
8. grup: CCl<sub>4</sub>, 1 ml/kg/gün
9. grup: Resveratrol 10 mg/kg/gün
10. grup: Melatonin 20 mg/kg/gün

Son beş gruptaki (grup 6-10) uygulamalar 20 gün süreyle ve i.p. yolla yapıldı.

Çalışmanın 5. gününde ilk beş gruptaki sıçanlar, 21. gününde ise son beş gruptaki sıçanlar tartılıp ağırlıkları kaydedildikten sonra servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Daha sonra sıçanların karın ve göğüs boşlukları açılarak, intrakardiyak kan ve karaciğer

doku örnekleri alındı. Alınan karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopik incelemeler için % 10' luk nötral tamponlu formaldehit (NTF) ve Carnoy tespit solüsyonlarına, elektron mikroskopik incelemeler için % 2,5 gluteraldehit solüsyonuna konuldu. Biyokimyasal incelemeler için alınan karaciğer doku örnekleri -80 ° C de donduruldu. Kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı.

### **Fiksatifler:**

#### **Formaldehit solüsyonu (Fosfat tamponlu %10' luk)**

Formaldehit.....7 ml

Fosfat tamponu.....93 ml

#### **Carnoy Solüsyonu**

Etanol (absolü)..... 60 ml

Kloroform..... 30 ml

Glacial asetik asit..... 10 ml

### **3.2. Işık Mikroskopik Teknik**

Formaldehit ile tespit edilen karaciğer doku örnekleri 48 saatlik tespit süresi sonunda çeşme suyunda yıkandıktan sonra Shandon Citadel 1000 otomatik doku takip cihazında aşağıdaki doku takip basamaklarından geçirildi.

- 1- %70 alkol.....1 saat
- 2- %80 alkol.....1 saat
- 3- %96 alkol..... 1 saat
- 4- %96 alkol..... 1 saat
- 5- %96 alkol..... 1 saat
- 6- Absolü alkol.....1 saat
- 7- Absolü alkol.....1 saat
- 8- Absolü alkol.....1 saat
- 9- Ksilen.....1 saat
- 10- Ksilen.....1 saat
- 11- Parafin I .....2 saat

12- Parafin II ..... 2 saat

Carnoy fiksatif ile +4 °C de 6 saat süreyle tespit edilen karaciğer doku örneklerine, doku takibinin 7. basamağındaki absölü alkolden itibaren doku takip işlemi uygulandı. Doku takip işlemleri tamamlanan karaciğer doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitlere Hematoksilen-eosin (H&E), Trikrom ve Periodic acid-Schiff (PAS) boyama yöntemleri uygulandı. Boyanan karaciğer kesitleri Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win görüntü analiz sisteminde (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) incelenerek, yağılanma ve hasar dereceleri skorlandı.

**MAYERS' in HEMATOXYLEN- EOZİN METODU:**

Doku örneklerinden kesitler alındıktan sonra kesitler 1 saat 60 °C etüvde bekletilerek parafinin erimesi sağlandıktan sonra aşağıdaki sıralandığı şekilde H&E boyaması uygulandı.

- 1- Ksilen 5 dakika x 3 defa
- 2- %80 alkol 3 dakika
- 3- %96 alkol 3 dakika x 2 defa
- 4- Absölü alkol 3 dakika x 2 defa
- 5- Distile suda yıkama 5 dakika
- 6- Mayer's Hematoxylen 5 dakika
- 7- Çeşme suyu 25 dakika
- 8- Eosin 2 dakika
- 9- %96 alkol 3 dakika x 2 defa
- 10- Absölü alkol 3 dakika x 2 defa
- 11- Ksilen 5 dakika x 3 defa

Bu işlemler uygulandıktan sonra lamaların üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

**MASSON' S TRICHROME BOYA METODU**

Doku örneklerinden kesitler alındıktan sonra kesitler 1 saat etüvde bekletildi ve dokunun çevresindeki parafinin erimesi sağlandı. Daha sonra kesitlere sırası ile aşağıdaki boya metodu uygulandı.

- 1- Ksilen 5 dakika x 3 defa
- 2- %80 alkol 3 dakika
- 3- %96 alkol 3 dakika x 2 defa
- 4- Absölü alkol 3 dakika x 2 defa
- 5- Distile suda yıkama 5 dakika
- 6- Demirli Hematoksilen 10 dakika
- 7- Çeşme suyunda yıkama 5 dakika
- 8- Biebrich scarlet – asit fuksin 15 dakika
- 9- Distile suda yıkama
- 10- Fosfomolibdik asit – fosfotungustik asit solüsyonu 15 dakika
- 11- Light green 1 dakika
- 12- Distile suda yıkama
- 13- Fosfotungustik asit 15 dakika
- 14- %96 alkol 3 dakika x 2 defa
- 15- Absölü alkol 3 dakika x 2 defa
- 16- Ksilen 5 dakika x 3 defa

Bu işlemler uygulandıktan sonra lamaların üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatılmıştır.

### **PERİYODİK ASİT- SCHIFF (PAS) BOYA METODU**

Doku örneklerinden kesitler alındıktan sonra kesitler 1 saat etüvde bekletilerek parafinin erimesi sağlandı. Daha sonra kesitlere sırası ile aşağıdaki boya metodu uygulandı.

### **PERİYODİK ASİT SCHIFF BOYAMASI**

- 1- Ksilen 5 dakika x 3 defa
- 2- %80 alkol 3 dakika
- 3- %96 alkol 3 dakika x 2 defa
- 4- Absölü alkol 3 dakika x 2 defa
- 5- Çeşme suyu 5 dakika
- 6- Periyodik asit 5 dakika
- 7-Distile suda yıkama 5 dakika
- 8- Schiff solüsyonu 15 dakika

9- Çeşme suyunda yıkama 10 dakika

10- Hematoxylen 5 dakika

11- Çeşme suyunda yıkama 5 dakika

12- %96 alkol 3 dakika x 2 defa

13- Absolü alkol 3 dakika x 2 defa

14- Ksilen 5 dakika x 3 defa

Boyama işlemleri sonunda kesitler lamel ile kapatılmıştır.

### 3.3. Karaciğer Hasar Skorlama Yöntemi

Hematoksilen-eosin ile boyanan kesitlerde hepatositlerde yağlanma, inflamasyon ve nekroz, trikrom ile boyanan kesitlerde fibrozis, PAS ile boyanan kesitlerde glikojen kaybı skorlandı.

Hepatositlerdeki yağlanma 0 – 3 arasında derecelendirildi (yağlanma yok = 0, hepatositlerin % 33' ünden az = 1, hepatositlerin % 33 -% 66' sı arasında= 2, hepatositlerin 66' sından fazla = 3) (9, 72) .

İnflamasyon, fibrozis ve nekroz 0 – 3 arasında derecelendirildi (yok = 0, hafif = 1, orta = 2, şiddetli = 3). Maksimum toplam skor 12.

Hepatositlerde glikojen kaybı 0 – 3 arasında derecelendirildi (Kuvvetli PAS+ boyanma = 0, orta şiddette PAS+ boyanma = 1, zayıf PAS+ boyanma = 2, PAS boyanma yok = 3)

### 3.4. Transmisyon Elektron Mikroskopisi

Sıçanların karaciğerlerinden alınan yaklaşık 1 mm<sup>3</sup> hacmindeki doku örnekleri ilk olarak % 2,5' luk gluteraldehit (Glutardialdehyde solution 25% for electron microscopy 250 ml, MERCK, Germany) ve ikinci olarak da % 1 Osmium tetroksit (Osmium (VIII) oxide for microscopy 500 mg, MERCK, Germany) (OsO<sub>4</sub> ) ile tespit edildi. Aseton ile dehidratasyonu takiben araldit (CY212, TAAB, E006, England) içine gömüldü.

#### % 2,5 Gluteraldehit Solüsyonu

|                      |       |
|----------------------|-------|
| 0,2 M fosfat tamponu | 50 ml |
| %25 Gluteraldehit    | 12 ml |
| Distile su           | 38 ml |

### % 1 Osmium Tetroksit solüsyonu

Osmium tetraoksit solüsyonu ışık almaması için kahverengi cam şişede 5 ml distile su içine 100 mg'lık ampul kırıldı ve buzdolabına konuldu. Fosfat tamponundan ve %1'lik osmiumdan bir miktar alınıp karıştırıldı.

### Fosfat tamponu

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  | 38 cc |
| Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 12 cc |
| Deiyonize Su                      | 50 cc |

### Araldit

|                                                |      |
|------------------------------------------------|------|
| DDSA (Dodecenly Succinic Anhydride, TAAB,D025) | 20cc |
| Araldit CY212                                  | 20cc |
| BDMA (Benzyl Dimethylamine, TAAB,B008)         | 1 cc |

- 1- Gluteraldehit 2 saat (+4 °C)
- 2- Fosfat tampon 0.1 M 15' x 4 defa
- 3- Osmium tetroksit 1,5 saat (+4 °C)
- 4- Fosfat tampon 0.1 M 15' x 4 defa
- 5- Aseton % 30 20'
- 6- Aseton % 50 20'
- 7- Aseton % 70 20'
- 8- Aseton % 90 20' x 2 defa
- 9- Aseton % 100 20' x 2 defa
- 10- Aseton/Araldit 1 saat
- 11- Araldit 1 gece (rotatorda)
- 12- Jelatin kapsüllerde araldit içine gömme, 45 °C etüvde 4 saat, 60 °C etüvde 16 saat polimerizasyon.

Jelatin kapsüller içinde hazırlanan araldit bloklar trimer (Leica EM trim) cihazında trimlendikten sonra ultramikrotom (Leica Ultracut R) ile 80 nm kalınlığında karaciğer

kesitleri bakır gridler üzerine alındı. Kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandıktan sonra Zeiss Libra 120 TEM ile incelenerek fotoğraflar alındı.

**Uranil Asetat Boyası:**

80 ml Metil Alkol

2 g Uranil Asetat

20 ml Distile Su

Gridler bu karışımda 20 dakika boyandı.

**Kurşun Sitrat Boyası:**

10 N Sodyum Hidroksit (5 ml distile su içinde 2 gr NaOH eritildi.)

50 ml Distile Su

200 mg Kurşun Sitrat

Üzerine 10 N sodyum hidroksitten 0,5 ml katıldı. Temiz şişelere konup gridler bu karışımda 10 dakika boyandı.

**3.5. Biyoistatistik Yöntem:**

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows Version 13.0 yazılım programı kullanıldı. Verilerimiz aritmetik ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  standart sapma (SD) olarak sunuldu. İstatistiksel değerlendirmede grupların genel karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans analizi ve grupların ikili karşılaştırılmasında Connover Testi kullanıldı.  $P < 0,0001$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**3.6. Biyokimya yöntemi**

**3.6.1. Dokuların Homojenizasyonu**

Karaciğer dokusu 1/5 w/v oranında PBS tamponu (pH 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında IKA-Werke T25 homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenattan 1 mL MDA ölçümü için ayrıldı. Kalan homojenatlar, Sonics VCX130 sonifikatörde 30 saniyelik aralıklar ile 4 defa 15 saniye sonifiye edildi. Sonifiye işlemlerinin ardından 10.000 g de, +4 °C de 10 dakika Nüve NF 800R mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı. Böylece enzim aktiviteleri ve protein tayinin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapılmaya kadar -70 °C de derin dondurucuda saklandı.

### 3.6.2. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini:

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck H. yöntemine göre yapıldı (73).

#### Gerekli Çözeltiler:

- 1/15 M konsantrasyonda Na, K-fosfat tamponu ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pH: 7
- Derişik hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) çözeltisi

#### Yöntem:

Katalaz ölçümünde kullanılmak üzere spektrofotometrede 240 nm' de absorbans 0,7- 0,9 oluncaya kadar Na-K-fosfat tampon çözeltisine derişik (% 35 lik)  $\text{H}_2\text{O}_2$  ilave edildi. Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000  $\mu\text{l}$  alınıp küvete kondu ve üzerine çalışma aralığına bağılı olarak 30  $\mu\text{l}$  başlayarak gittikçe artan konsantrasyonlarda süpernatant eklendi ve bir kez karıştırılıp Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 30 sn süreyle  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' nin ( $\epsilon = 0,0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$ ) absorbans değişimi okundu. Okunan bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı hesaplandı.

### 3.6.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini:

Süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev alan SOD enziminin aktivite tayini McCord J.M, Fridovich I (74) yöntemine göre yapılmış olup yöntemin esası ksantin-ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom-c' yi indirgemesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanır.

Süperoksit dismutaz çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit ( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ) radikalının  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ksantin – ksantin oksidaz (XO) sistemi ile üretilen  $\text{O}_2^{\cdot -}$  radikallerinin sitokrom c okside etmesi sonucu oluşan renk değişimi 550 nm' de takip edilerek belirlendi. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi. Bu reaksiyonu % 50 inhibe eden örneklerdeki SOD miktarı 1 Unite (U) olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Absk} \text{örv} - \text{Absnum}) / \text{Abs k} \text{örv} \times 100.$$

#### Gerekli Çözeltiler:

**A çözeltisi:**

- 5  $\mu$ mol ksantin 0.001 N NaOH' daki çözeltisi: 10 hacim
- 2  $\mu$ mol sitokrom- C' nin 50 mM pH 7,8 ve 0,1 mm EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi: 100 hacim

A çözeltisi belirtilen hacim oranlarında karıştırılarak hazırlanır. Bu çözelti +4°C de 3 gün kararlıdır.

**B Çözeltisi:**

Ksantin oksidazın 0,1 mm EDTA' daki çözeltisi 0.2U/ml

B çözeltisi deneyden önce taze olarak hazırlanır.

**Yöntem:**

- 1) 3 mL' lik spektrofotometre küvetine 2,9 mL A çözeltisi eklendi.
- 2) 50  $\mu$ L örnek ilave edildi.
- 3) Tepkime 50  $\mu$ L B çözeltisinin eklenmesiyle başlatıldı.
- 4) Daha sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 550 nm deki absorbans değişimi (1dk) okundu.
- 5) Kör okuması yapılırken örnek yerine 50  $\mu$ L distile su eklendi.
- 6) Örneklerin % inhibisyon değerleri hesaplandı.

**3.6.4. Total Glutasyon (GSH) Ölçümü:**

5-tio-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm' de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ekstrakt içindeki GSH miktarı ticari bir GSH standart olarak kullanılarak nmol/mg protein cinsinden belirlendi (75).

**3.6.5. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi:**

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonu, son ürün olan (MDA) miktarının Beuge JA (76) yöntemine göre belirlenmesiyle bulundu.

**Gerekli Çözeltiler:**

- % 15' lik TCA çözeltisi 1 hacim

- % 0.375' lik TBA çözeltisi 1 hacim
- 0.25 N' lik HCl çözeltisi 1 hacim

Yukarıdaki üç çözeltinin hassas bir şekilde hazırlanıp belirtilen hacim oranlarında karıştırılmasıyla bir solüsyon hazırlandı.

**Yöntem:**

1-10 mL' lik santifüj tüpleri alındı ve bütün tüplere hazırladığımız solüsyondan 4 mL kondu.

2- Kör tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 1 mL homojenat kondu.

3- Bir kez şiddetli bir şekilde karıştırıldı.

4- Kaynar suda ( 95-100 °C de ) 20 dk bekletildi.

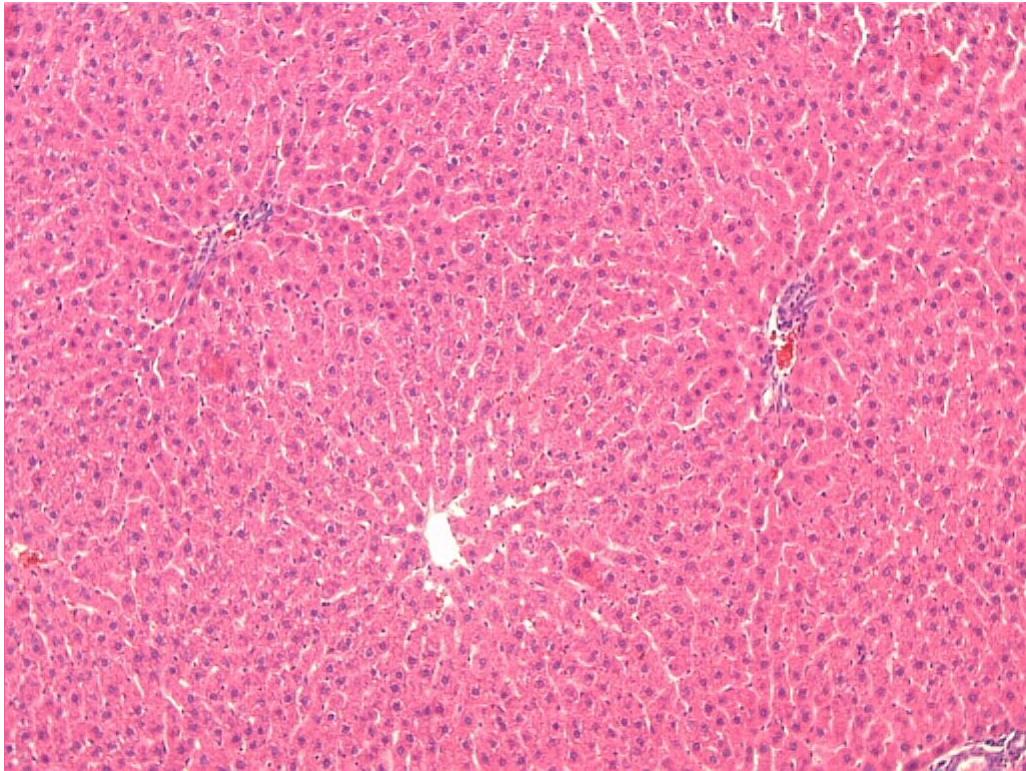
5- Daha sonra tüpler soğutuldu ve 3500 rpm de 10 dk santrifüj edildi.

6- Elde edilen süpernatanın Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresinde 535 nm deki MDA-TBA kompleksinin ( $\epsilon : 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) absorbansı okunarak MDA miktarı hesaplandı.

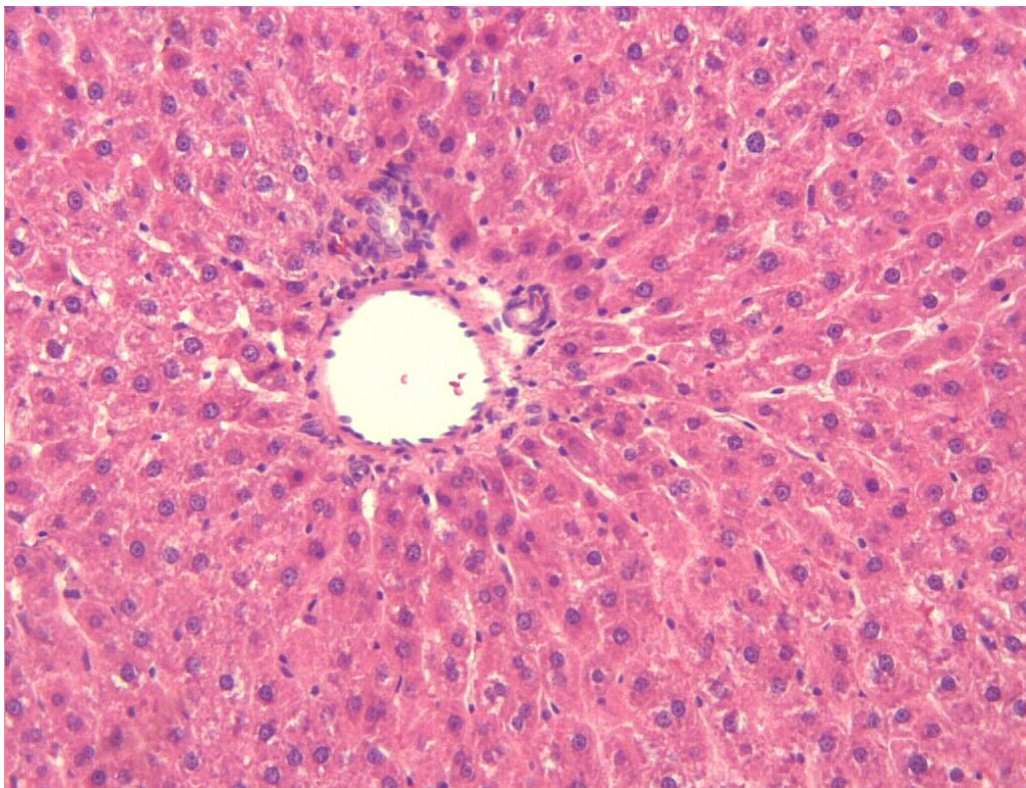
## **4. BULGULAR**

### **4.1. Histolojik Bulgular**

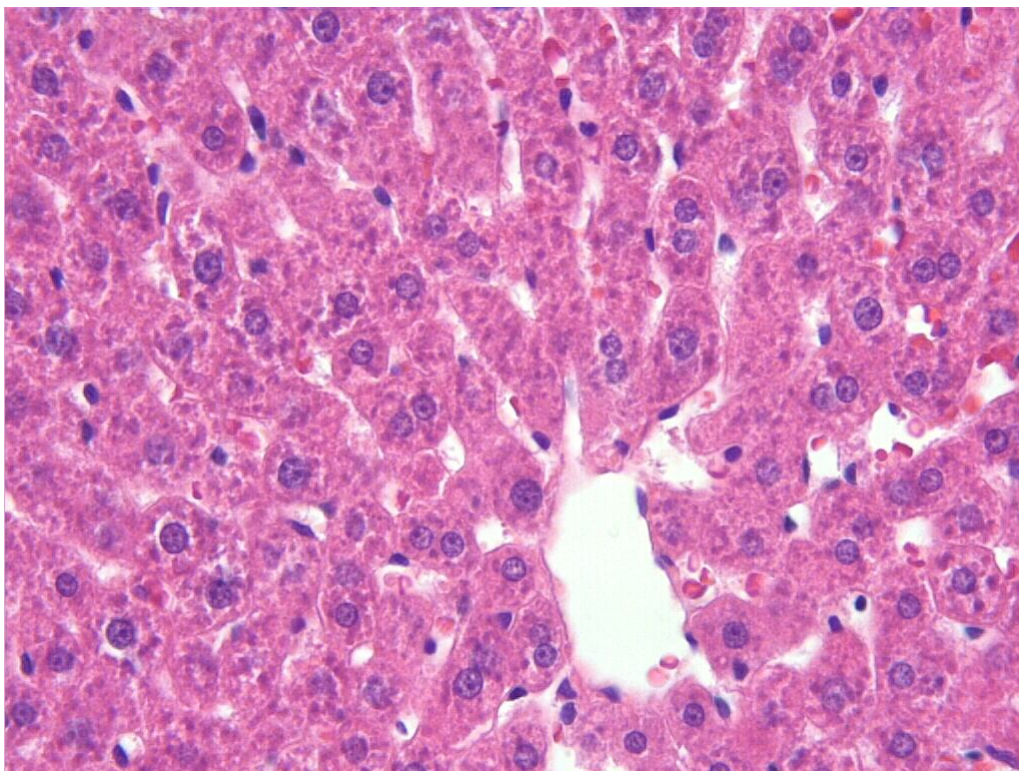
Akut uygulama yapılan kontrol ve zeytinyağı gruplarında (grup 1, 2) ait H-E ile boyanan karaciğer kesitleri benzer şekilde normal histolojik yapıda gözlendi. Kesitlerde karaciğer parenkimi dıştan ince Glisson kapsülü ile çevrilmişti. Parankimal alanlarda santral venler etrafından ışınal olarak dizilmiş hepatosit kordonları ve bu kordonlar arasında sinüzoidler açık olarak izledi. Karaciğerin lobüler yapısı, merkezde santral ven ve periferde yerleşik portal alanlar şeklinde görülmekle birlikte lobüllerin bağ dokusu sınırları belirgin değildi. Portal alanlar içinde arter, ven ve safra kanalı yapıları mevcuttu (Resim 1, 2, 3, 7, 8, 9). Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerin incelenmesinde hepatositlerin sitoplazmasında özellikle sinüzoidal yönünde yoğun PAS+ boyanma dikkati çekti (Resim 4, 5). Trikorom ile boyanan kesitlerde ince glisson kapsülü ve portal alanlarda kıt bağ dokusu izlendi (Resim 10, 11). Bu gruplara ait hasar parametrelerinin ve toplam hasar skoru sıfırdı (Tablo 1). Ayrıca bu gruplarda nadir olarak mitoz figürlerine rastlandı.



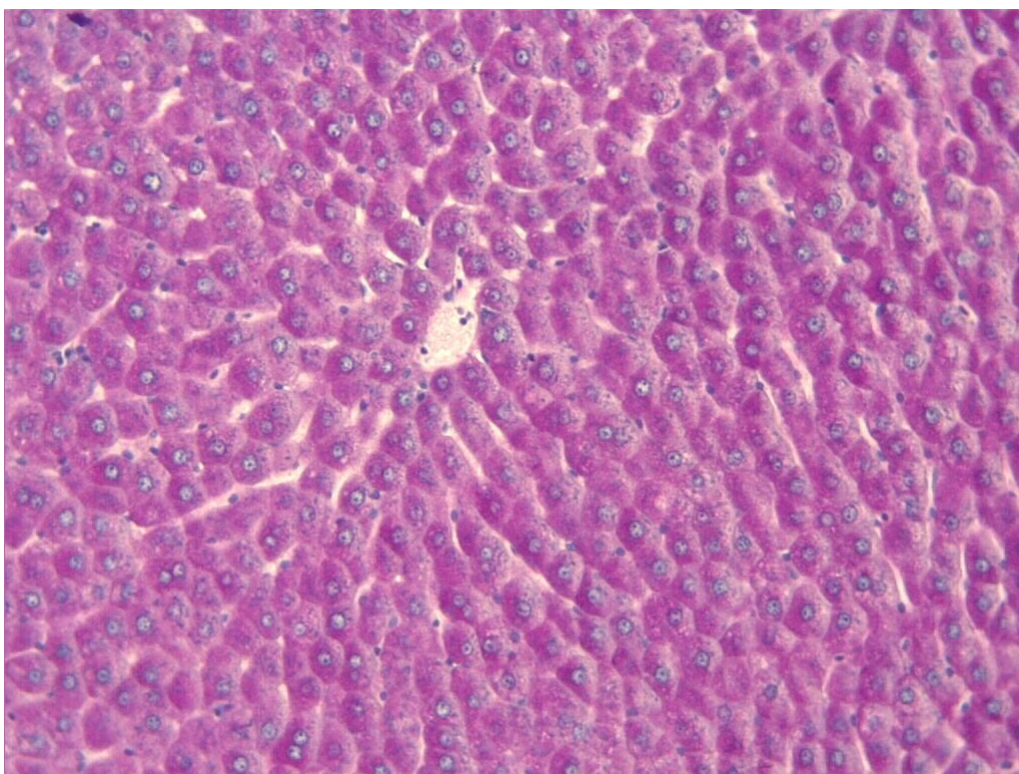
**Resim 1. Grup 1: H&E x10**



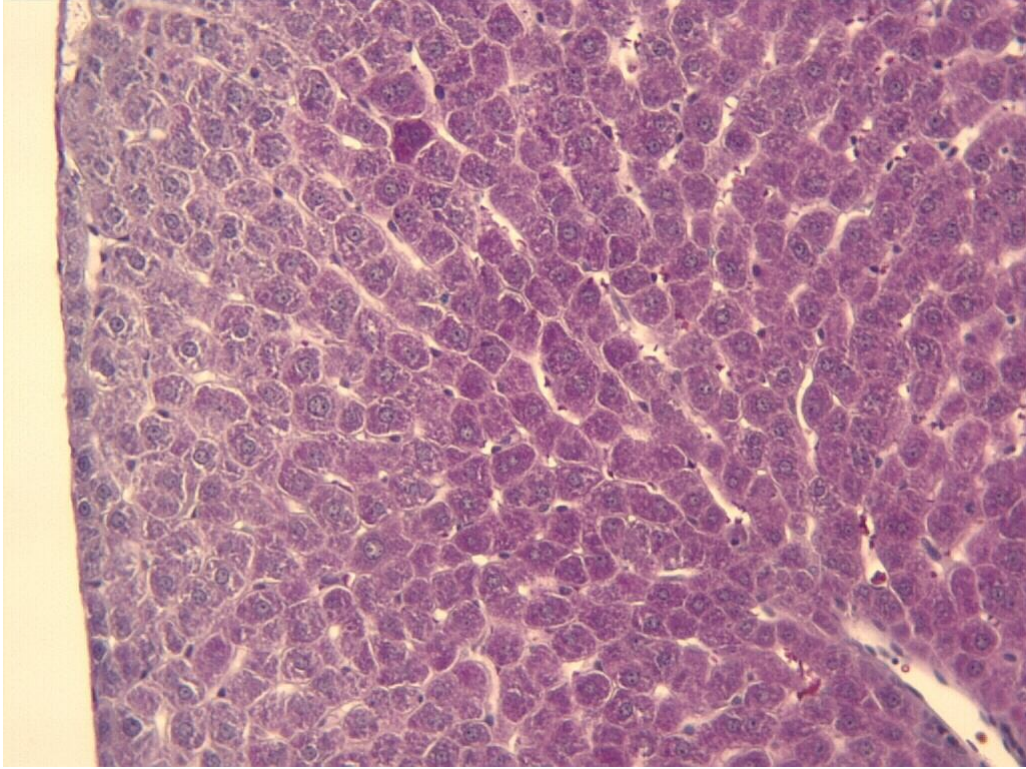
**Resim 2. Grup 1: H&E x20**



**Resim 3. Grup 1: H&E, x40**

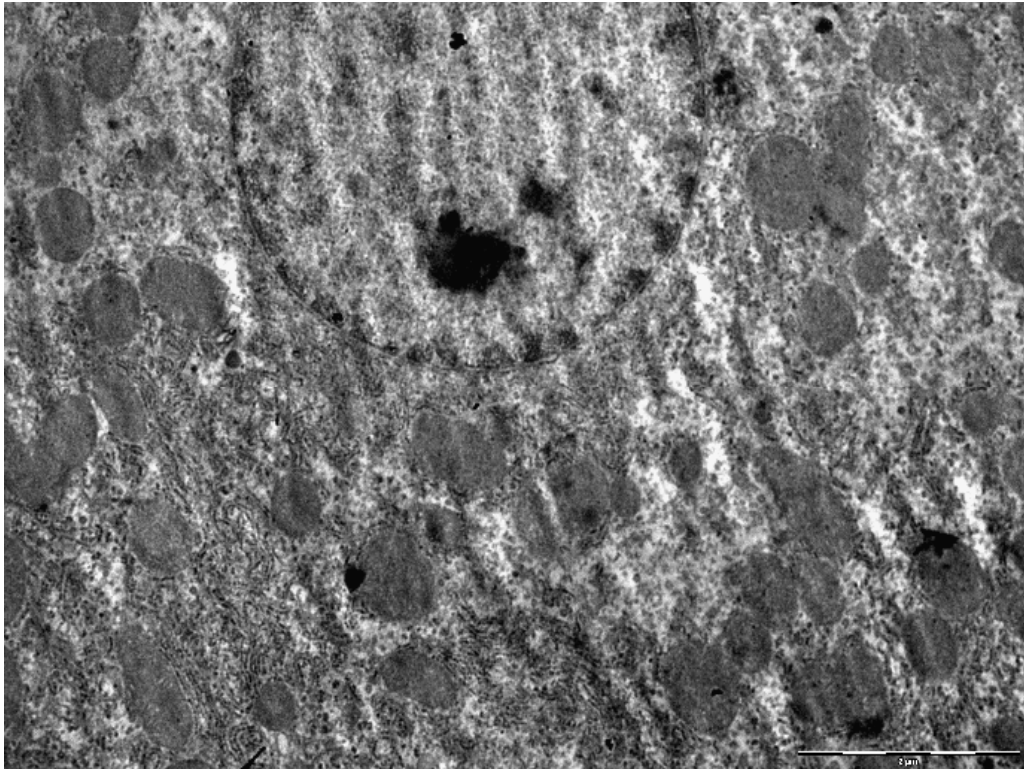


**Resim 4. Grup 1: PAS, x20**

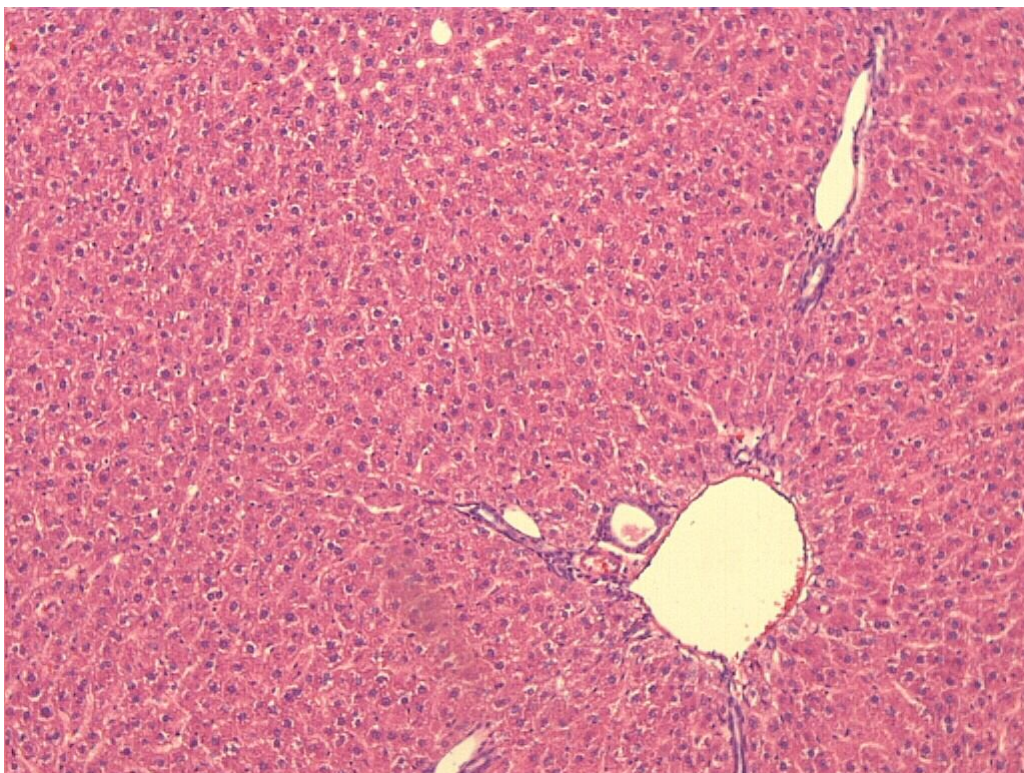


**Resim 5. Grup 1: Trk, x20**

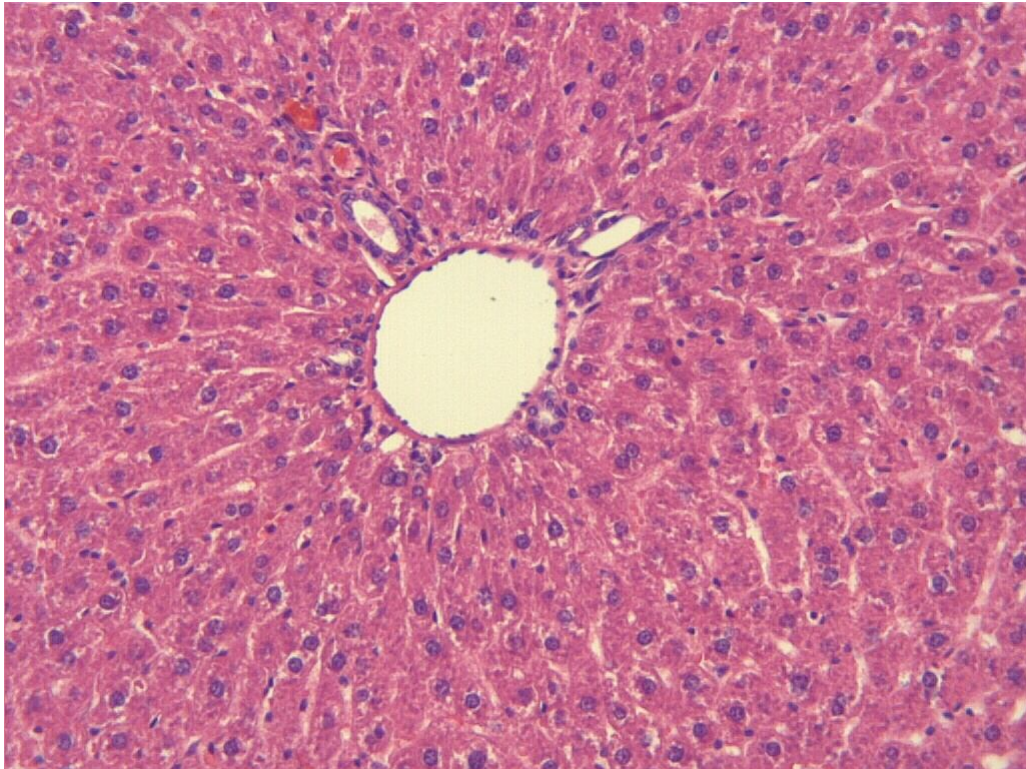
Akut uygulama yapılan kontrol ve zeytinyağı gruplarına ait karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde hepatositler normal ultrastrüktürel yapıda izlendi (Resim 6, 12). Hepatositler arasında safra kanalikülleri ve sinüzoidler olağan yapılarında görüldü. Normal ultrastrüktürel yapıdaki sinüzoid endotel hücreleri ve hepatositler arasındaki bölgelerde disse aralıkları açık olarak izlendi.



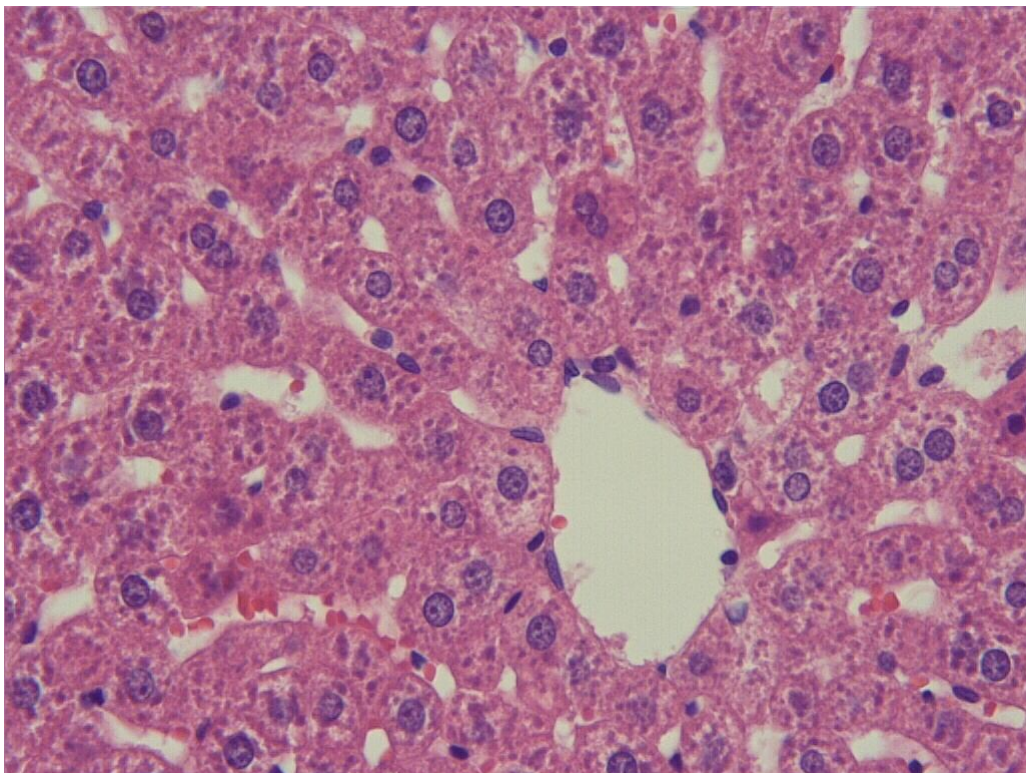
**Resim 6. Grup 1: TEM x10000**



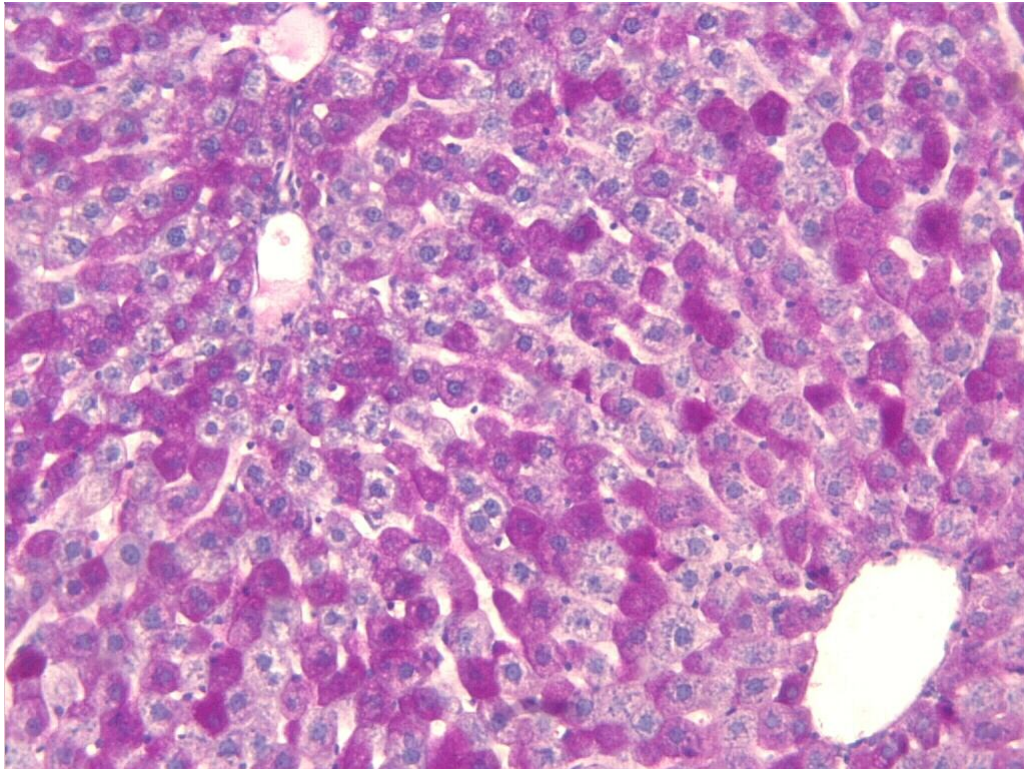
**Resim 7. Grup 2: H&E x10**



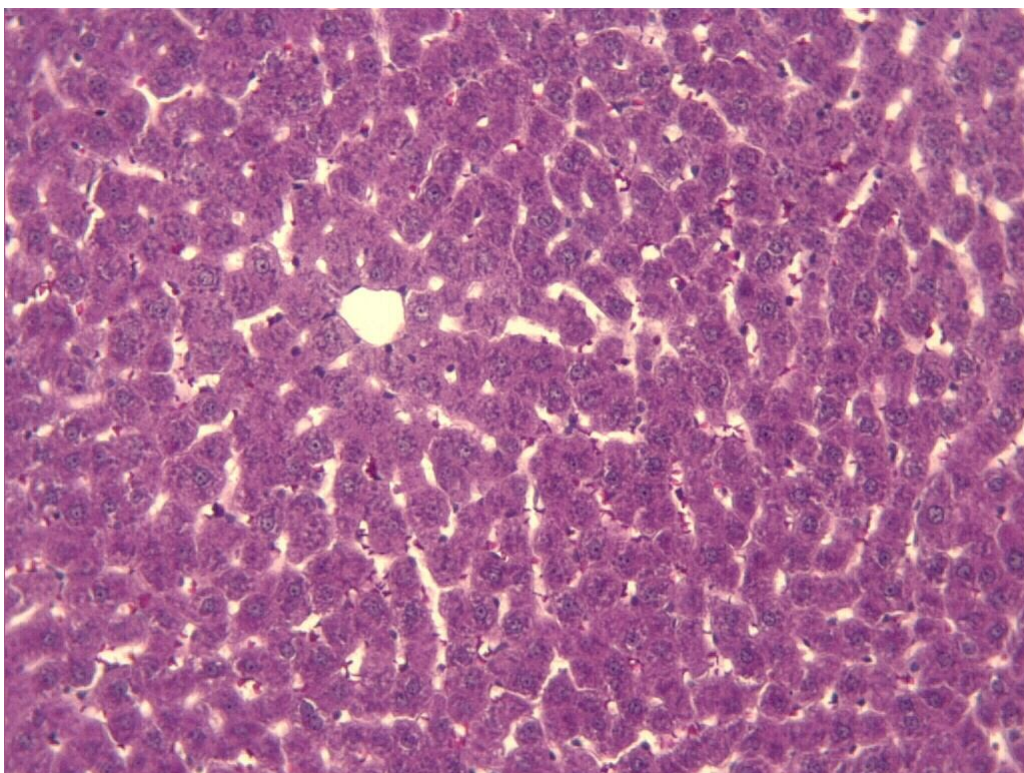
**Resim 8. Grup 2: H&E x20**



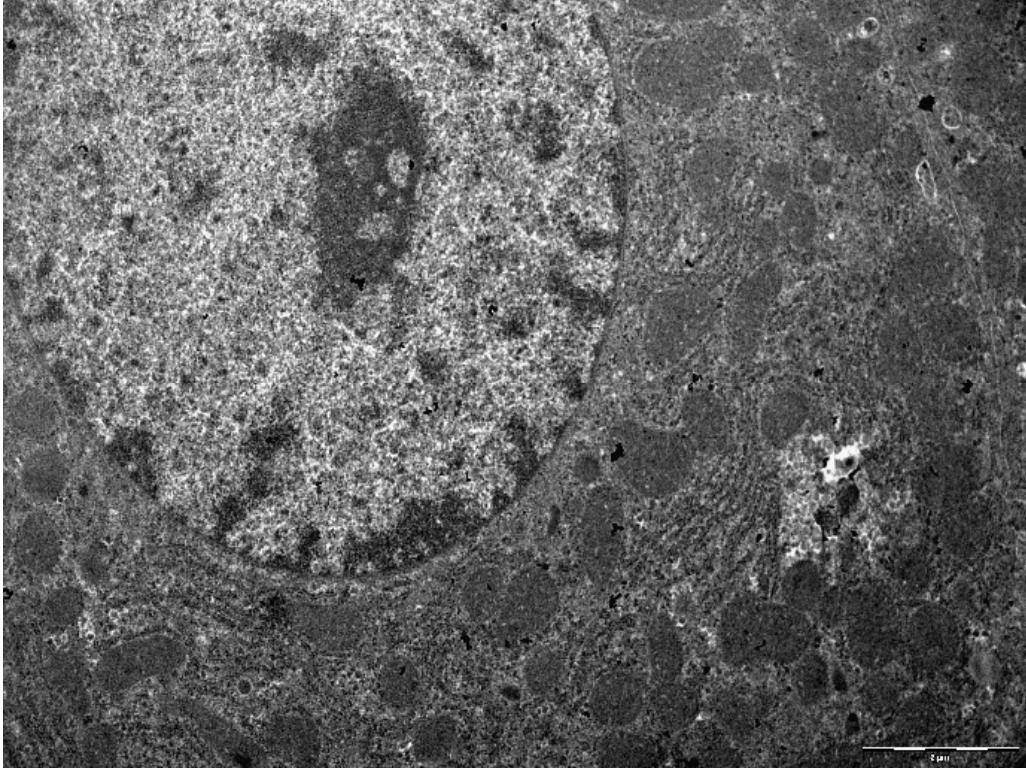
**Resim 9. Grup 2: H&E x40**



**Resim 10. Grup 2: PAS x20**



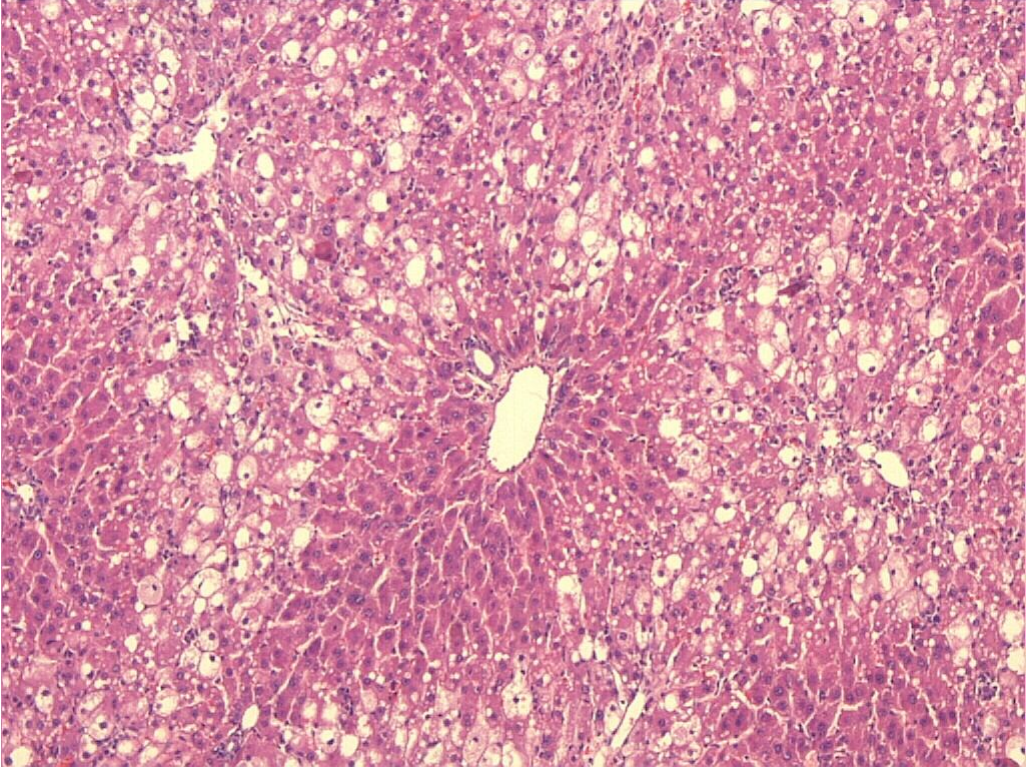
**Resim 11. Grup 2: Trk, x20**



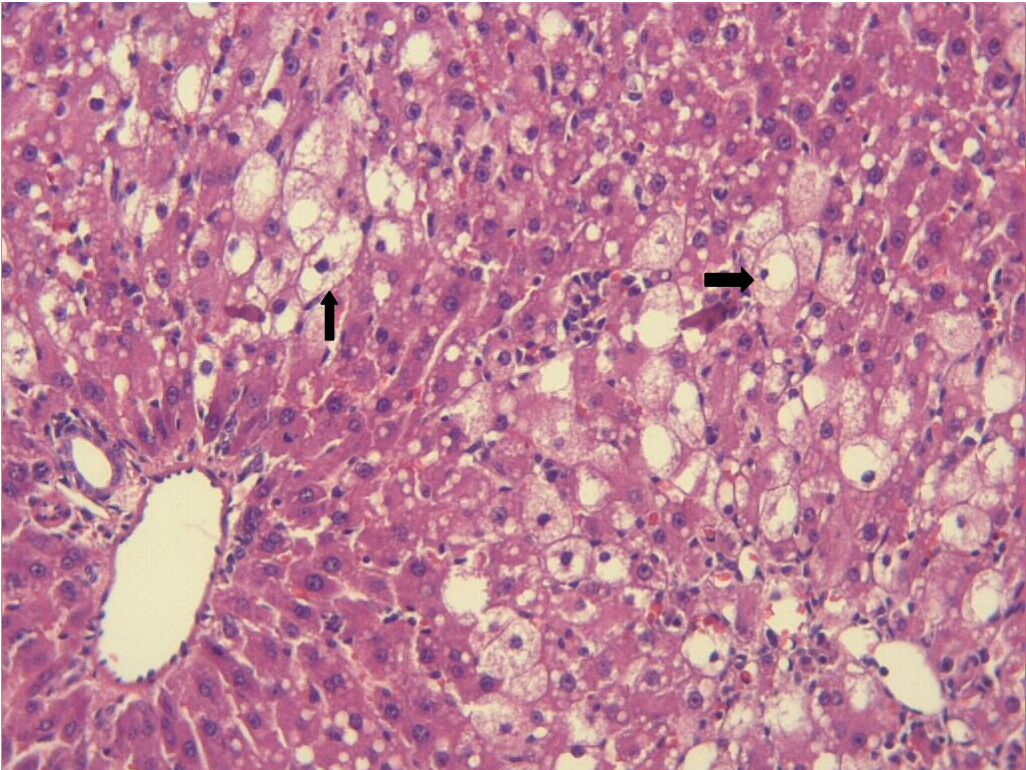
**Resim 12. Grup 2: TEM x7000**

Akut  $\text{CCl}_4$  uygulanan (grup 3) gruptaki sıçanların H-E ile boyanan karaciğer kesitlerinde özellikle lobüllerin merkezi bölgelerindeki hepatositlerde yoğun univeziküler ve multiveziküler yağ vakuolleri saptandı. Hepatositlerden bazılarının balonlaşma dejenerasyonuna uğradığı görüldü (Resim 13, 14, 15, 16, 17). Karaciğer asinusu zon 3 bölgesinde nekroz alanları dikkati çekti. Özellikle nekroz alanlarında olmak üzere parankima içerisinde inflamatuvar infiltrasyon mevcuttu (Resim 16). Bazı alanlarda Santral ven çevresinde fibrozis mevcuttu. Glisson kapsülünde belirgin kalınlaşma ve kapsül dış yüzünde yağ dokusu oluşumu dikkati çekti (Resim 15). Yer yer apoptotik cisimcikler (Resim 17) ve nadir mitoz figürleri saptandı.

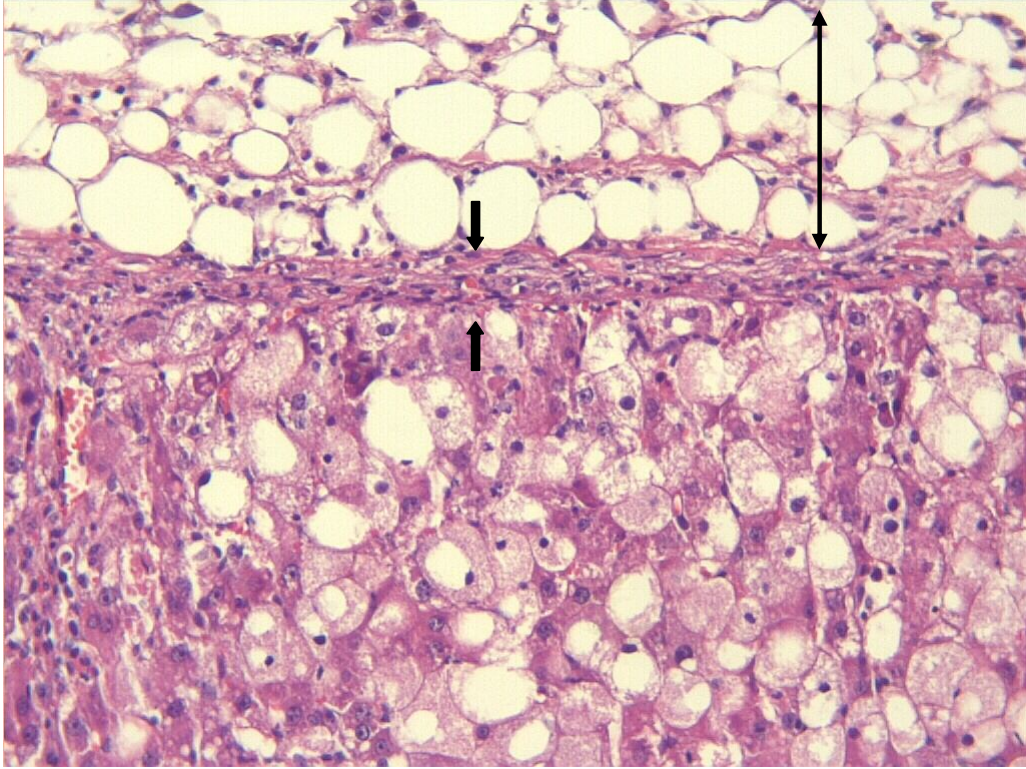
Bu gruba ait PAS boyaması yapılan karaciğer kesitlerinde hepatositlerde PAS+ boyanmanın çok zayıf olduğu görüldü (Resim 18) ve glikojen kaybı skorlandı (Tablo 9). Trikróm boyaması yapılan kesitlerde Glisson kapsülü bağ dokusundaki kalınlaşma dikkati çekti (Resim 19). Kesitlerde uygulanan  $\text{CCl}_4$ ' e bağlı olarak izlenen bu değişiklikler skorlandı. Bu gruba ait hasar prametrelerinin ve toplam hasar skorunun kontrol ve zeytinyağı gruplarından yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 1).



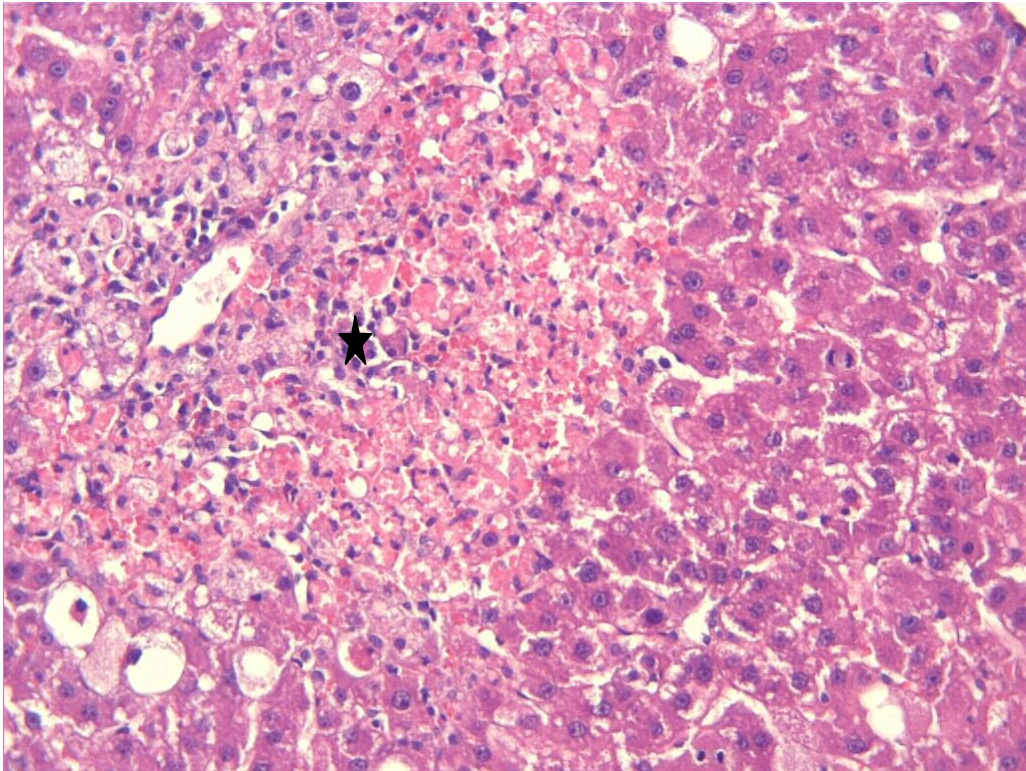
**Resim 13. Grup 3: H&E x10**



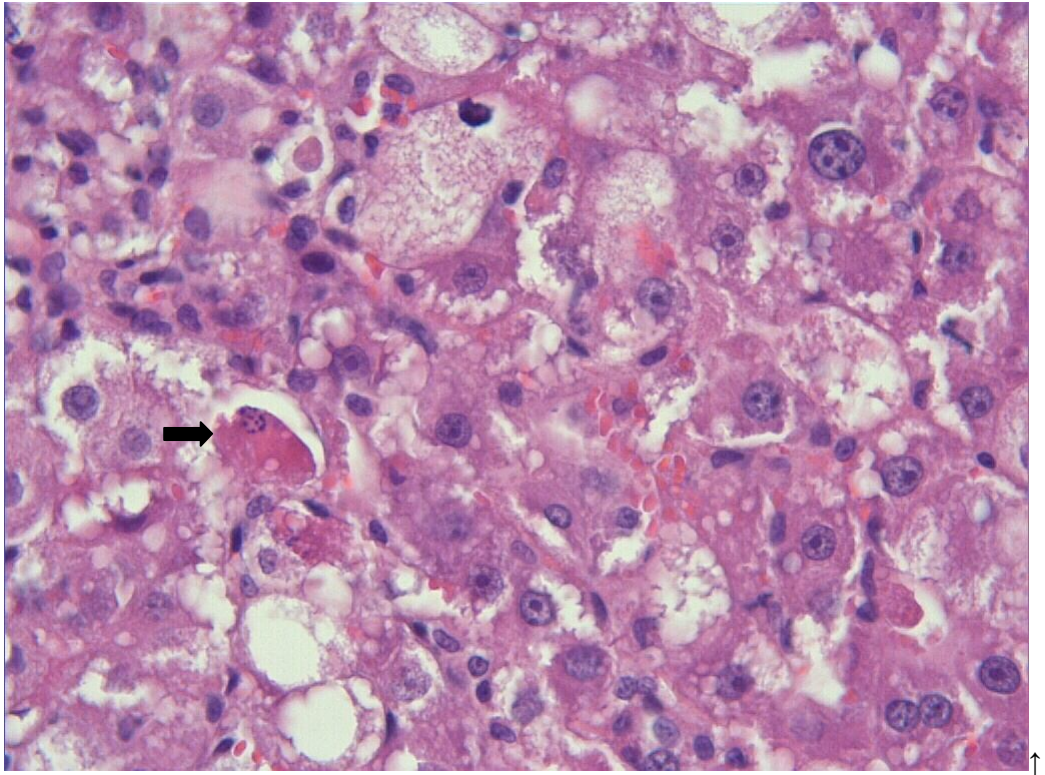
**Resim 14. Grup 3: multivakuoler ve univakuoler şekilde yağlanma. H&E x20**



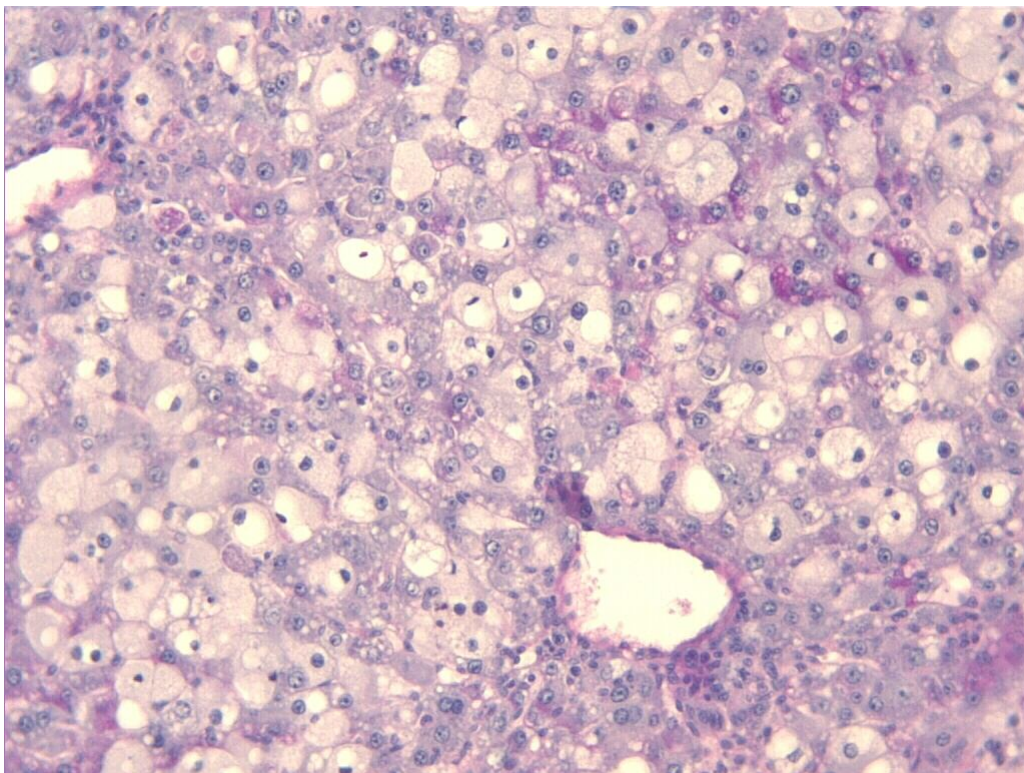
Resim 15. Grup 3: Glisson Kapsülünde Kalınlaşma. H&E, x20



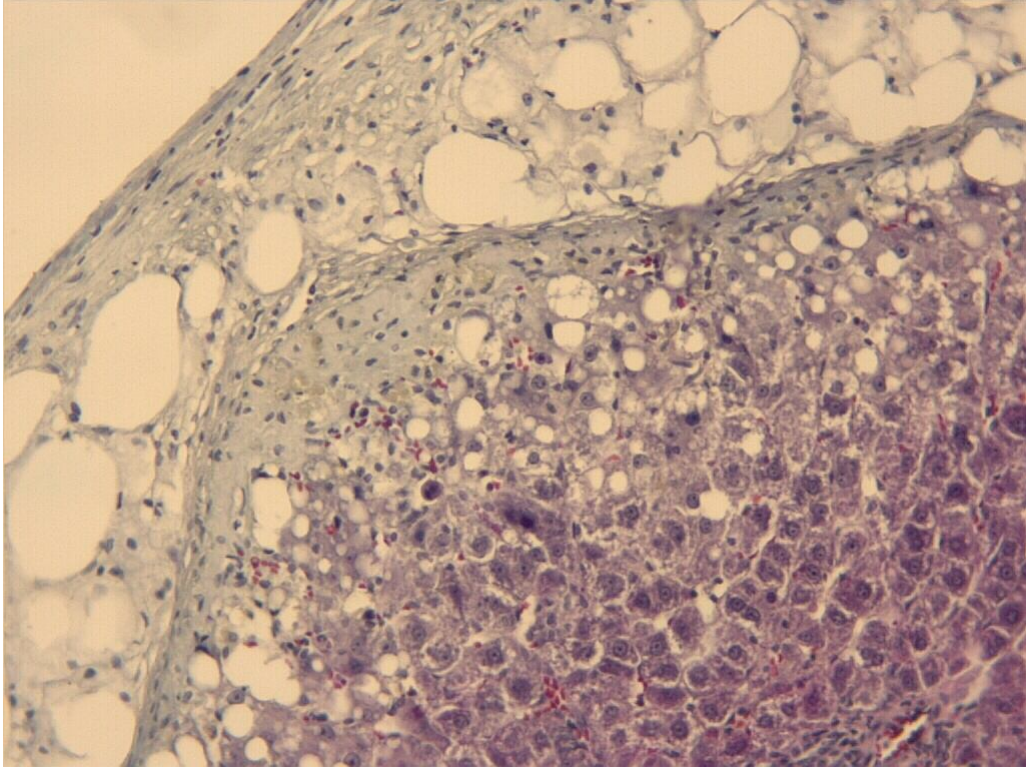
Resim 16. Grup 3: İnfiltrasyon alanları. H&E x20



Resim 17. Grup 3: Apoptosiz. H&E x40

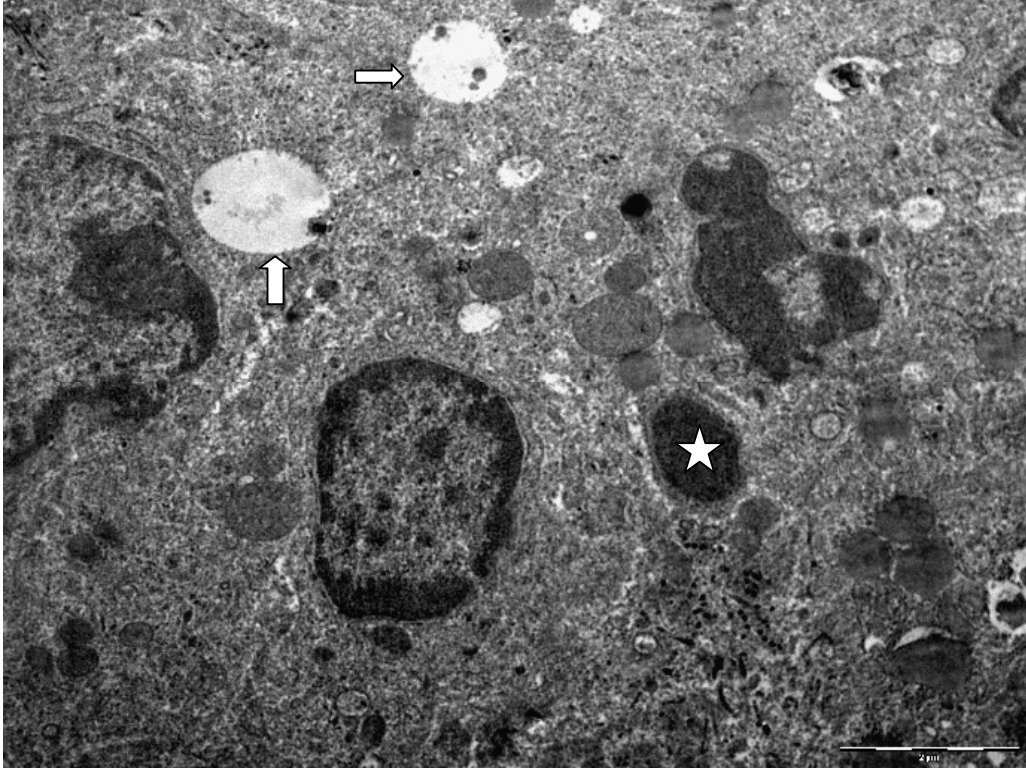


Resim 18. Grup 3: PAS x20

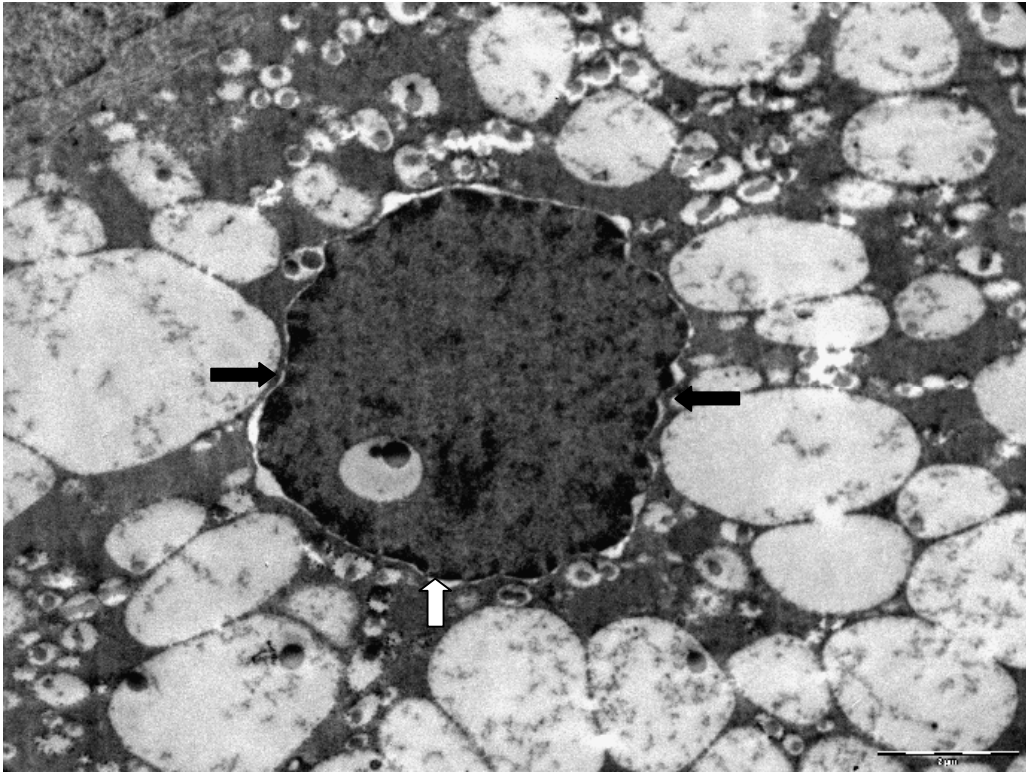


**Resim 19. Grup 3:Trk x20**

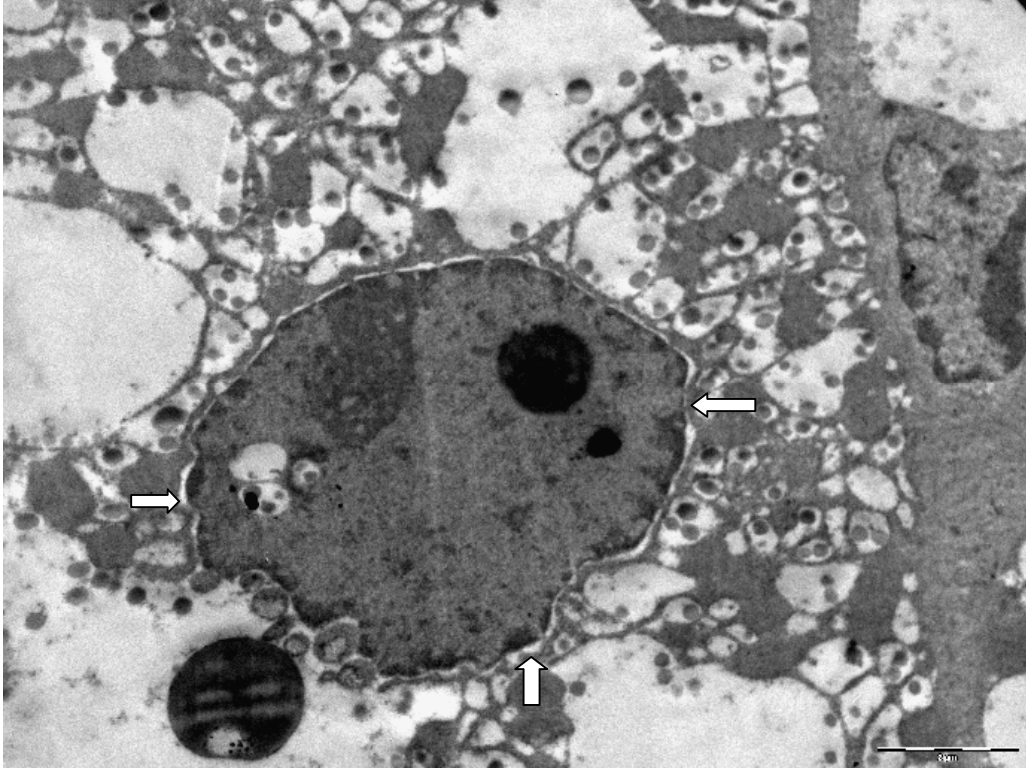
Grup 3 ( $\text{CCl}_4$ , 4 gün)' e ait sıçanların karaciğer kesitlerinin ultrastrüktürel incelenmesinde hepatositlerin sitoplazmasında vakuolizasyon, lizozom artışı belirgindi (Resim 20). Bazı hepatositlerde tüm sitoplazmanın değişik büyüklüklerde vakuoller ile dolu olduğu ve bu vakullerin nukleus sınırlarını düzensizleştirdiği ve nukleusların hiperkromatik olduğu görüldü (Resim 21, 22). Bu hücrelerin nukleusları içinde de vakuoller izlendi (Resim 21, 22, 23). Vakuolizasyonun yoğun olduğu bazı hepatositlerin nukleuslarının apoptotik yapıda olduğu görüldü (Resim 22, 24). Bu grupta ayrıca hepatosit nekrozu tespit edildi (Resim 25). Disse mesafesinin daraldığı ve yer tamamen silindiği gözlemlendi.



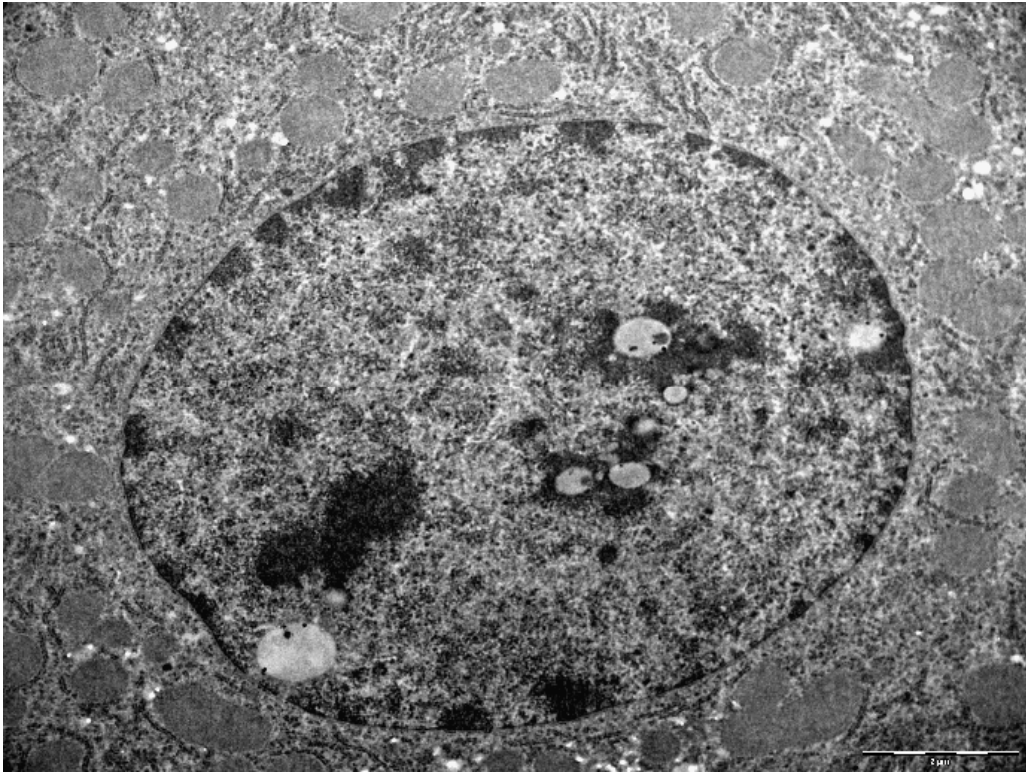
**Resim 20. Grup 3: Vakuolizasyon ve lizozom. TEM x8000**



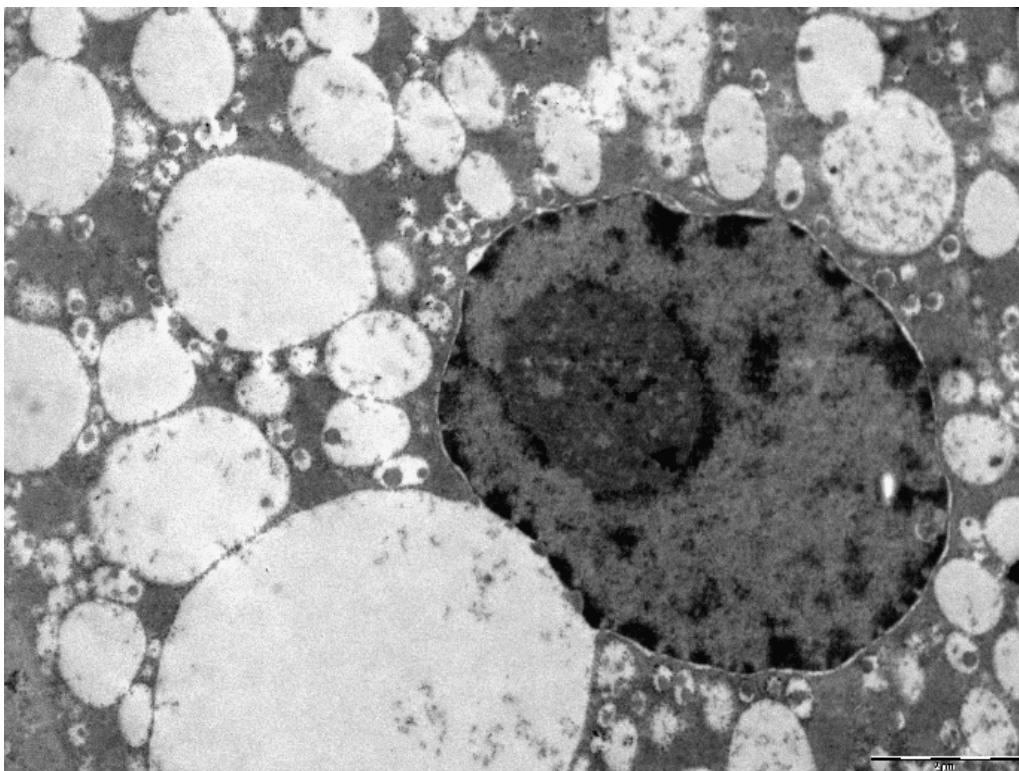
**Resim 21. Grup 3:Düzensiz sınırlı nukleus yapısı ve nukleer vakuolizasyon. TEM x6300**



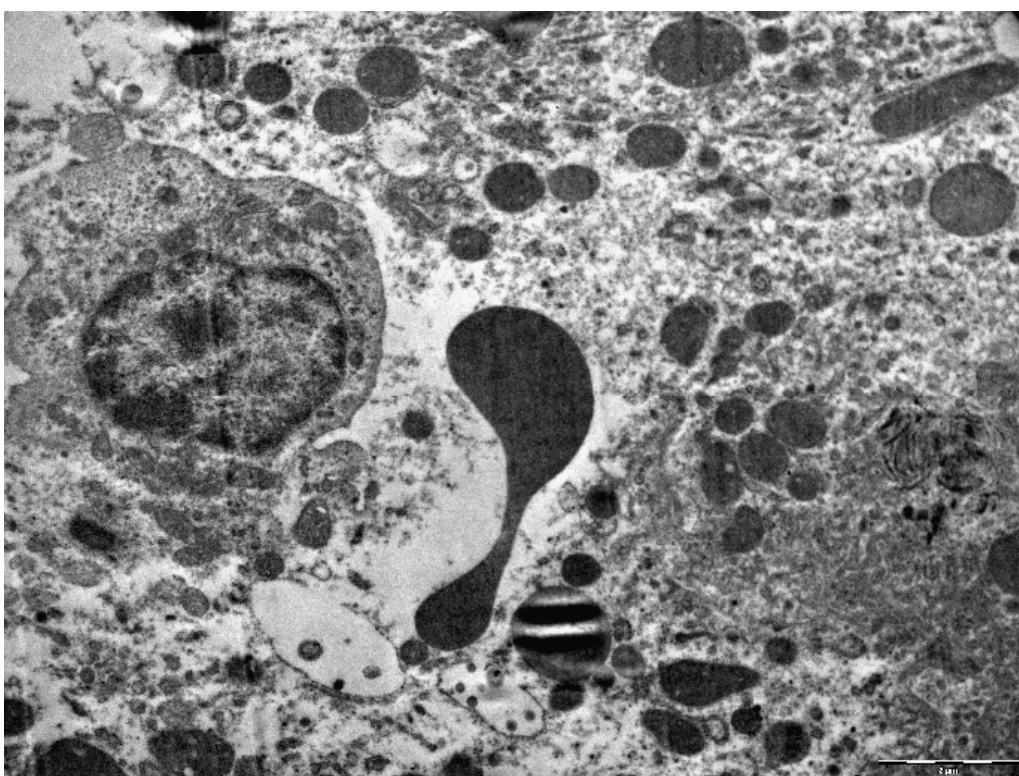
**Resim 22. Grup 3:Apoptotik Yapıda Nukleus. TEM x6300**



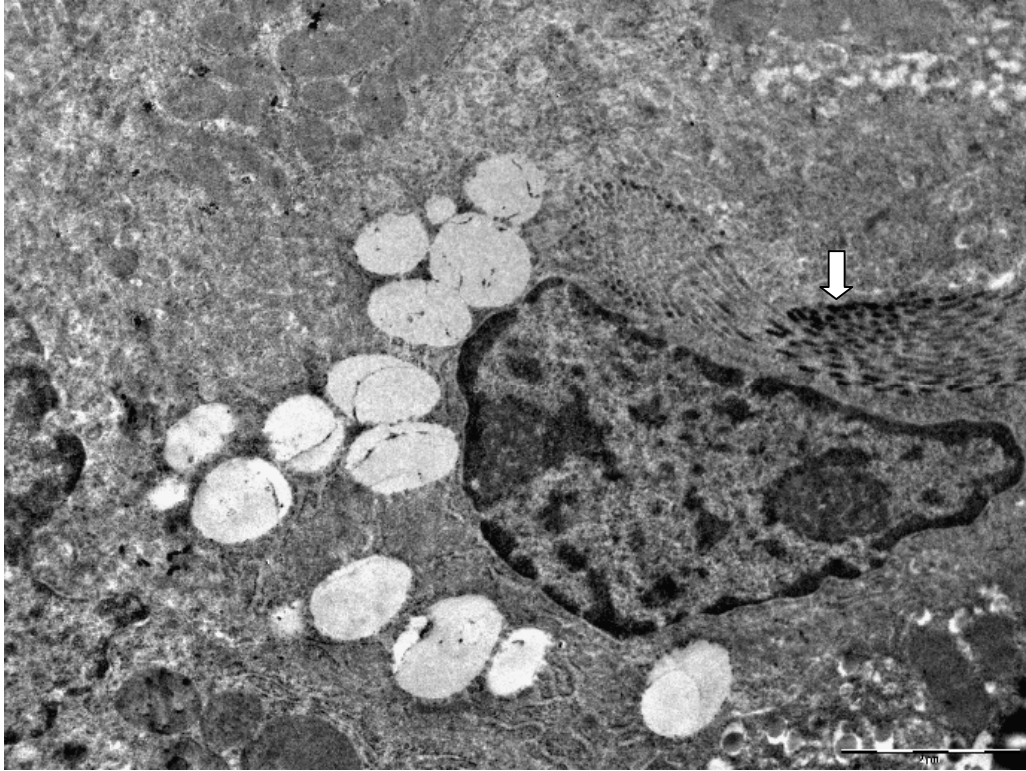
**Resim 23. Grup 3: TEM x7000**



Resim 24.: Grup 3:TEM x6656

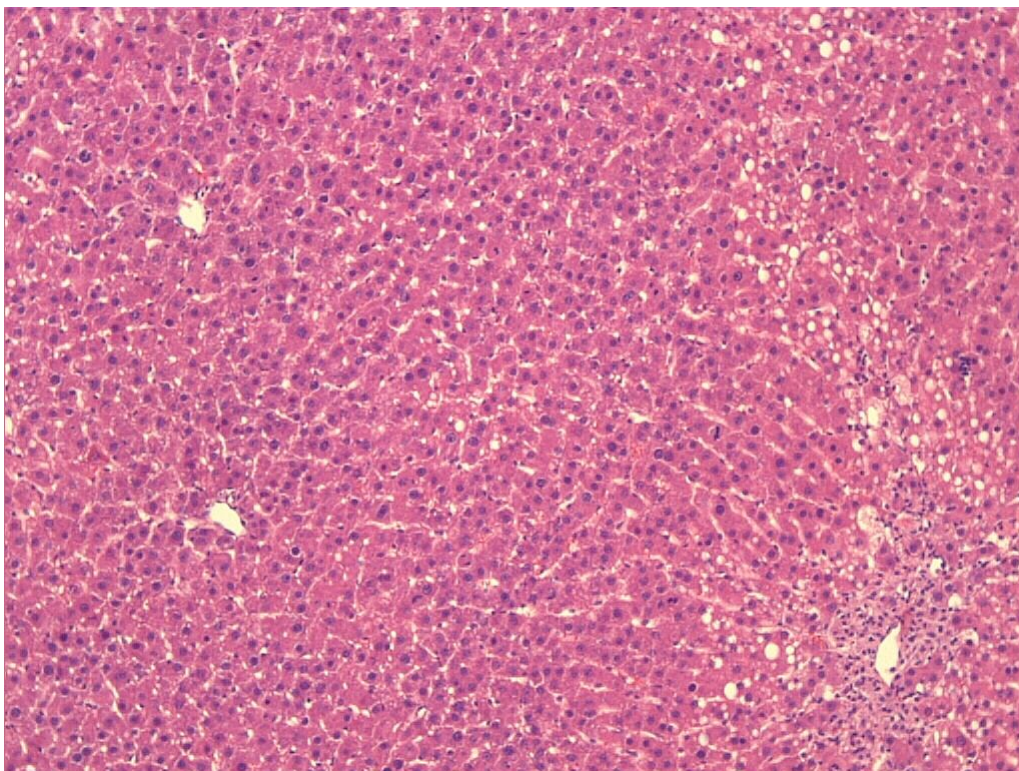


Resim 25. Grup 3: TEM, x6300

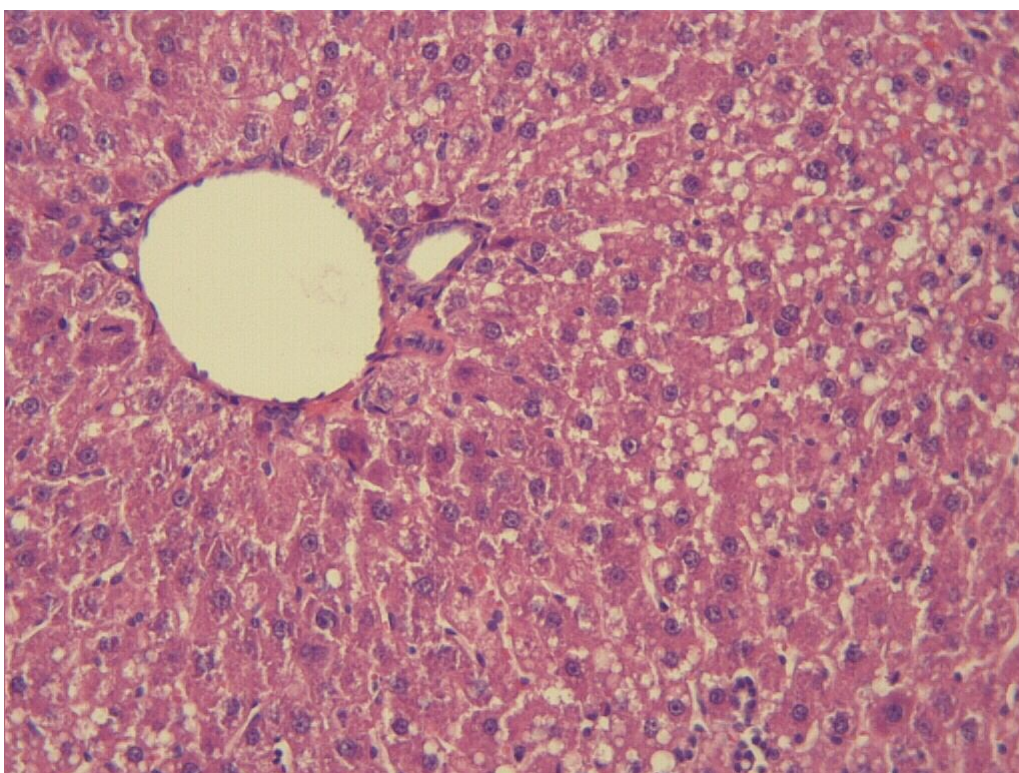


**Resim 26. Grup 3:TEM x8000**

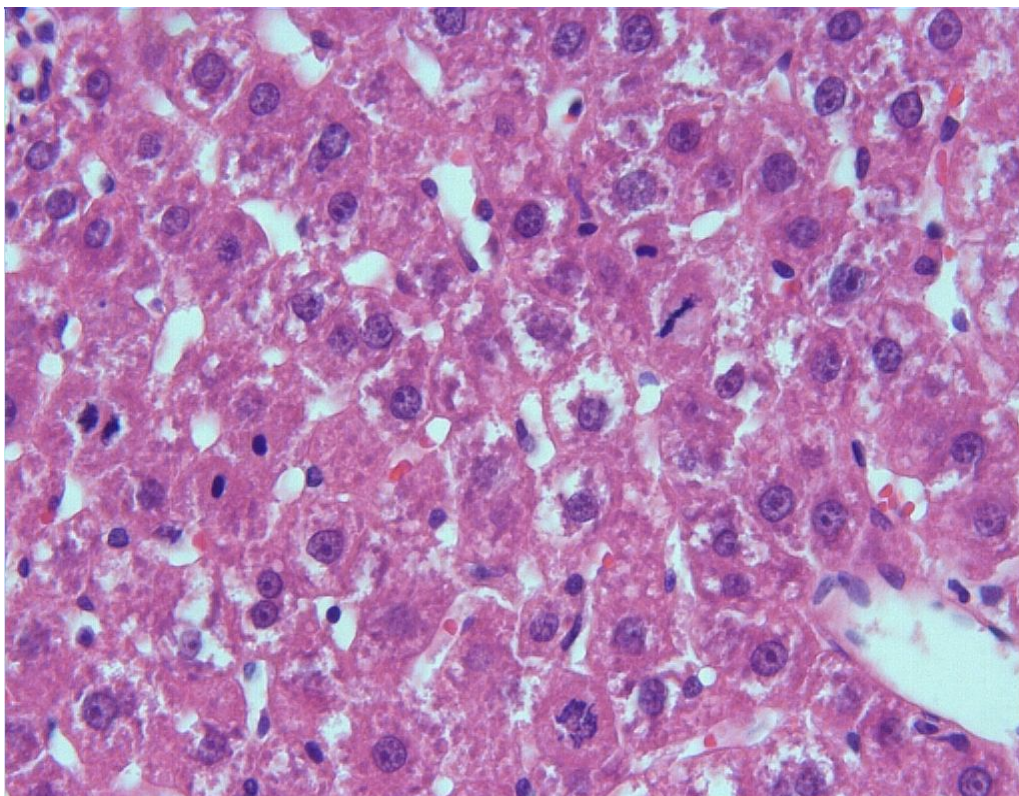
Grup 4 ( $\text{CCl}_4$  +Res, 4 gün)' e ait sıçanların H-E ile boyanan kesitlerinde zon 3 bölgesinde yer alan hepatositlerde multiveziküler vakuolizasyon ve santral ven çevresinde dar fibrotik alanlar izlendi. Portal alanlar çevresindeki parankimal alanlar normal histolojik yapıdaydı. Parankimada yer yer fokal nekroz odakları ve mitoz figürleri saptandı. Yapılan histolojik hasar skorlarının kontrol ve zeytinyağı gruplarındakinden yüksek,  $\text{CCl}_4$  grubundakinden daha düşük olduğu saptandı (Tablo 1). Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerde hepatositlerde orta dereceli yoğunlukta PAS+ boyanma tespit edildi, Glikojen kaybı skorunun kontrol ve zeytinyağı gruplarındakinden yüksek,  $\text{CCl}_4$  grubundakinden daha düşük olduğu görüldü (Tablo 9). Trikrom boyamasında, yer yer santral ven çevresinde (Resim 31) ve Glisson kapsülünde hafif derecede fibrotik değişiklikler izlendi.



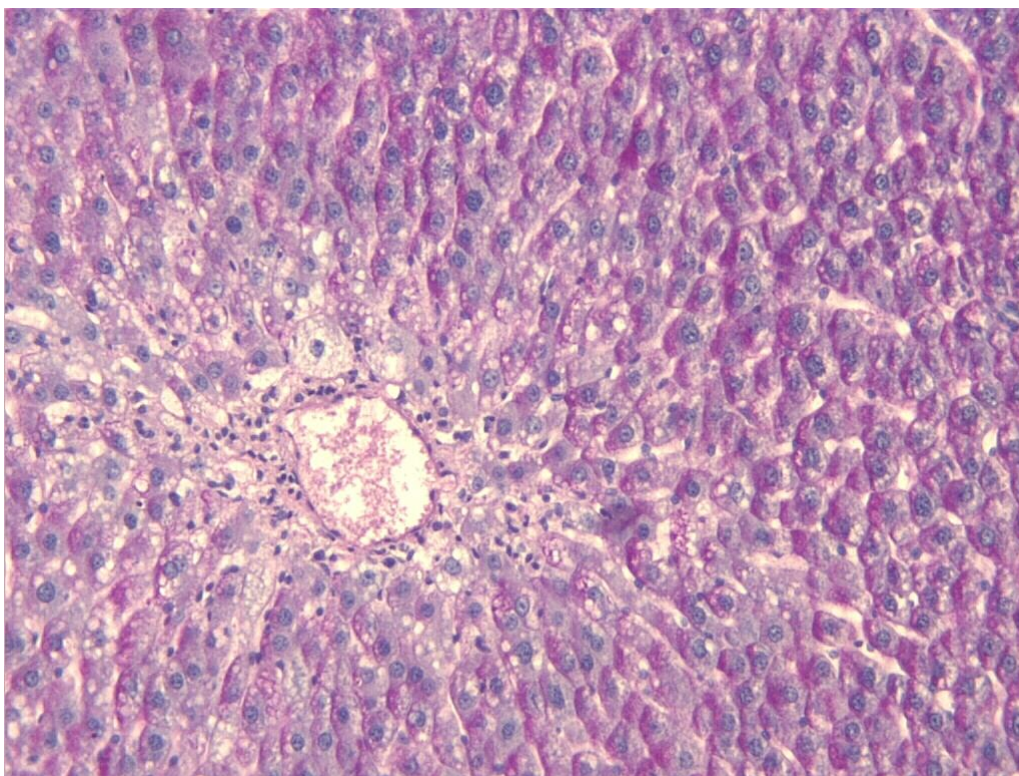
**Resim 27. Grup 4:H&E x10**



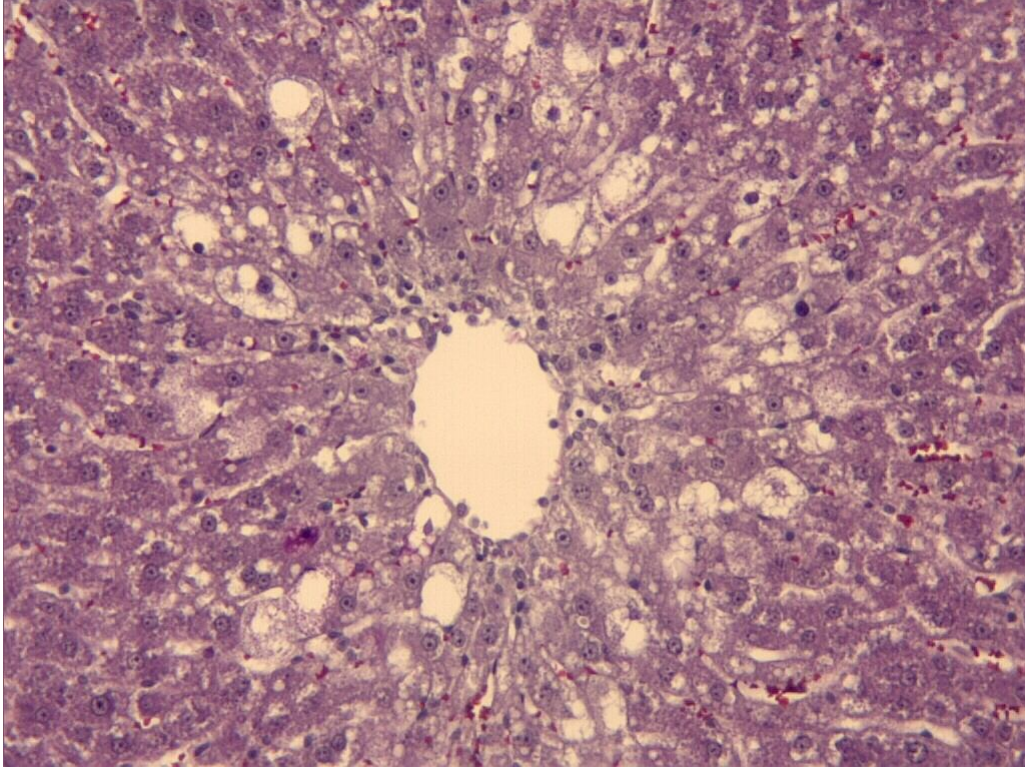
**Resim 28. Grup 4:H&E x20**



**Resim 29. Grup 4: H&E x40**

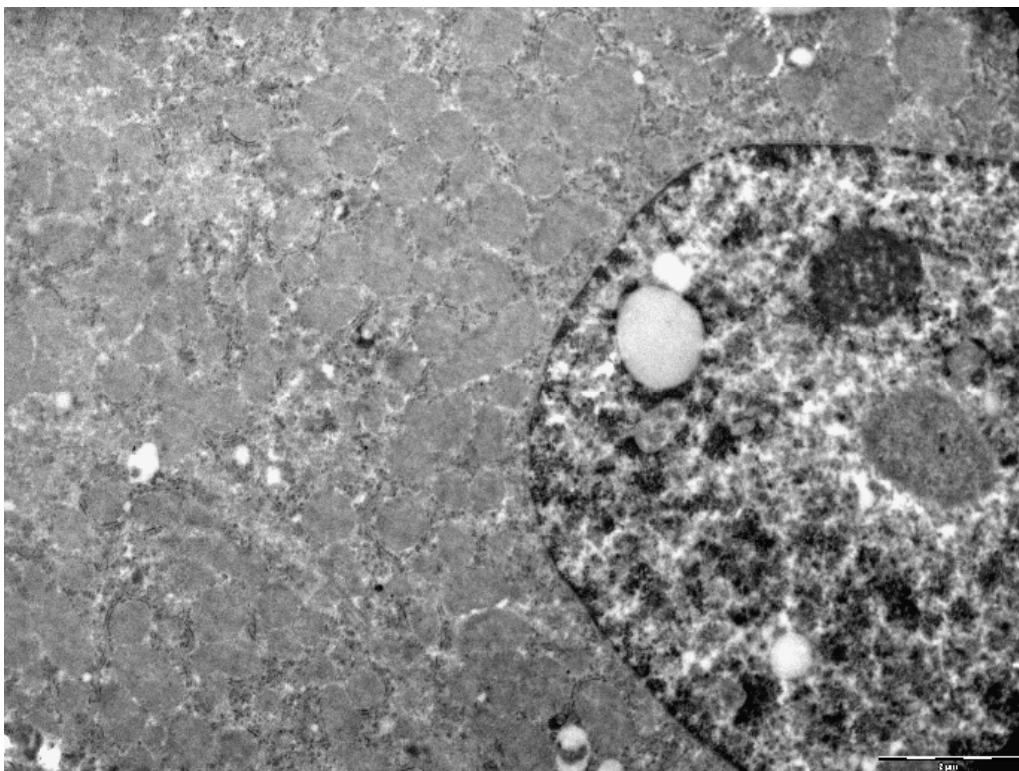


**Resim 30. Grup 4: PAS x20**

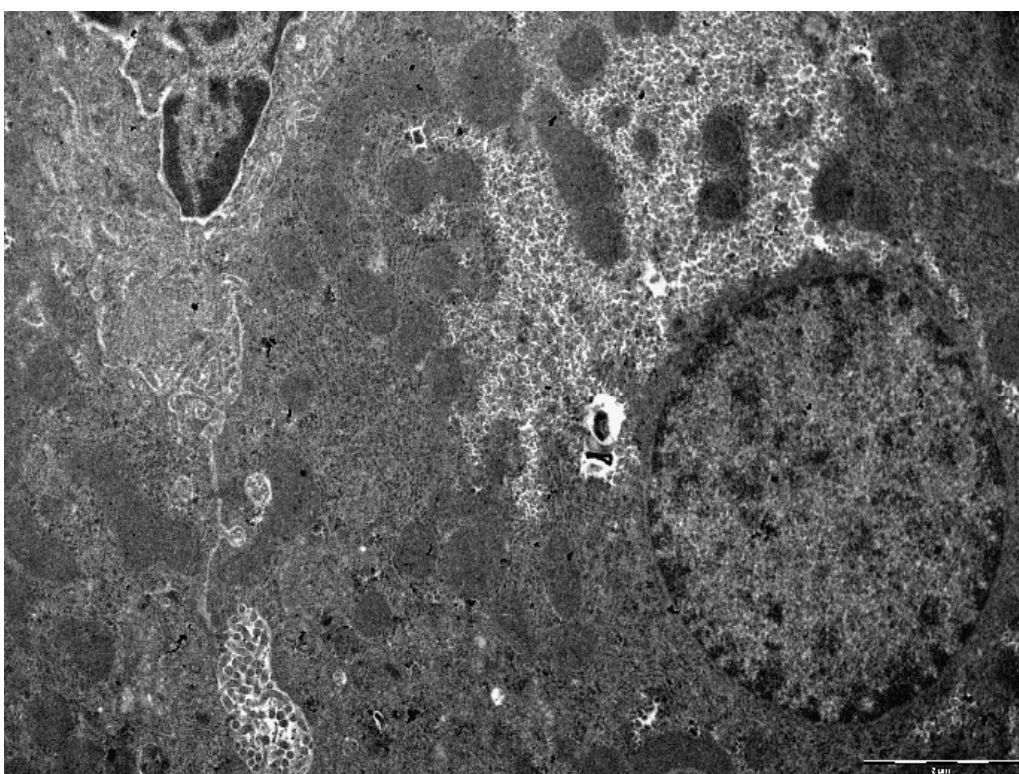


**Resim 31. Grup 4:Trk x20**

Grup 4 (CCl<sub>4</sub> +Res, 4 gün)'e ait karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde bazı hepatositlerin sitoplazmalarında ve yer yer de nukleuslarında değişik çaplarda vakuoller görüldü (Resim 32). Bu vakuollerin çaplarının genel olarak CCl<sub>4</sub> grubundakilerden küçük olduğu dikkati çekti. Ayrıca hepatosit sitoplazmalarında yer yer lizozomlar izlendi. Hepatositler arasındaki safra kanalikülleri açık ve normal yapıda değerlendirildi (Resim 33).

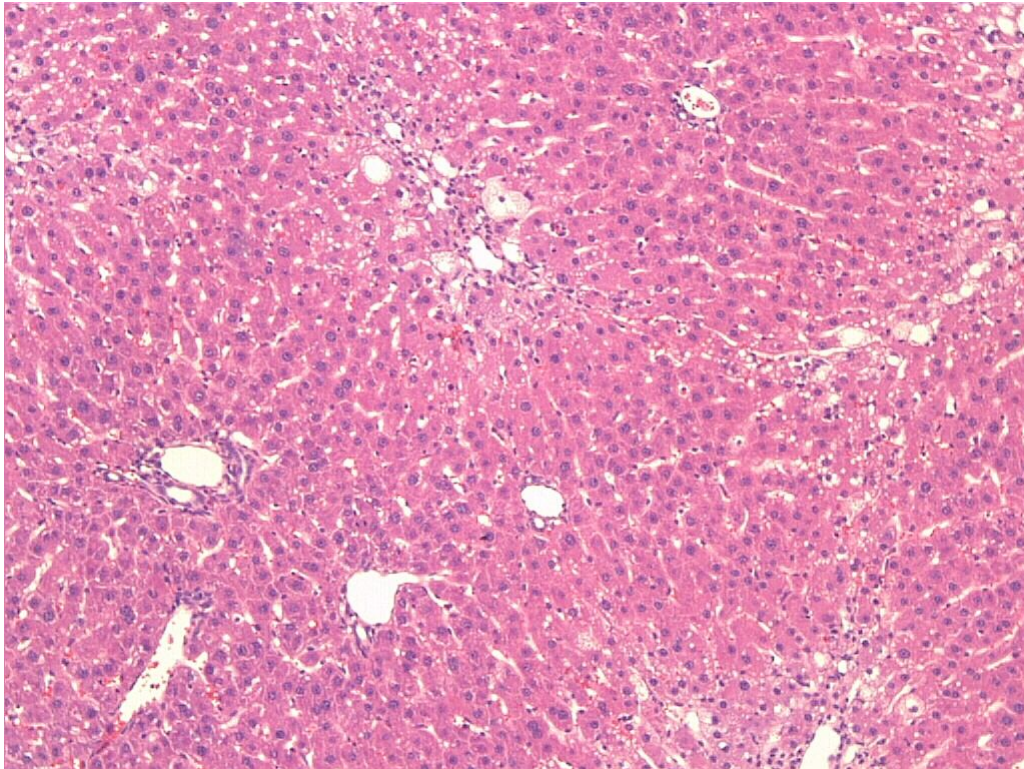


**Resim 32. Grup 4:TEM x6300**

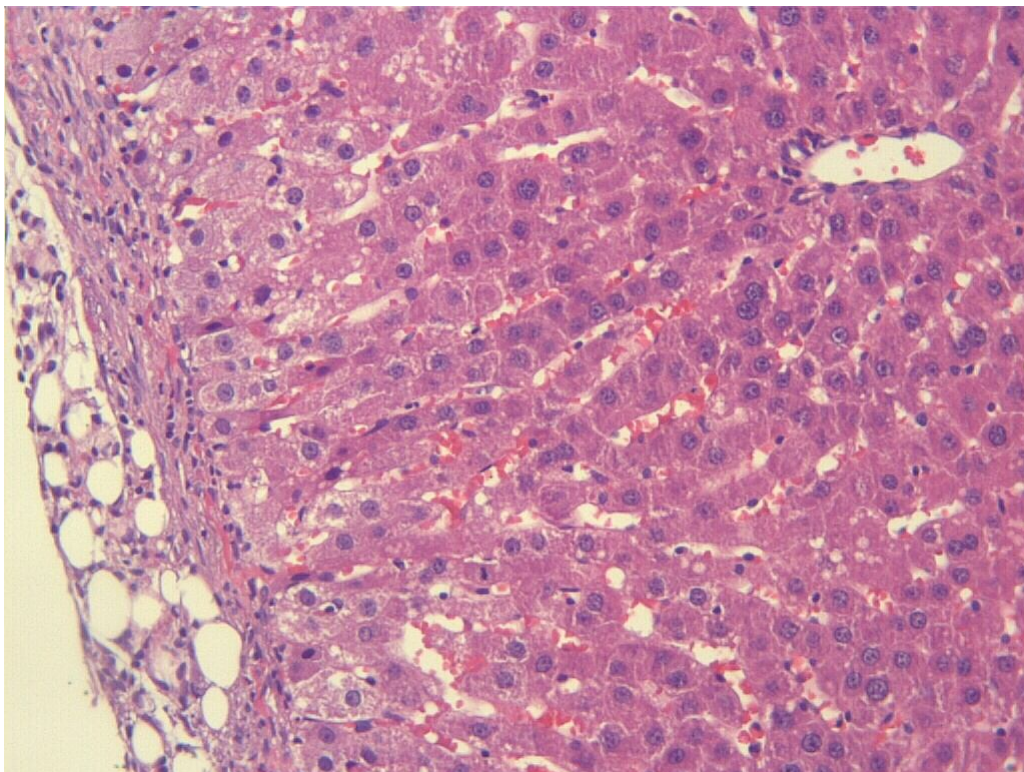


**Resim 33. Grup 4:TEM x7000**

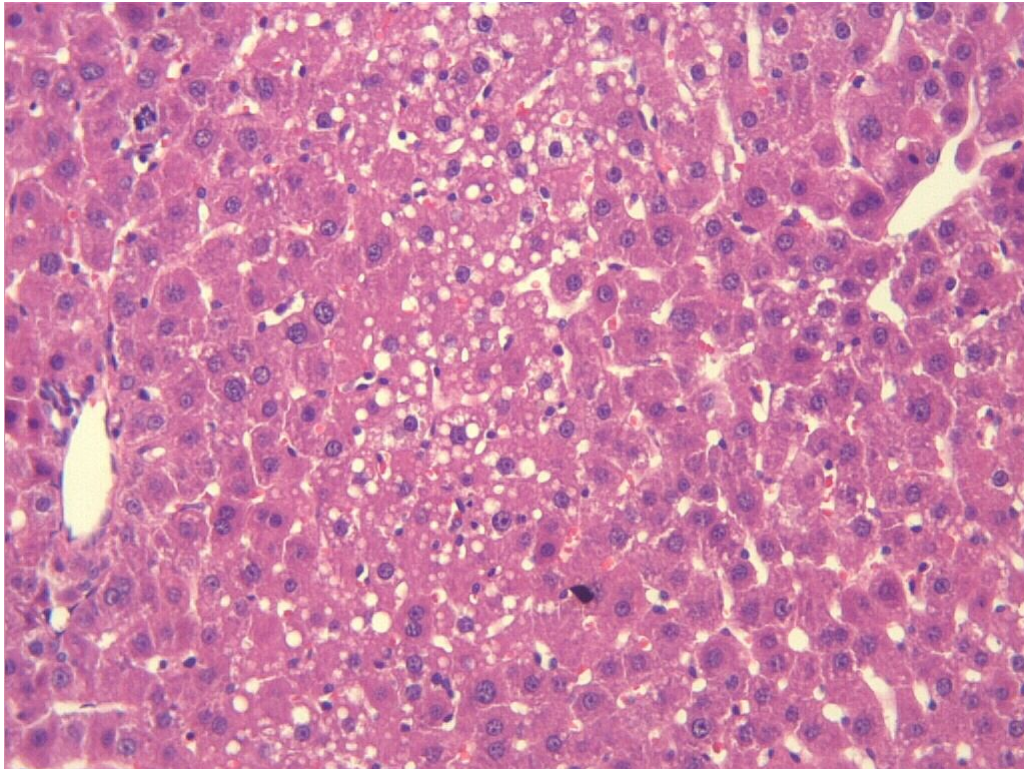
Grup 5 (CCl<sub>4</sub> +Mel, 4 gün)'e ait sıçanların H-E ile boyana kesitlerinde santral ven çevresinde yer alan hepatositlerde orta derecede multiveziküler vakuolizasyon ve yer yer balonlaşma dejenerasyonu görüldü (Resim 34). Parankimada yer yer fokal nekroz alanları mevcuttu. Glisson kapsülünün bazı bölümlerinde kalınlaşma saptandı (Resim 35). Portal alanlar çevresindeki parankimal alanlar normal histolojik yapıdaydı (Resim 34, 35, 36). Bu grupta çok sayıda mitoz figürünün varlığı dikkati çekti (Resim 37). Yapılan histolojik hasar skorlarının kontrol ve zeytinyağı gruplarındakinden yüksek, CCl<sub>4</sub> grubundakinden daha düşük olduğu saptandı. (Tablo 1). Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerde hepatositlerde orta derceli yoğunlukta PAS+ boyanma tespit edildi (Resim 38). Glikojen kaybı skorunun kontrol ve zeytinyağı gruplarındakinden yüksek, CCl<sub>4</sub> grubundakinden daha düşük olduğu görüldü (Tablo 9). Trikrom boyamasında, H-E kesitlerde izlenen değişiklikler (Resim 39) yanında yer yer Glisson kapsülünde fibrotik değişikliklere bağlı kalınlaşmalar izlendi.



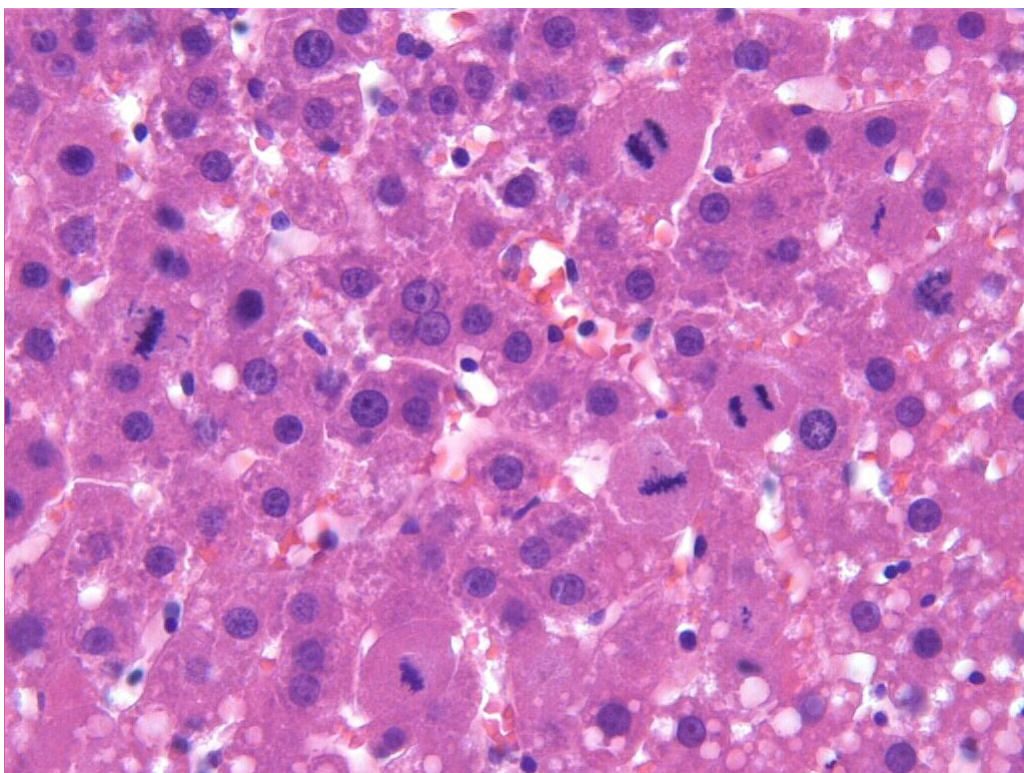
**Resim 34. Grup 5: H&E x10**



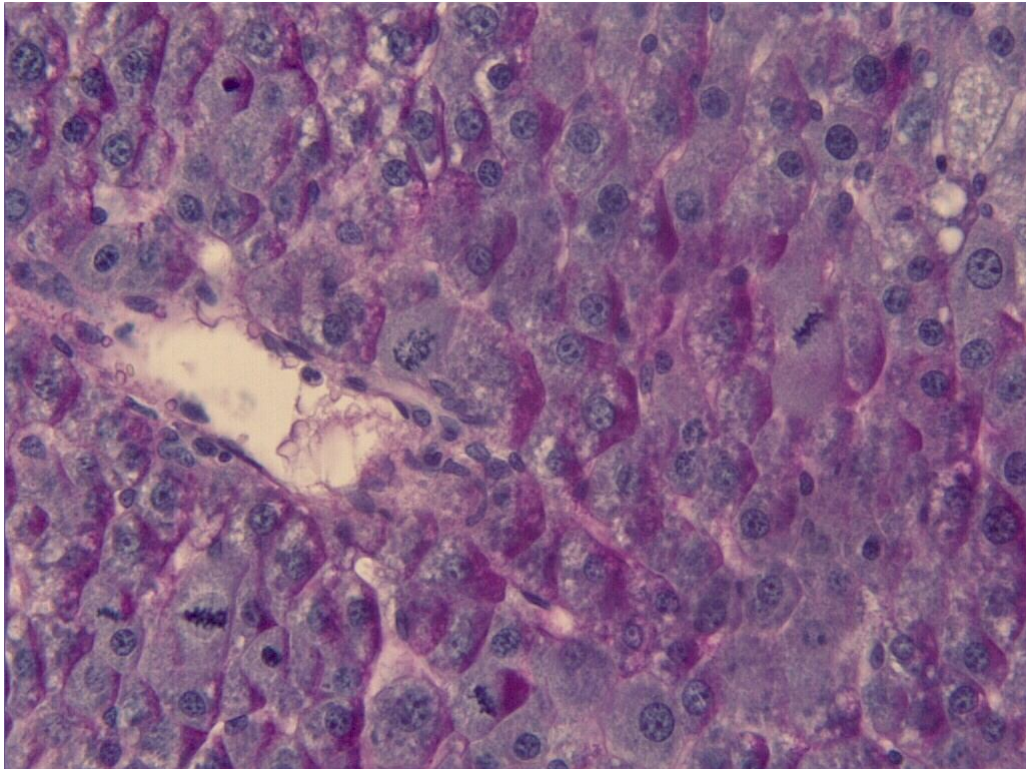
**Resim 35. Grup 5: H&E x20**



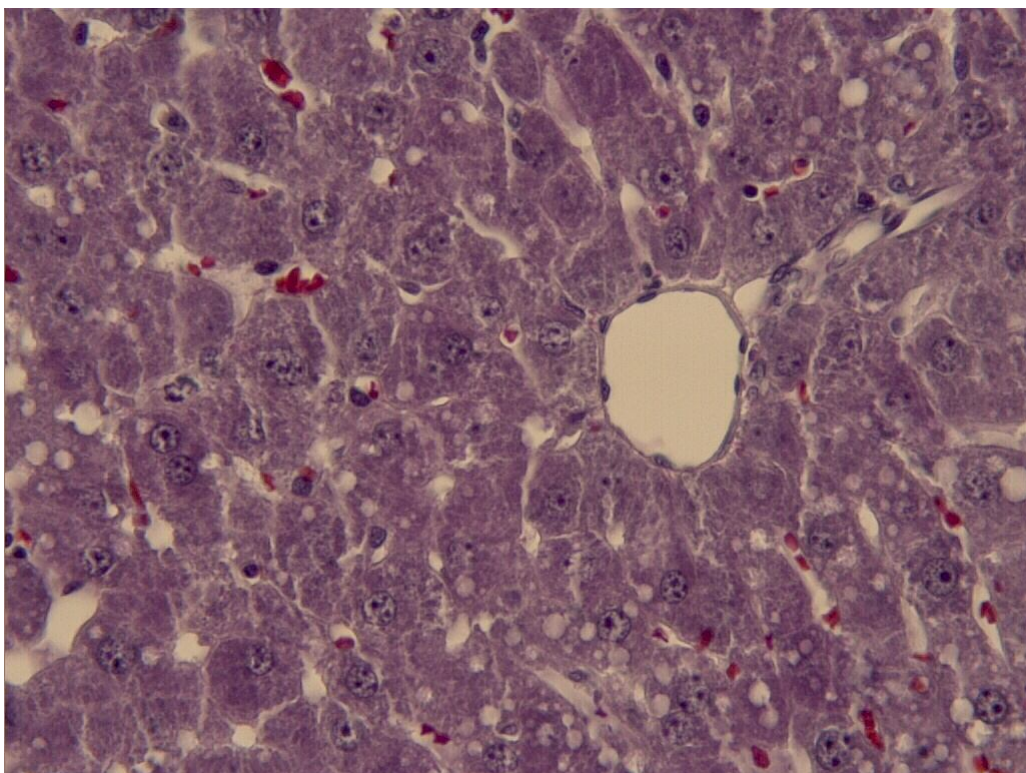
**Resim 36. Grup 5: H&E x20**



**Resim 37. Grup 5: H&E x40**

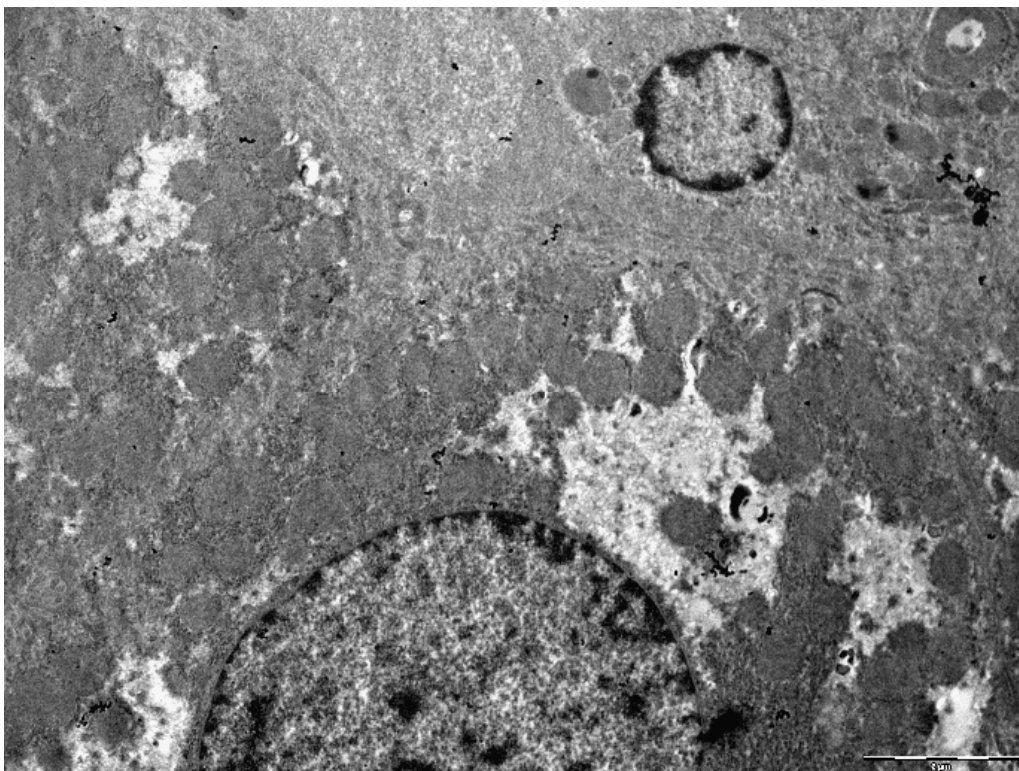


**Resim 38. Grup 5: PAS x40**

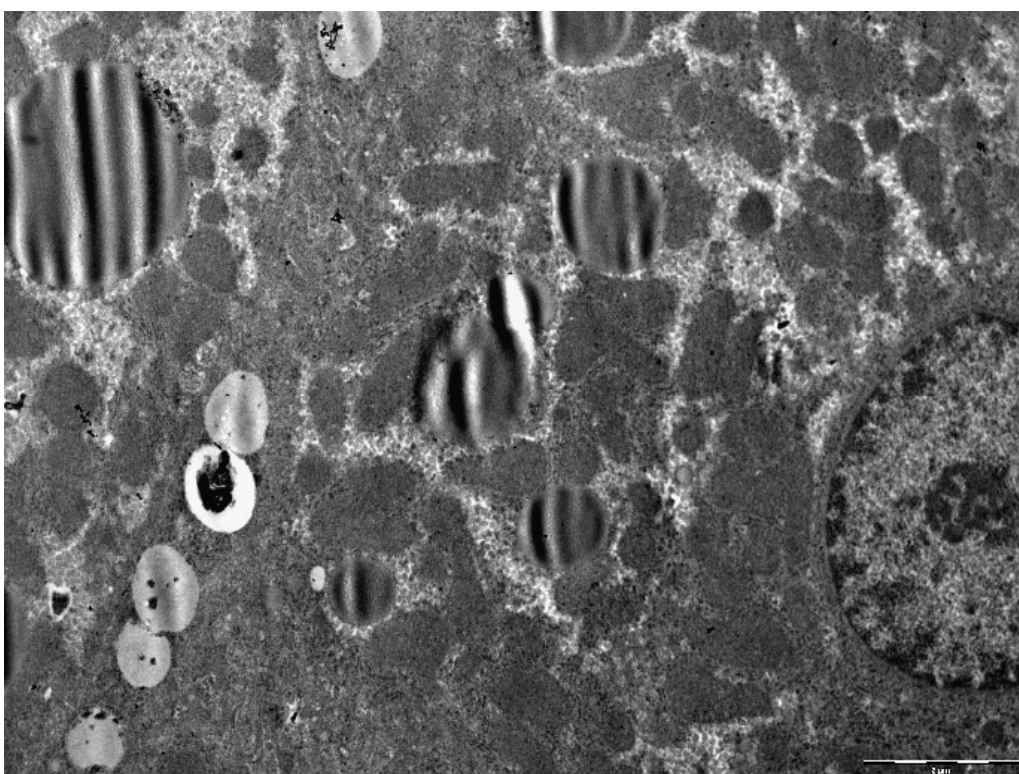


**Resim 39. Grup 5: Trk x20**

Grup 5 (CCl<sub>4</sub> +Mel, 4 gün)' e ait karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde bazı hepatositlerde intrasitoplazmik ödem (Resim 40), değişik çaplarda yağ vakuelleri (Resim 41) ve yer yer lizozomlar saptandı. Bu vakuollerin çaplarının genel olarak CCl<sub>4</sub> grubundakilerden küçük ve daha az sayıda olduğu dikkati çekti.



Resim 40. Grup 5: TEM x6300



Resim 41. Grup 5: TEM x7000

Kronik uygulama yapılan kontrol ve zeytinyağı gruplarındaki (grup 6, 7) sıçanların karın boşlukları açıldığında makroskopik olarak karaciğerleri parlak, koyukahve renkte ve normal görünümde izlendi (Resim 42, 50). Bu gruplara ait H&E ile boyanan karaciğer kesitleri incelendiğinde akut uygulama yapılan kontrol ve zeytinyağı gruplarındakine benzer şekilde normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi.

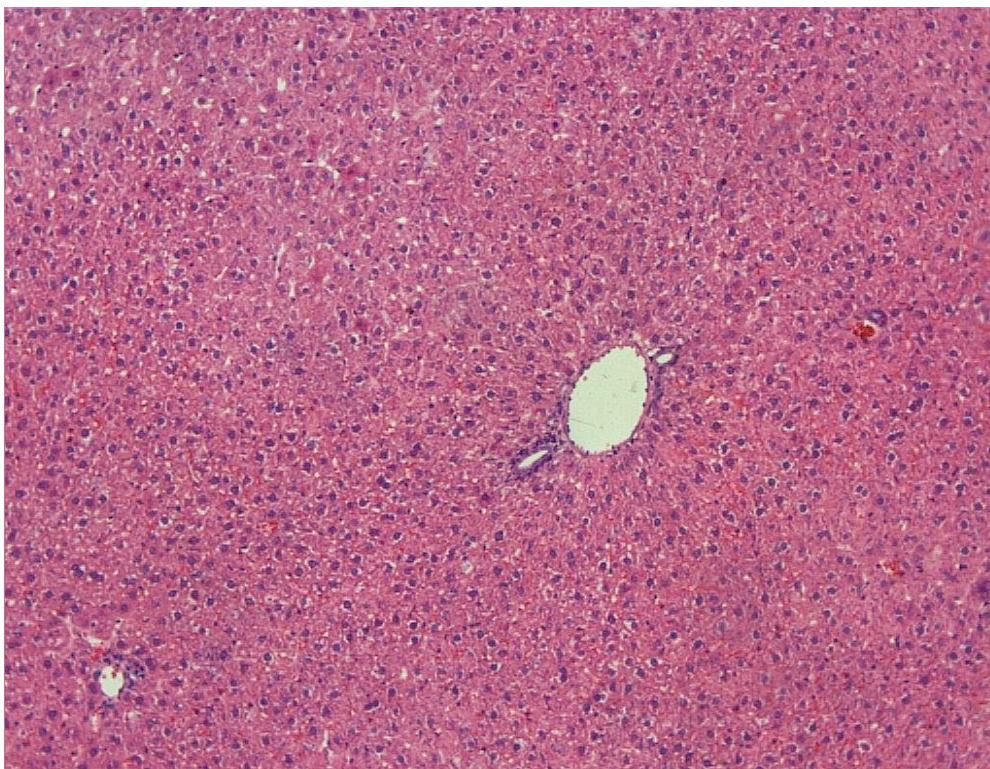
Bu gruplara ait PAS ile boyanan karaciğer kesitlerinde hepatositlerin stoplazmasında orta derecede PAS + boyanma tespit edildi (Resim 47, 54). Trikrom ile boyanan karaciğer kesitleri normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 48, 55). Bu gruba ait hasar parametreleri ve toplam hasar skoru sıfırdı (Tablo 1, 9).



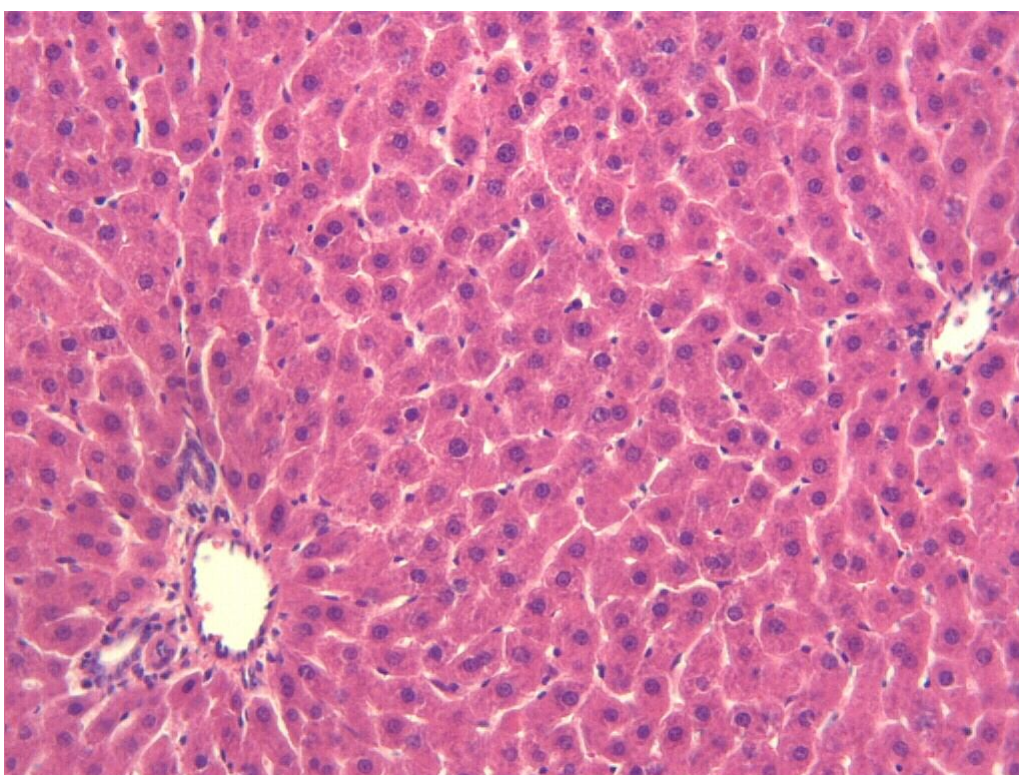
**Resim 42. Grup 6- Makroskobik**



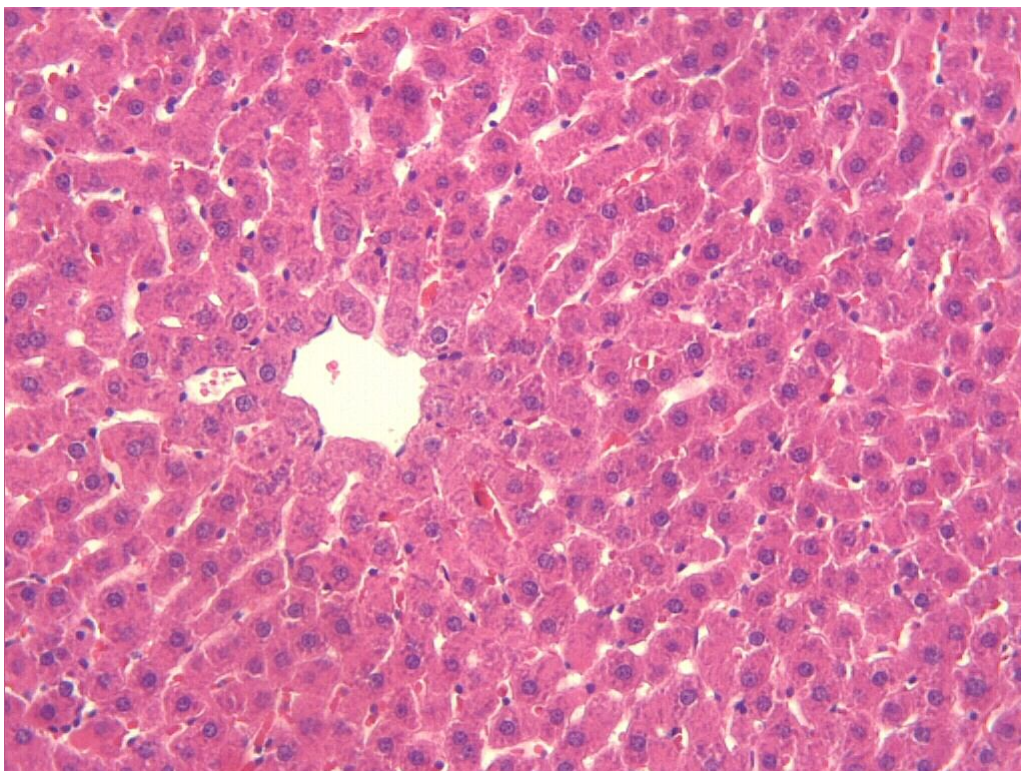
**Resim 43. Grup 7- Makroskobik**



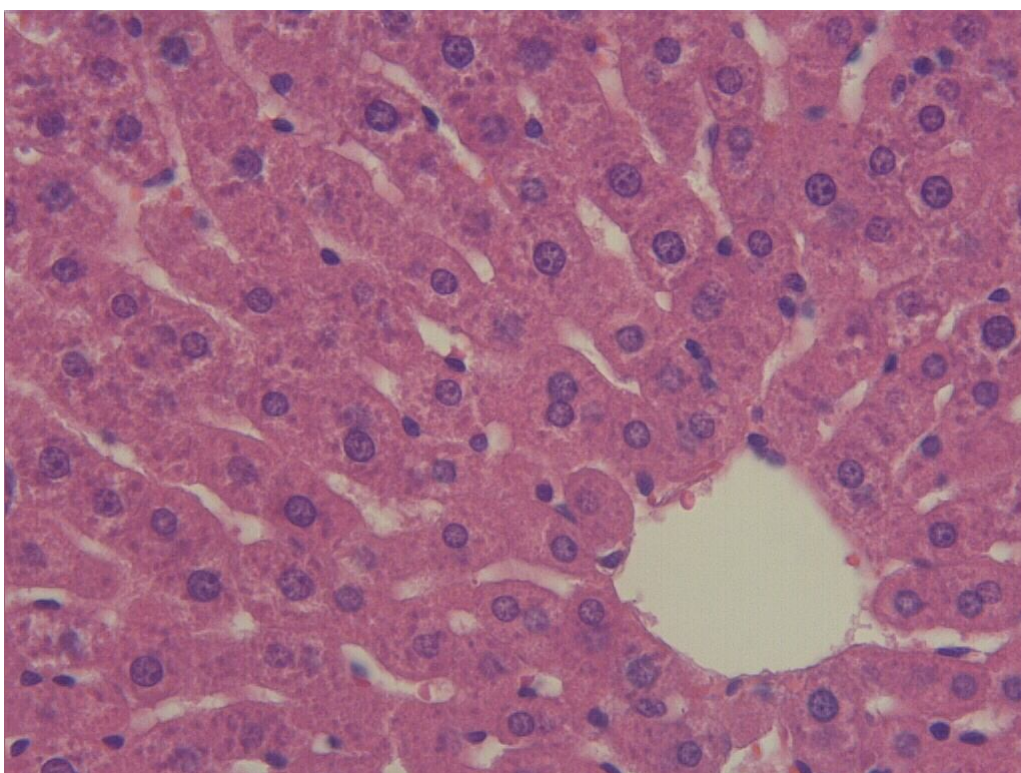
**Resim 44. Grup 6: H&E x10**



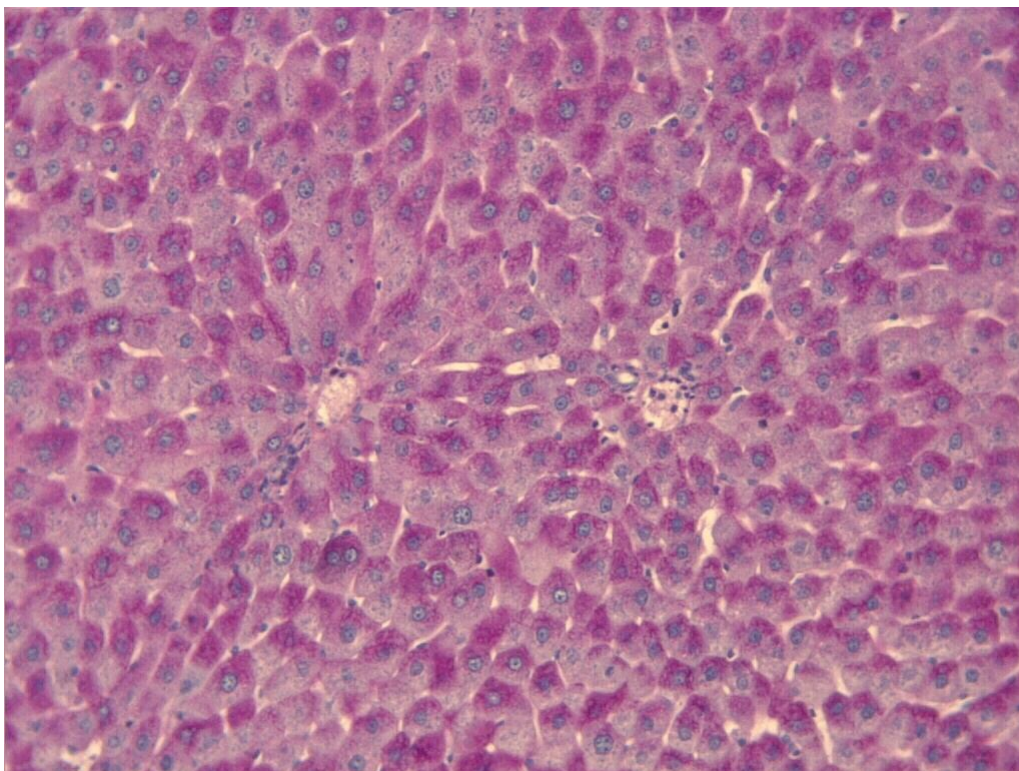
**Resim 45. Grup 6: H&E x20**



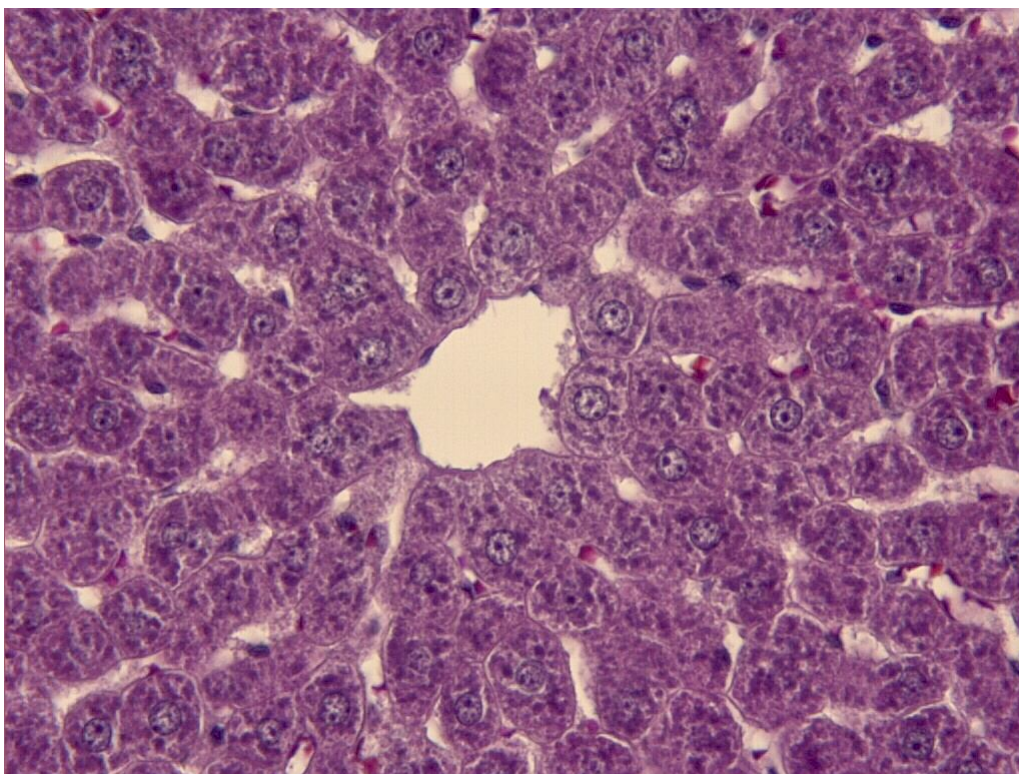
**Resim 46. Grup 6: H&E x20**



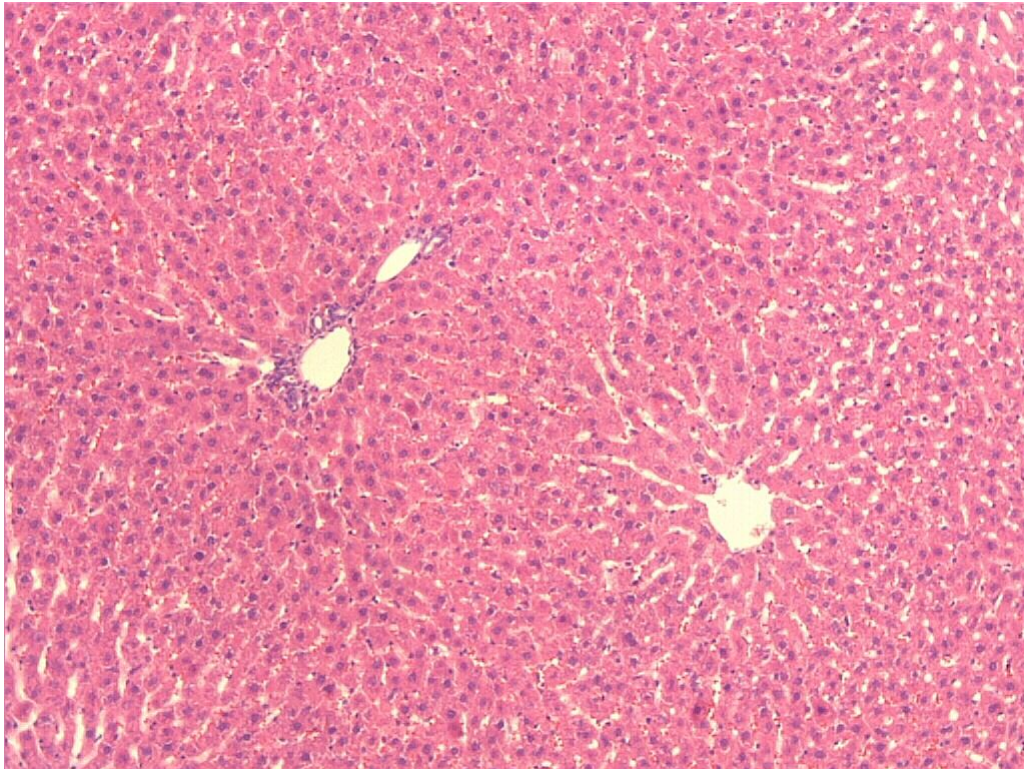
**Resim 47. Grup 6: H&E x40**



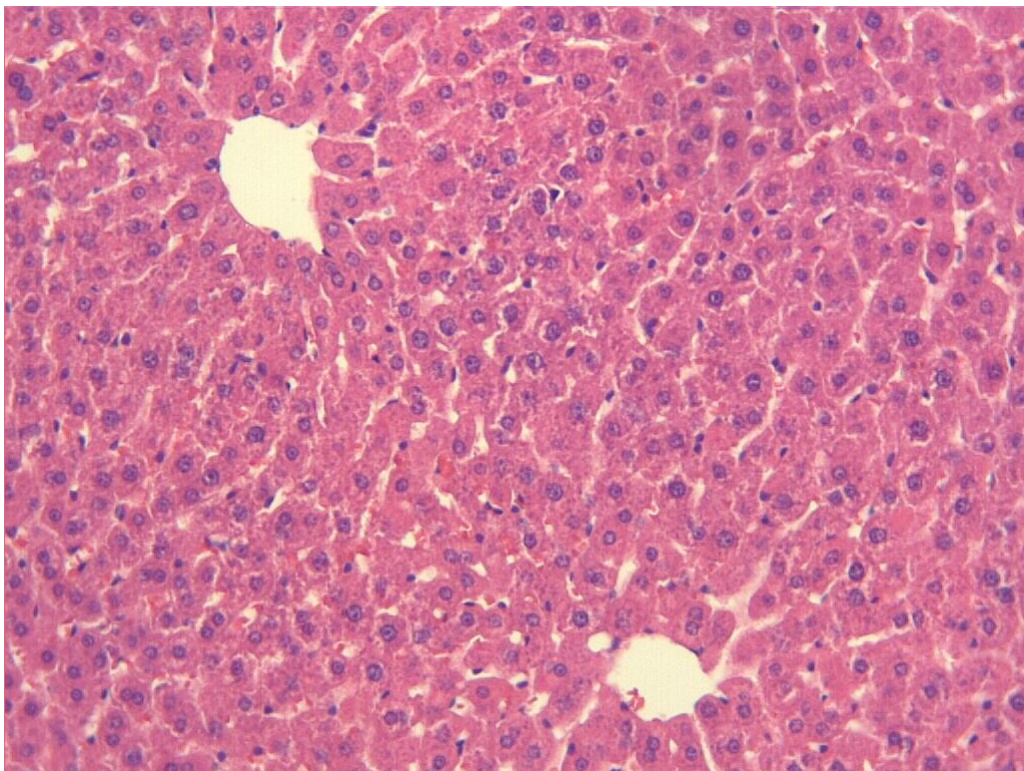
**Resim 48. Grup 6: PAS x20**



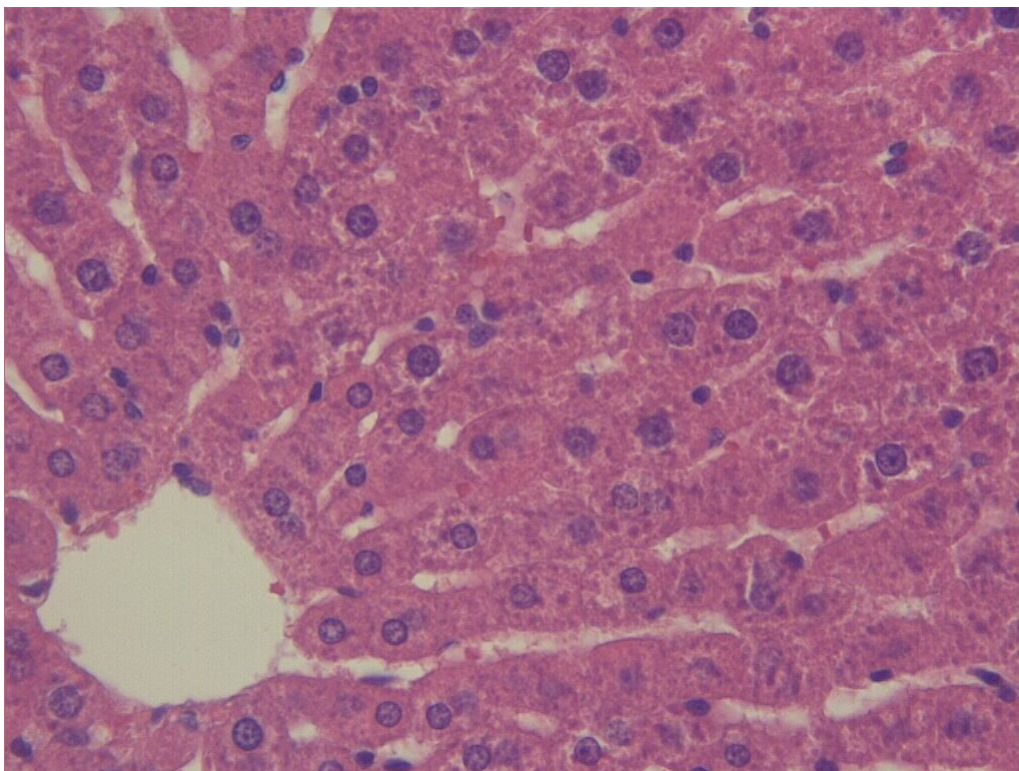
**Resim 49. Grup 6: Trk x40**



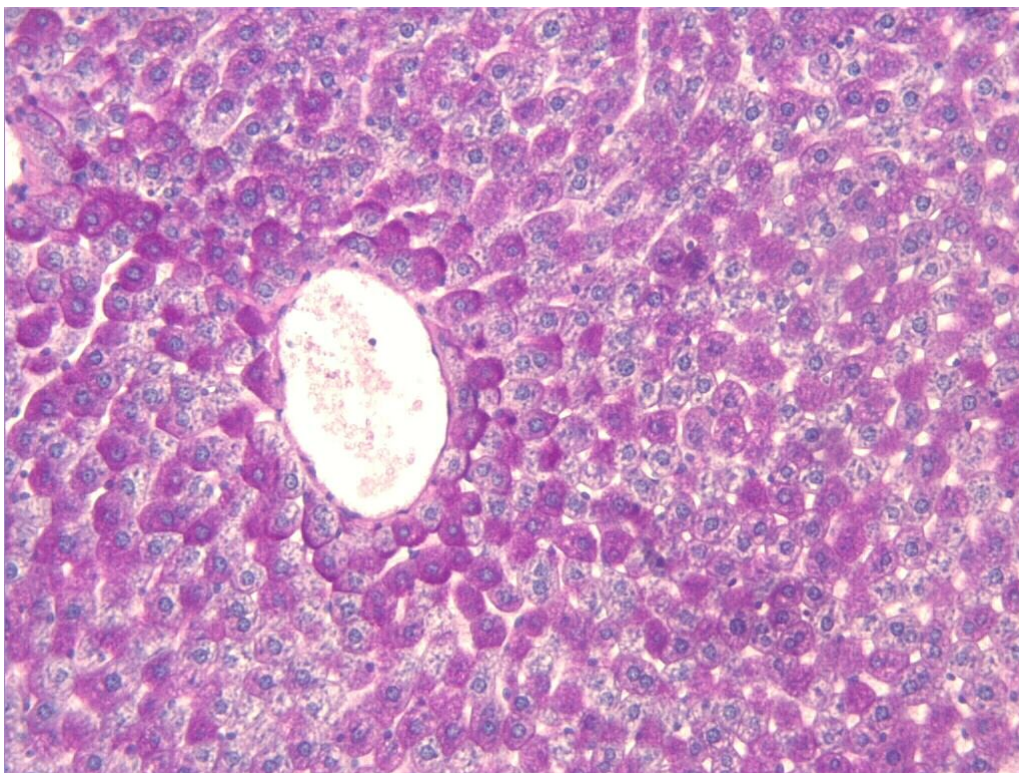
**Resim 51. Grup 7: H&E x10**



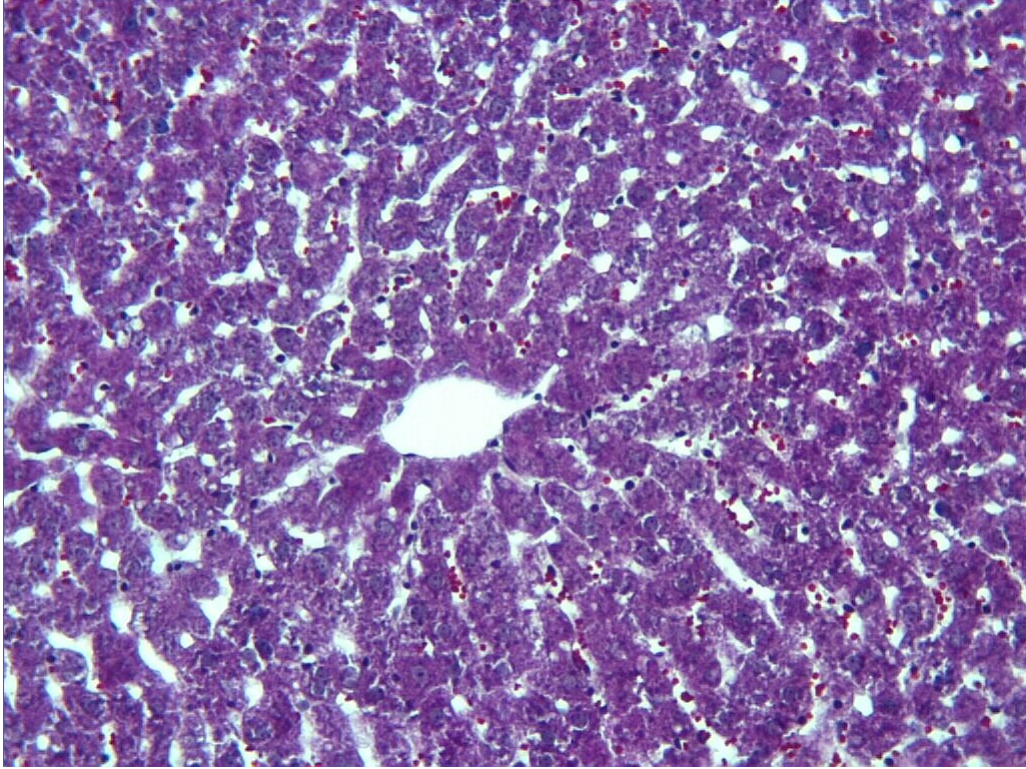
**Resim 52. Grup 7: H&E x20**



**Resim 53. Grup 7: H&E x40**

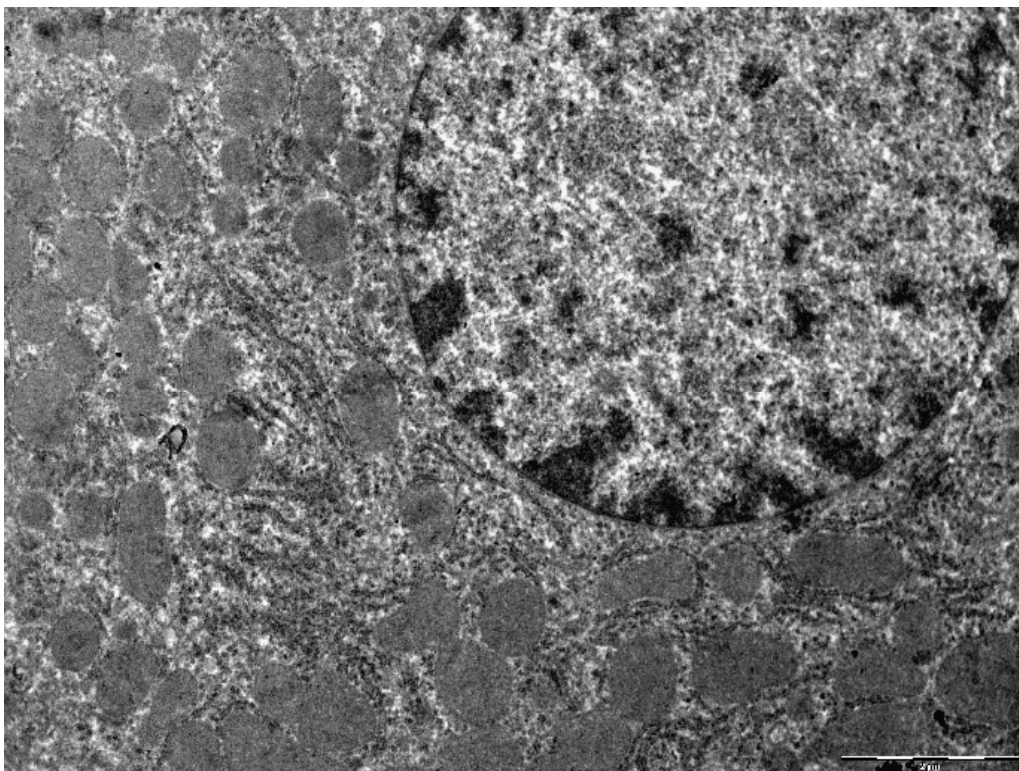


**Resim 54. Grup 7: PAS x20**

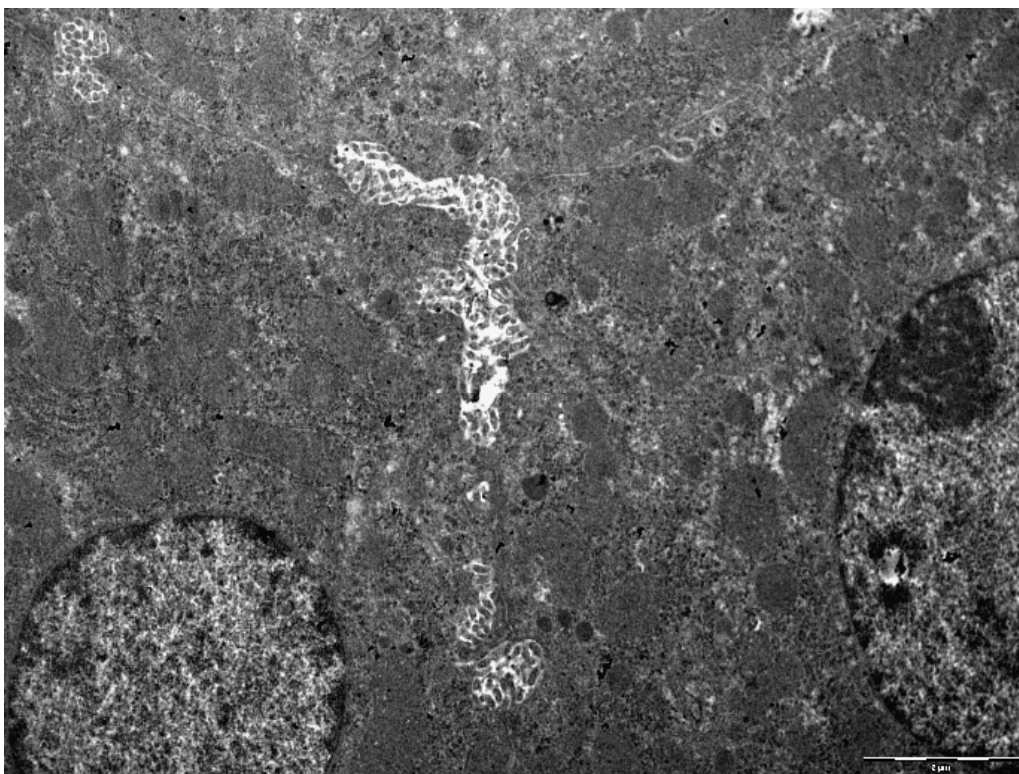


**Resim 55. Grup 7: Trk x20**

Kronik uygulama yapılan kontrol ve zeytinyağı gruplarına (grup 6, 7) ait karaciğer ince kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde hepatositlerin normal ultrastruktural yapıda olduğu, safra kanaliküllerinin lümenlerinin açık ve mikrovillus yapıları içerdiği gözlemlendi (Resim 49, 56).



**Resim 50. Grup 6: TEM x8000**



**Resim 56. Grup 7: TEM x7000**

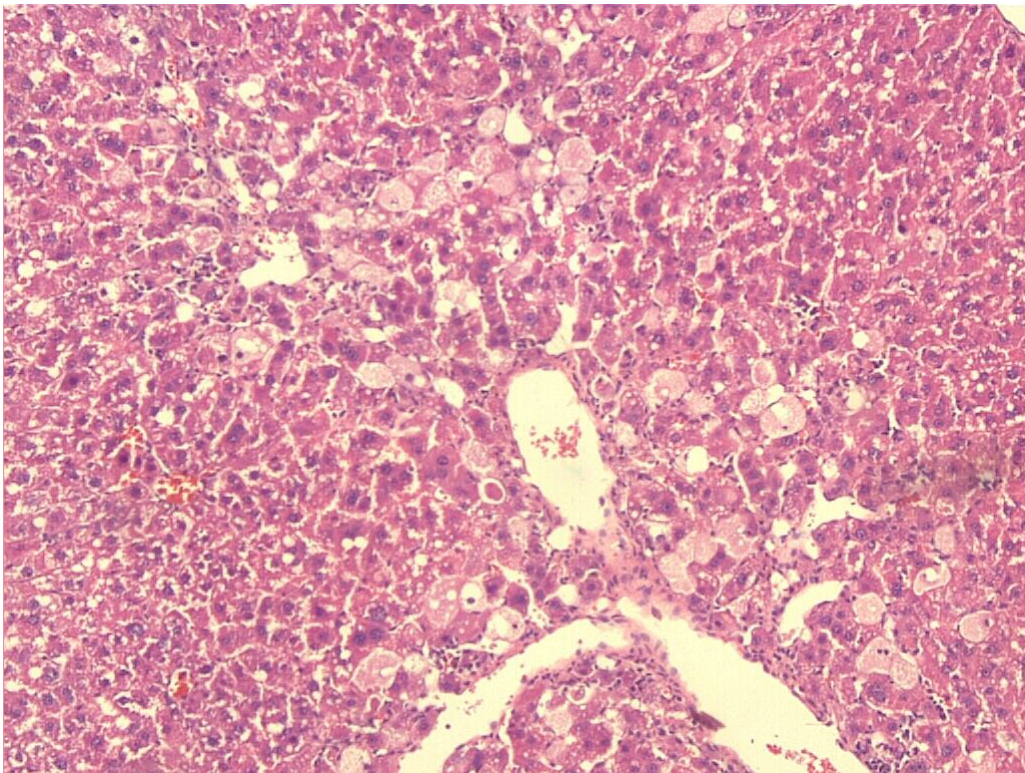
Grup 8 (CCl<sub>4</sub>, 21 gün) grubundaki sıçanların karın boşlukları açıldığında makroskopik olarak karaciğerlerinin dıştan beyaz renkli yağ tabakasıyla kaplı olduğu görüldü (Resim 57). Bu grupta karaciğer parankiminde hepatositlerde yaygın vakuolizasyon, balonlaşma dejenerasyonu, hepatosit nekrozu ile çok sayıda apoptotik cisimcik görüldü (Resim 58, 59, 60). Glisson kapsülünde belirgin kalınlaşma ve subkapsüler alanda tabaka şeklinde yağ dokusu oluşumu saptandı (Resim 59, 60). Özellikle karaciğer lobüllerinin merkezi kısımlarındaki sinuzoidlerde dilatasyon dikkati çekti (Resim 61). Tüm parankima alanında orta dereceli inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 60) .

Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerde hepatositlerde glikojen kaybı belirgindi (Resim 62).(Tablo 9)

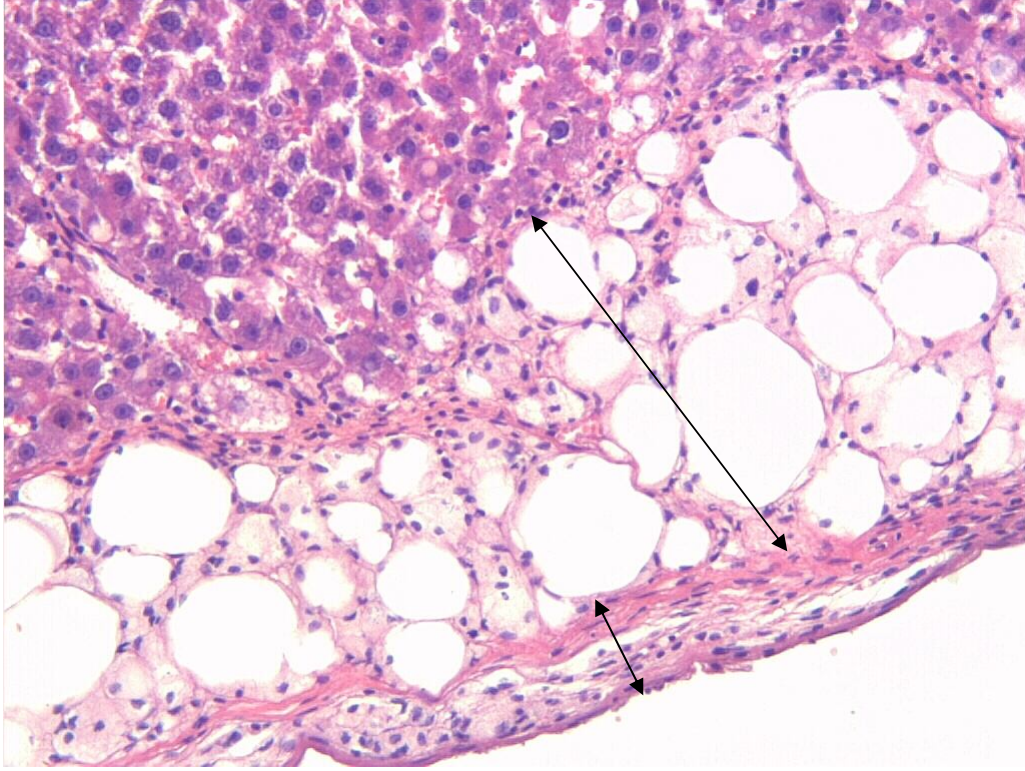
Trikrom ile boyanan kesitlerde sentral ven duvarında kalınlaşma ve perivasküler alanda fibrotik değişiklikler saptandı (Resim 63).



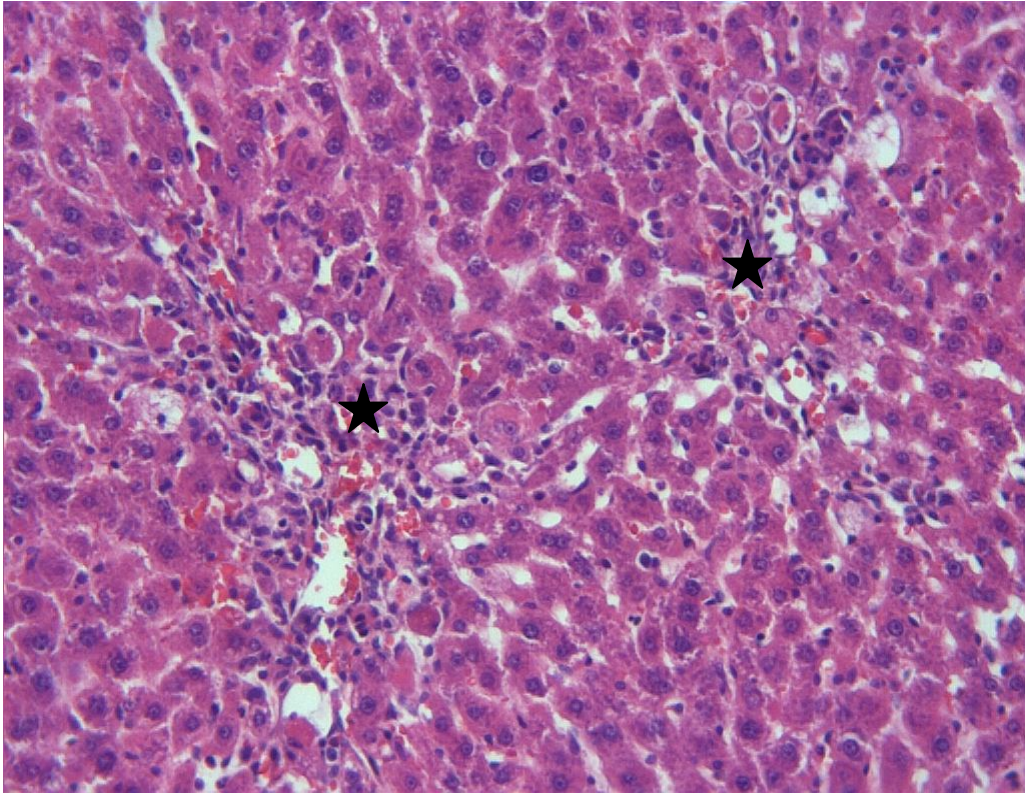
**Resim 57. Grup 8- Makroskopik**



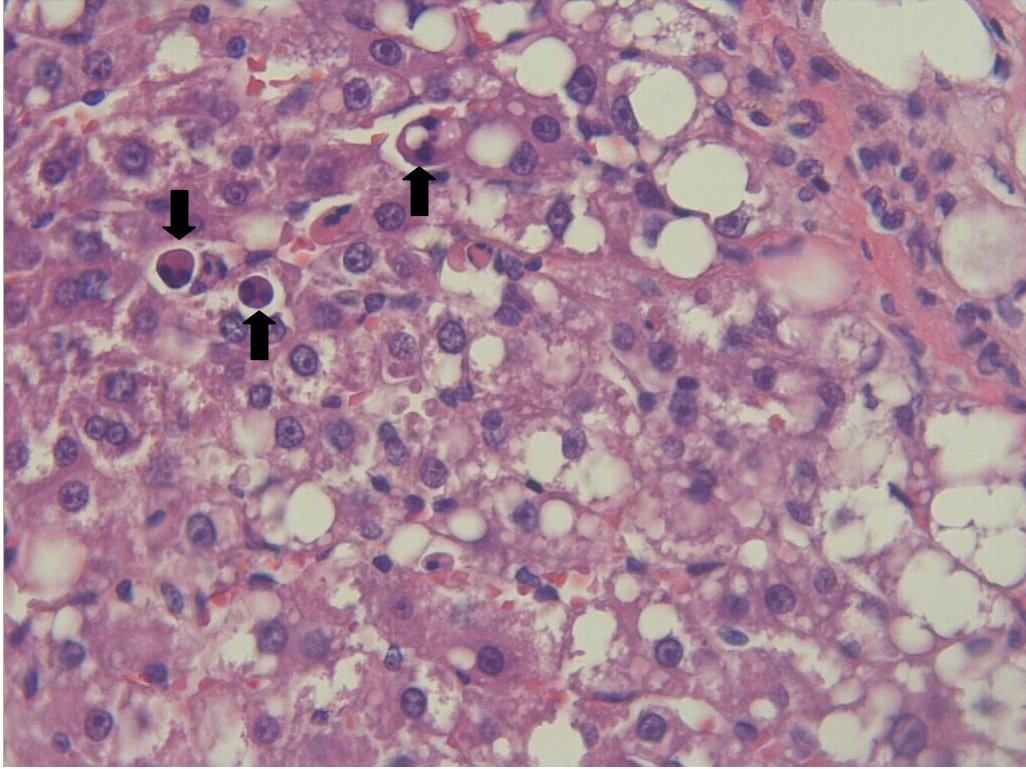
**Resim 58. Grup 8: H&E x10**



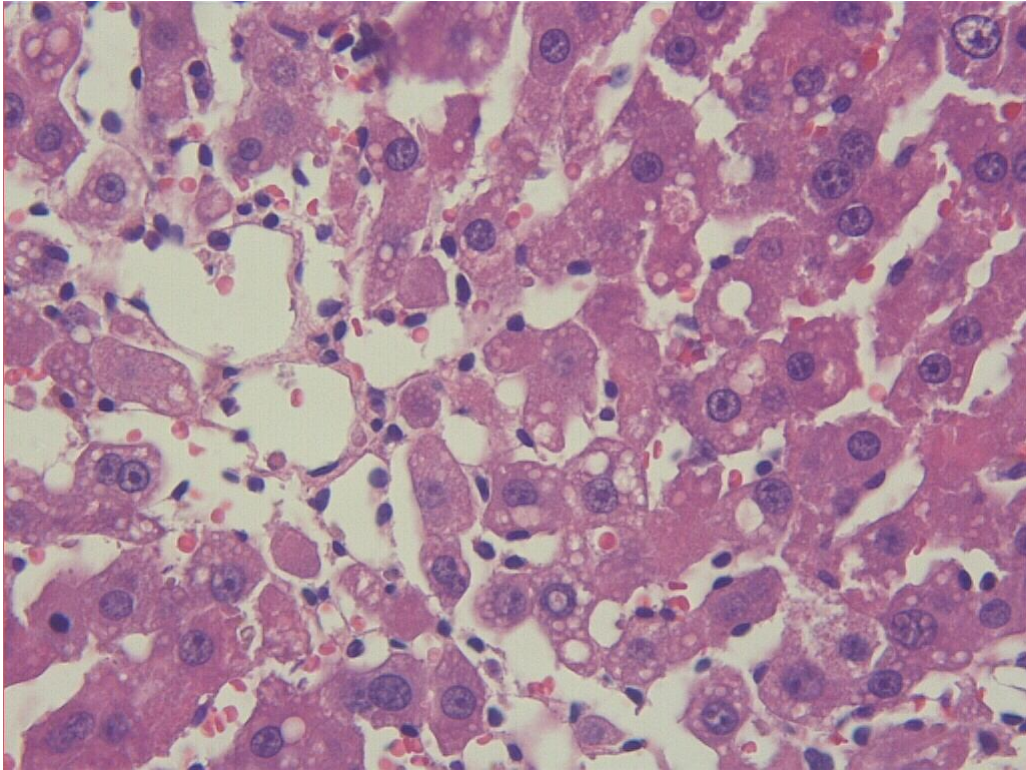
**Resim 59. Grup 8: Glisson kapsülünde kalınlaşma ve subkapsüler alanda yağ dokusu. H&E x20**



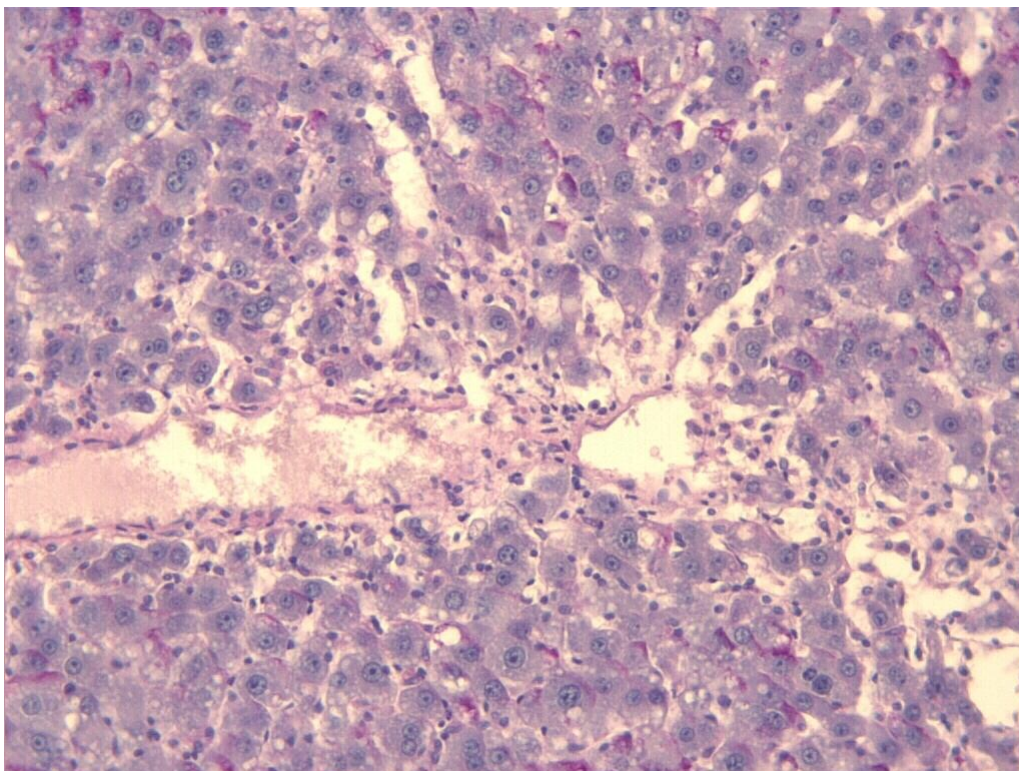
**Resim 60. Grup 8: İnfiltrasyon alanları. H&E.x20**



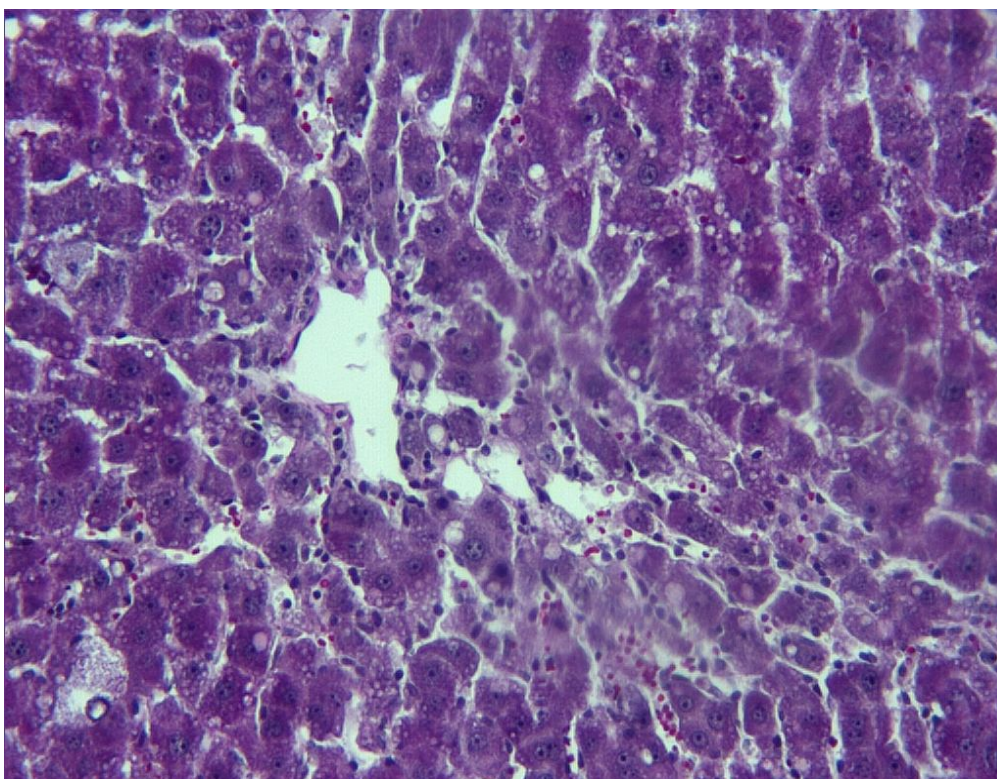
Resim 61. Grup 8: Apoptotik cisimcikler. H&E, x40



Resim 62. Grup 8: Sinuzoidlerde Dilatasyon. H&E x40

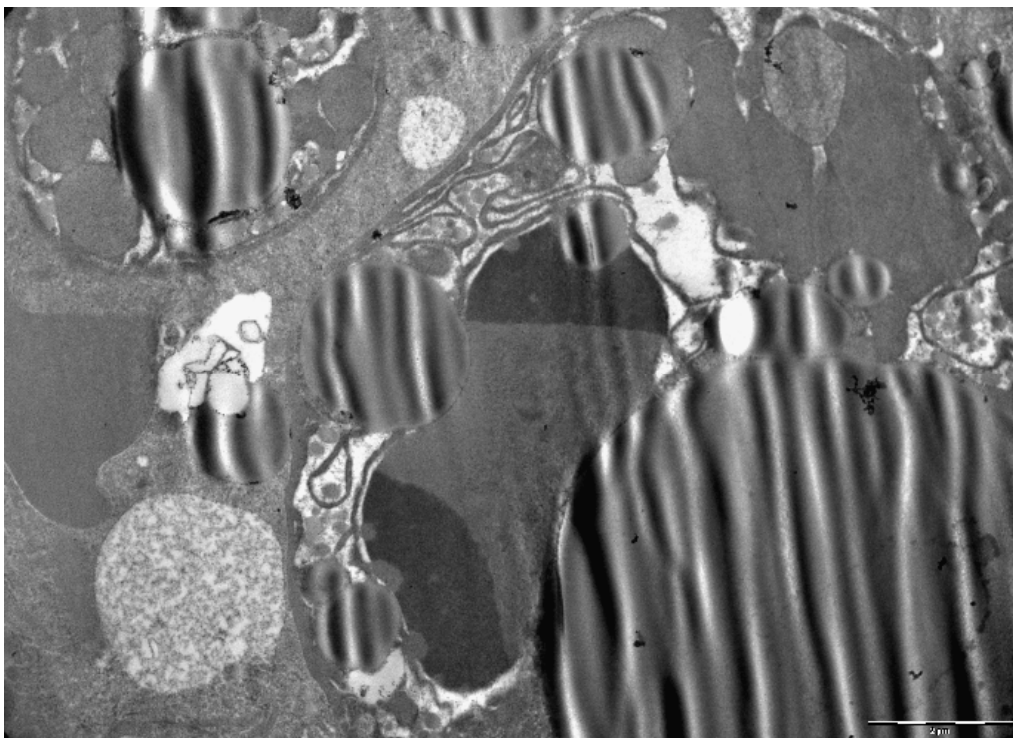


**Resim 63: Grup 8: PAS x20**

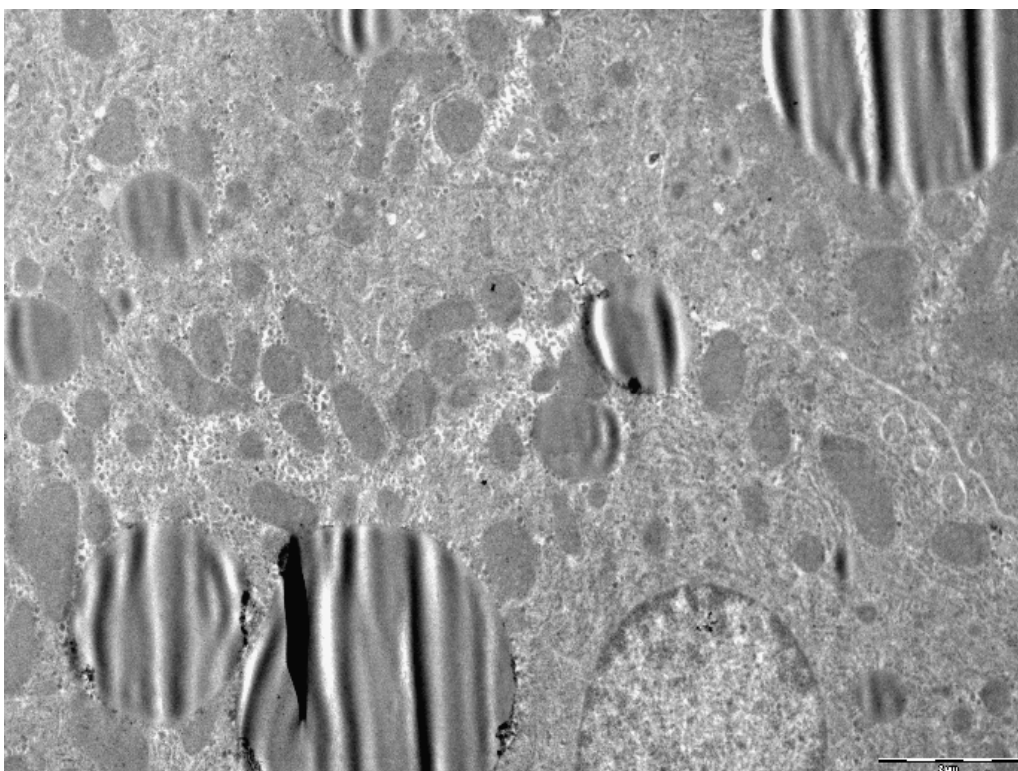


**Resim 64. Grup 8: Trk x20**

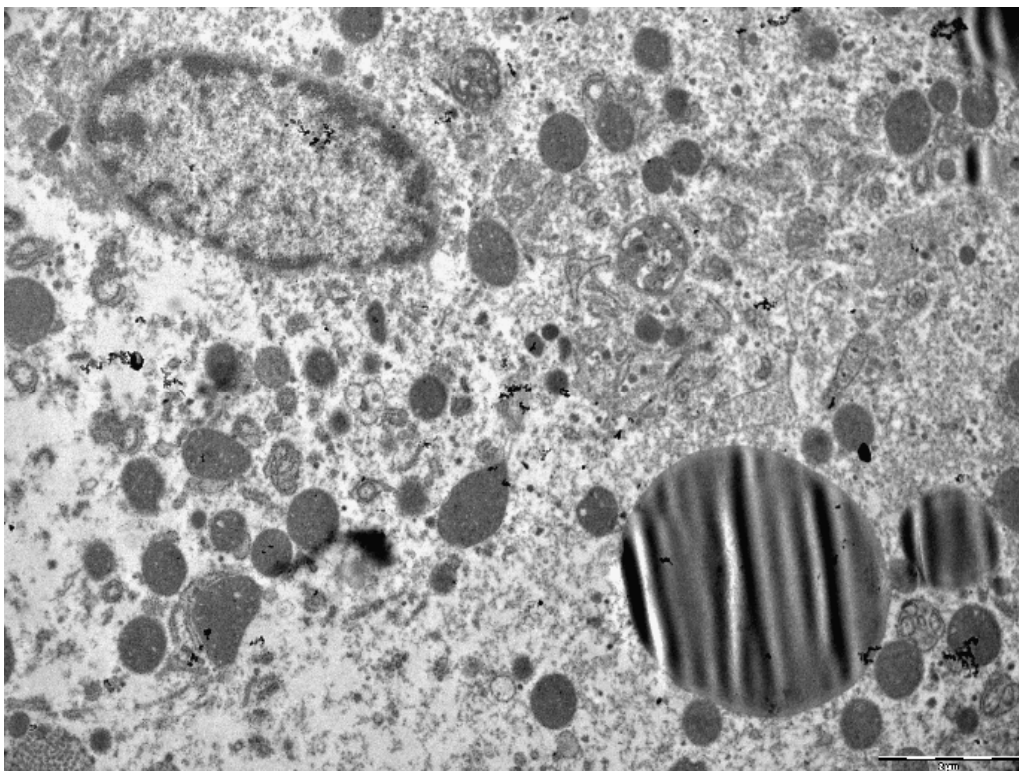
Grup 8 (CCl<sub>4</sub>, 21 gün)' e ait karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde yer yer hepatosit stoplazmasını doldurur tarzda değişik büyüklüklerde lipid ve hidropik vakuoller ve bu vakuoller arasında büyük miyelin figürlere rastlandı. Granüllü Endoplazmik Retikulum sisternalarında dilatasyon, mitokondriyonların matrikslerinde yoğunlaşma ve yer yer krista hasarı görüldü. Ultrastructural hasar bulguları gösteren hepatositlerin stoplazmalarında farklı büyüklüklerde heterojen yoğunlukta lizozomal yapılar dikkati çekti (Resim 64, 65, 66, 67, 68). Bazı hepatositlerde ileri derecede intrastoplazmik ödem saptandı.



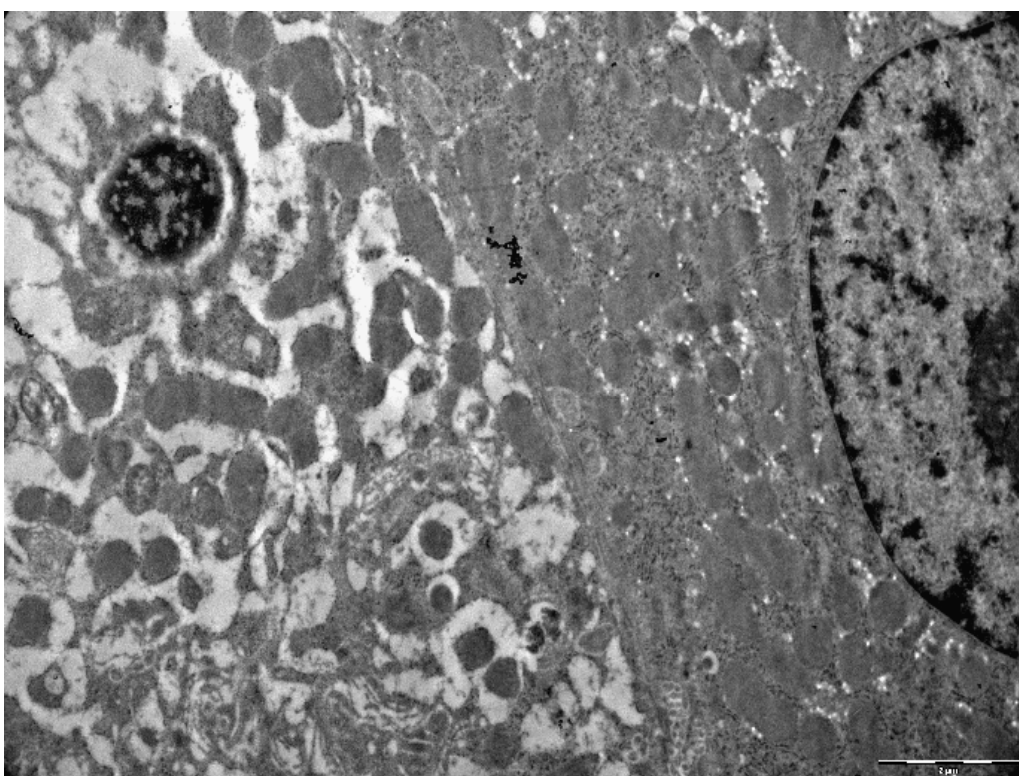
**Resim 65. Grup 8: TEM x6514**



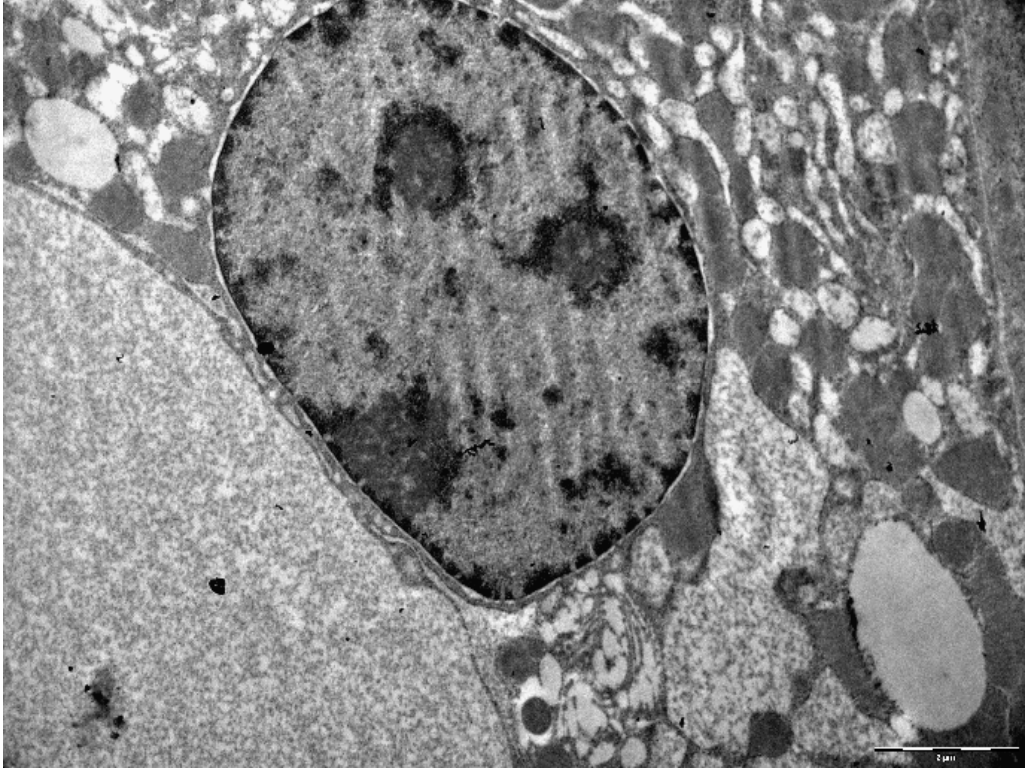
**Resim 66. Grup 8: TEM x6300**



Resim 67. Grup 8:TEM x6300

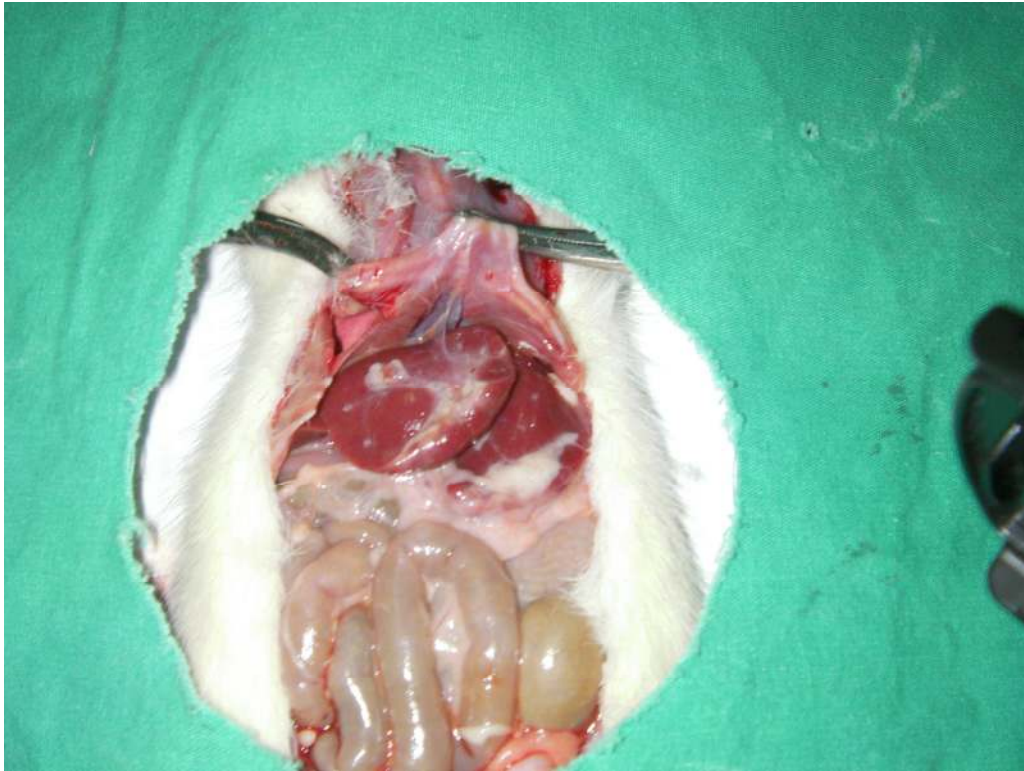


Resim 68. Grup 8: TEM x6300

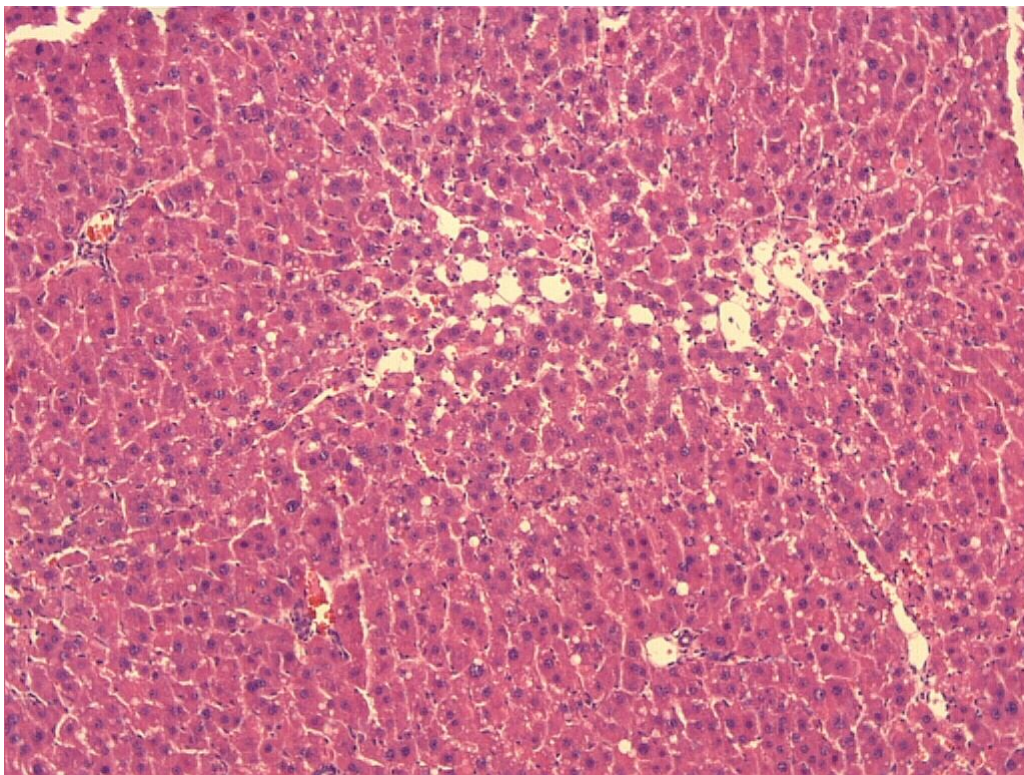


**Resim 69: Grup 8: TEM x6500**

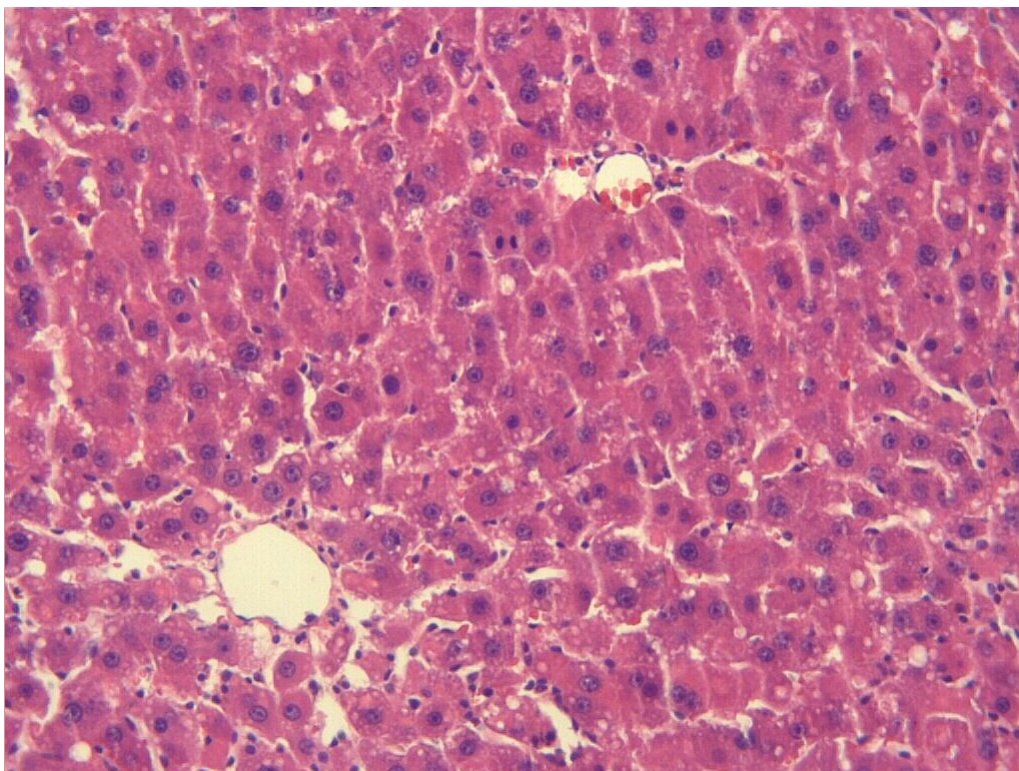
Resveratrol grubundaki sıçanların (grup 9) karaciğerlerin yüzeyinde yer yer makroskopik olarak yağlanma alanları görülmekle birlikte  $\text{CCl}_4$  grubundakine göre belirgin şekilde azalmış olduğu dikkati çekti (Resim 69). Resveratrol grubuna ait H&E ile boyanmış karaciğer kesitlerinde santral ven çevresindeki hepatositlerde vakuolizasyon ve bu alanlardaki sinuzoidlerde minimal dilatasyon mevcuttu. Karaciğer lobüllerinin içerisindeki zon1 ve zon2 bölgelerindeki karaciğer parankimi normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 70, 71, 72). Hepatositlerde çok sayıda farklı evrelerde mitotik figürler ve yer yer apoptotik cisimcikler dikkati çekti (Resim 73, 74). Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerde karaciğer parankimini zon3 bölgesindeki hepatositlerde glikojen içeriğinin azaldığı zon 1 ve zon 2 bölgesindeki hepatositlerde normal yoğunlukta stoplazmik glikojen granülleri saptandı (Resim 75) ve glikojen kaybı skorlandı (Tablo:9). Trikrom ile boyanan kesitlerde zon3 bölgesindeki hepatositlerde vakuolizasyon ve minimal hücre infiltrasyonu mevcuttu. Fibrotik değişiklik saptanmadı (Resim 75).



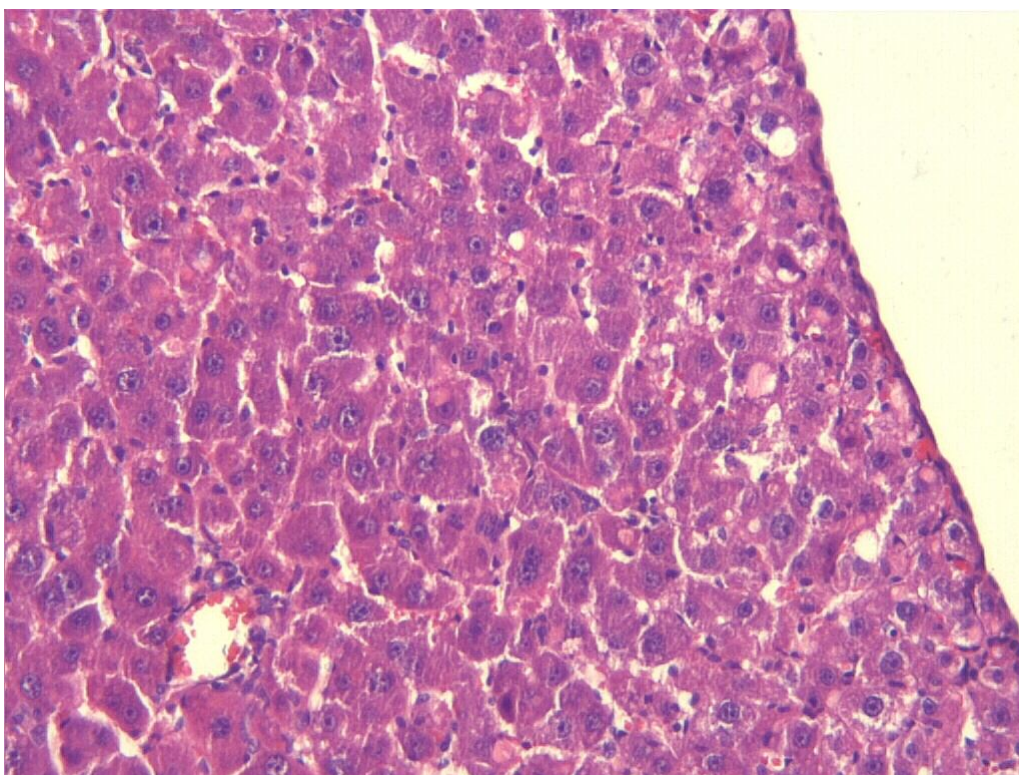
**Resim 70: Res (G9)-makroskopik**



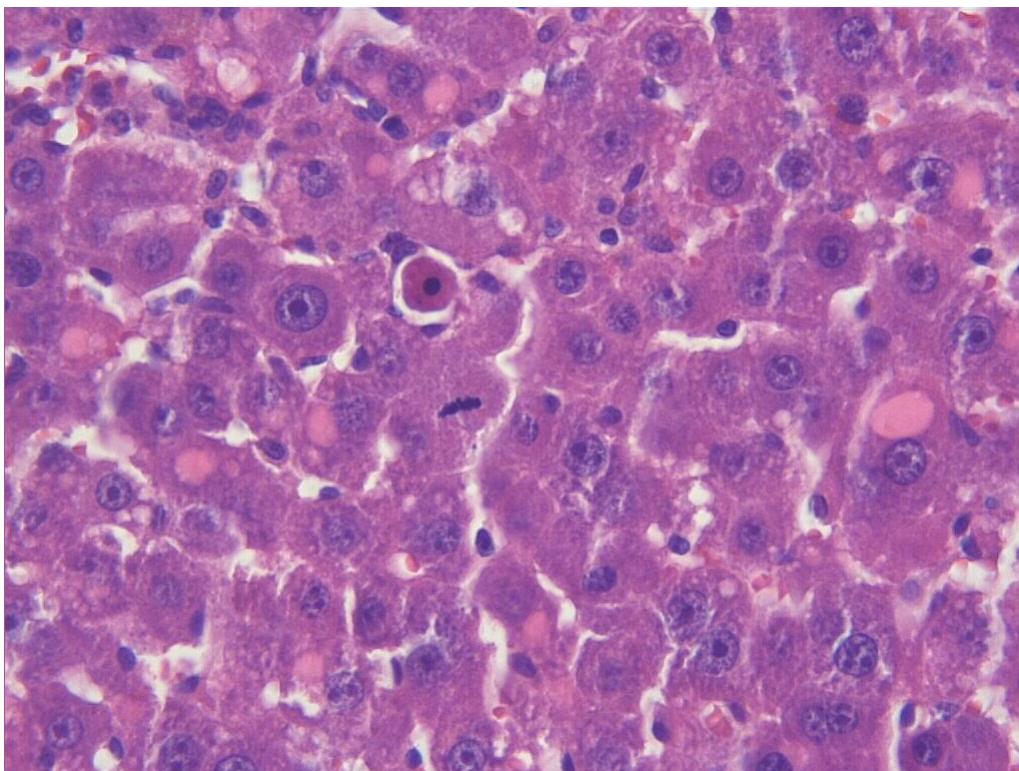
**Resim 71. Grup 9: H&E x10**



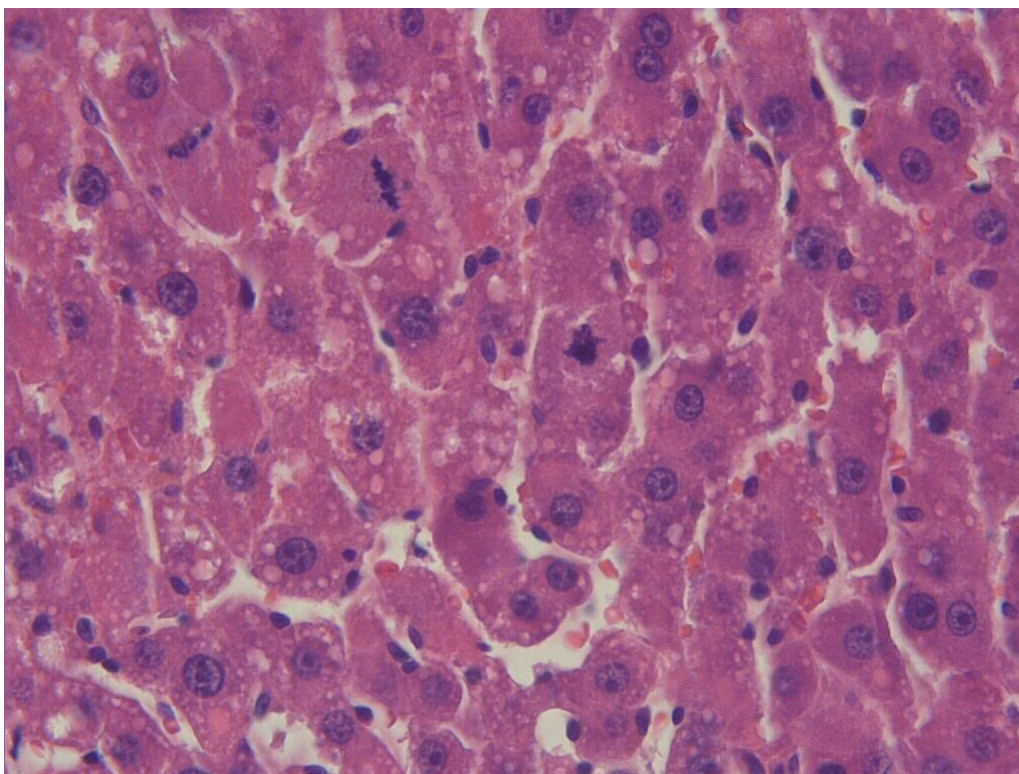
**Resim 72. Grup 9: H&E x20**



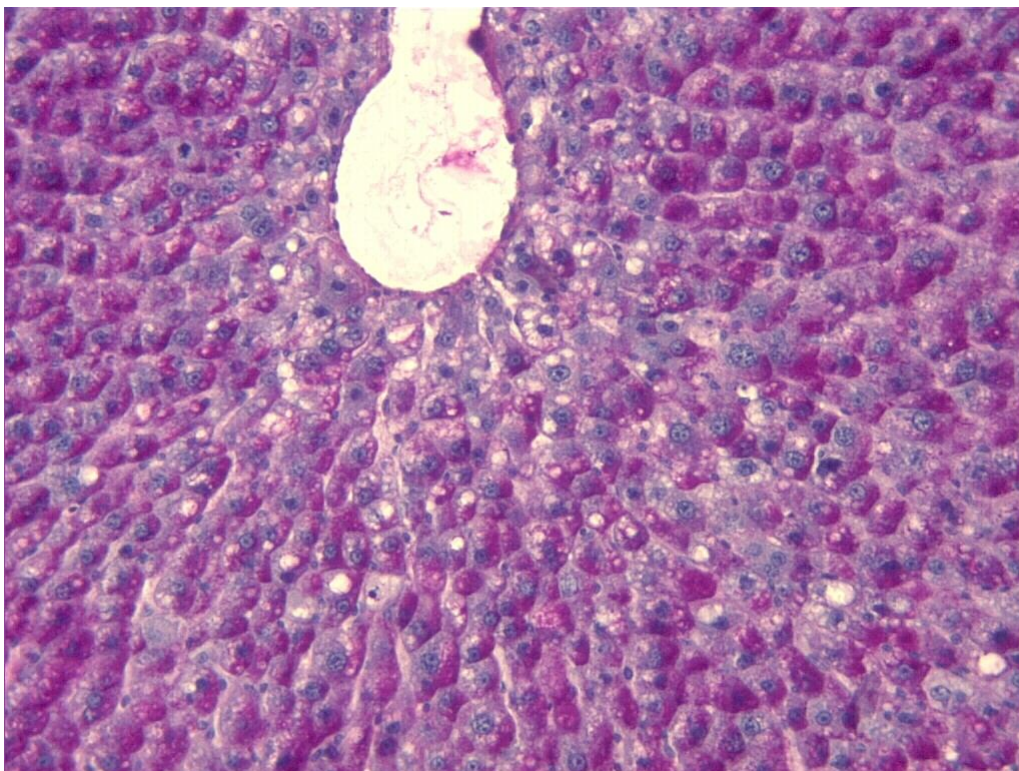
**Resim 73. Grup 9: H&E x20**



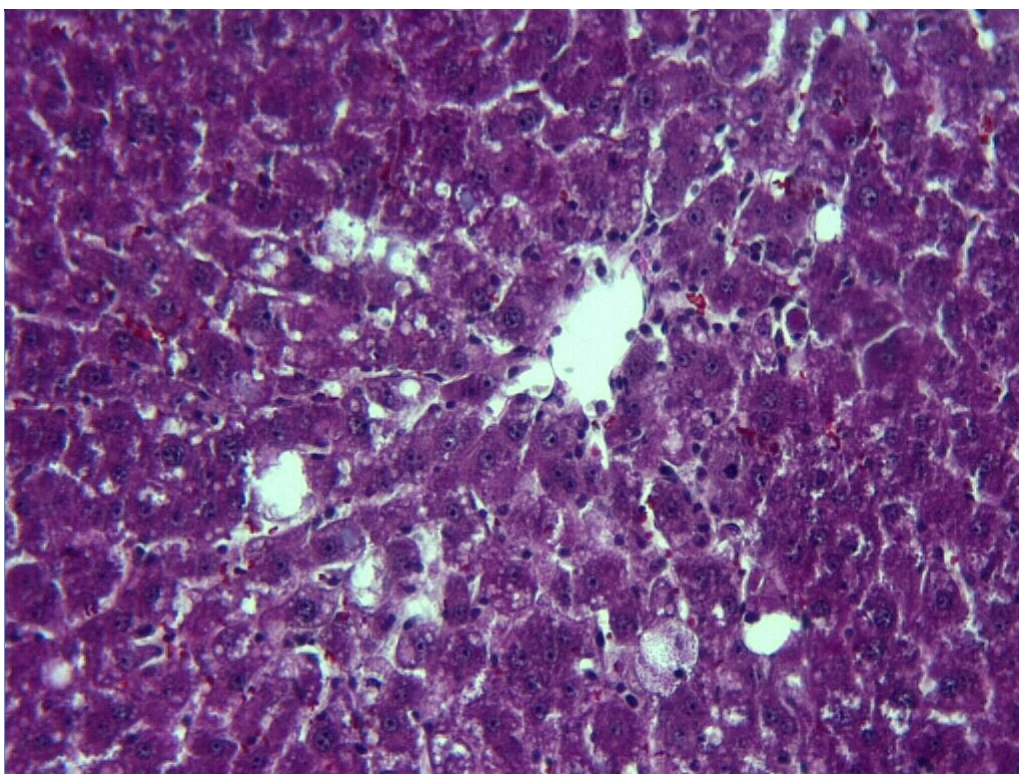
**Resim 74. Grup 9:H&E x40**



**Resim 75. Grup 9:H&E x40**

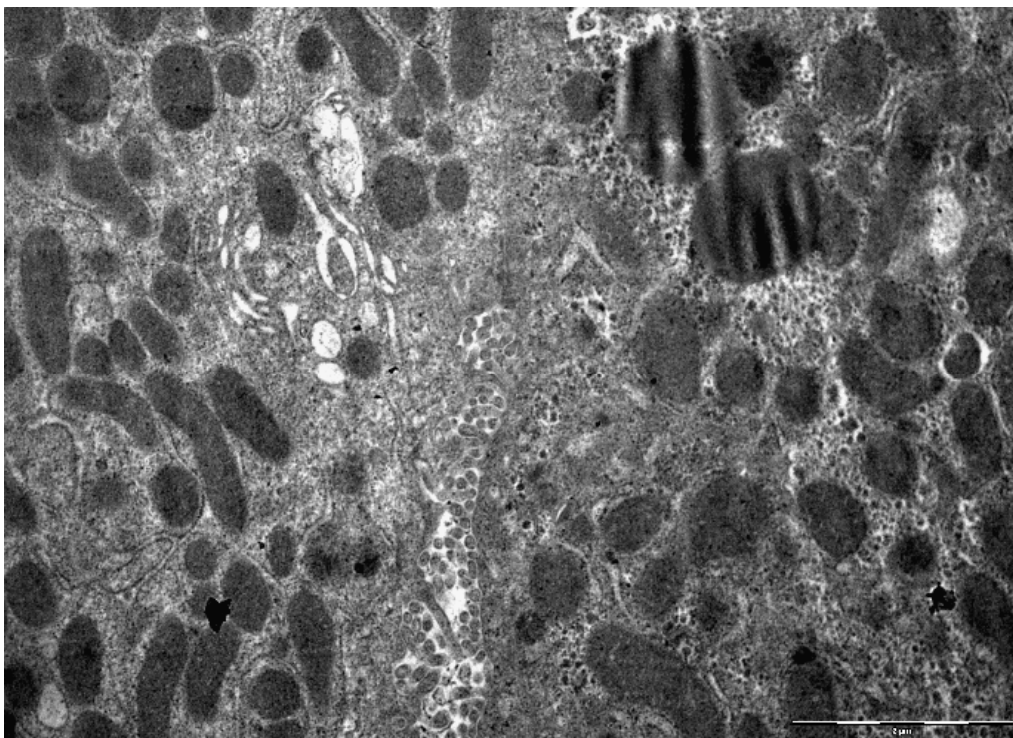


**Resim 76. Grup 9: PAS x20**

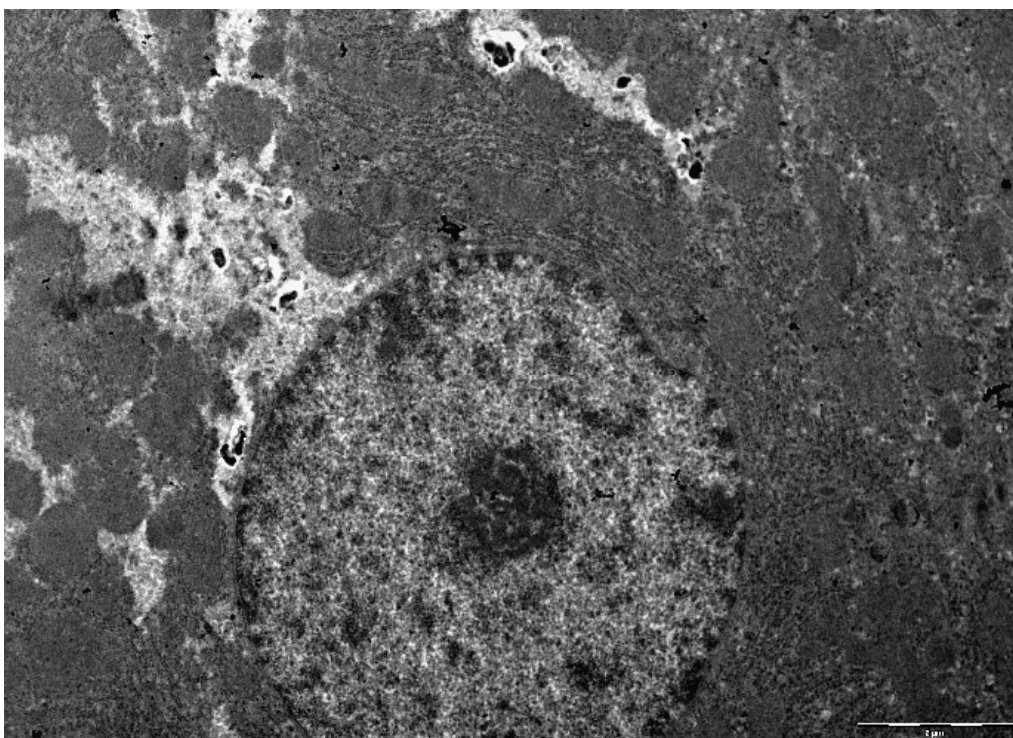


**Resim 77. Grup 9: Trk x20**

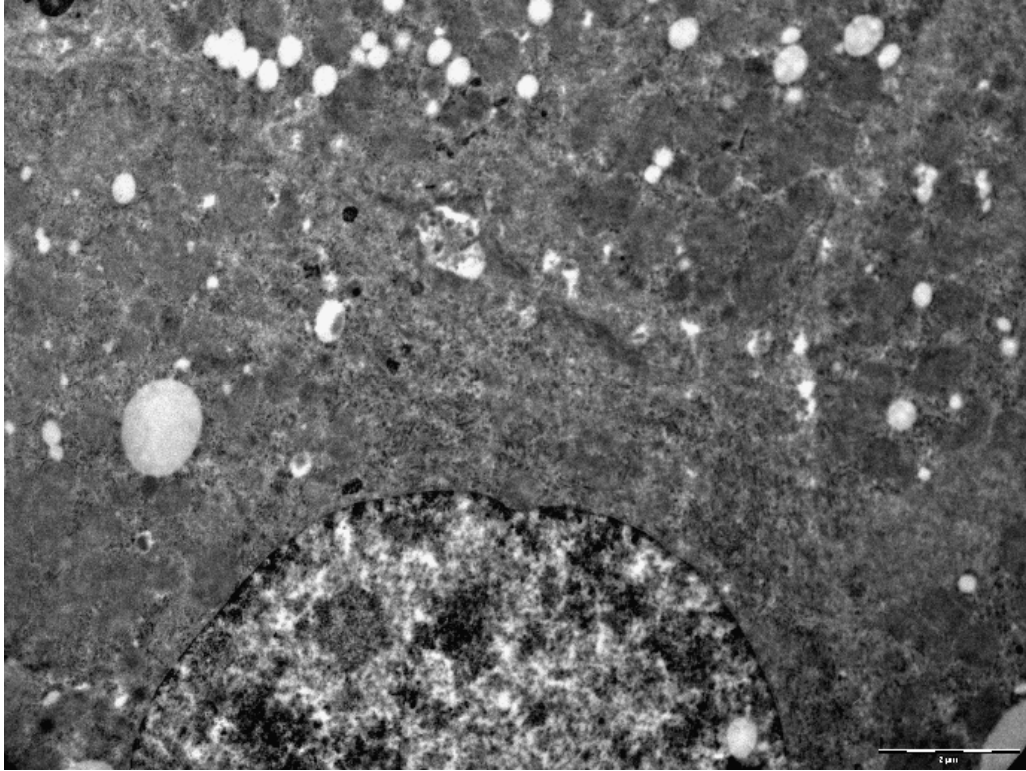
Grup 9 (CCl<sub>4</sub> + Res, 21 gün)' a ait karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde hepatositlerde yer yer minimal intrastoplazmik ödem, vakuolizasyon, mitokondriyonların matriksinde yoğunlaşma, küçük-elektron yoğun lizozomal yapılar saptandı (Resim 77, 78, 79).



**Resim 78. Grup 9: TEM x10000**



**Resim 79. Grup 9: TEM x7000**



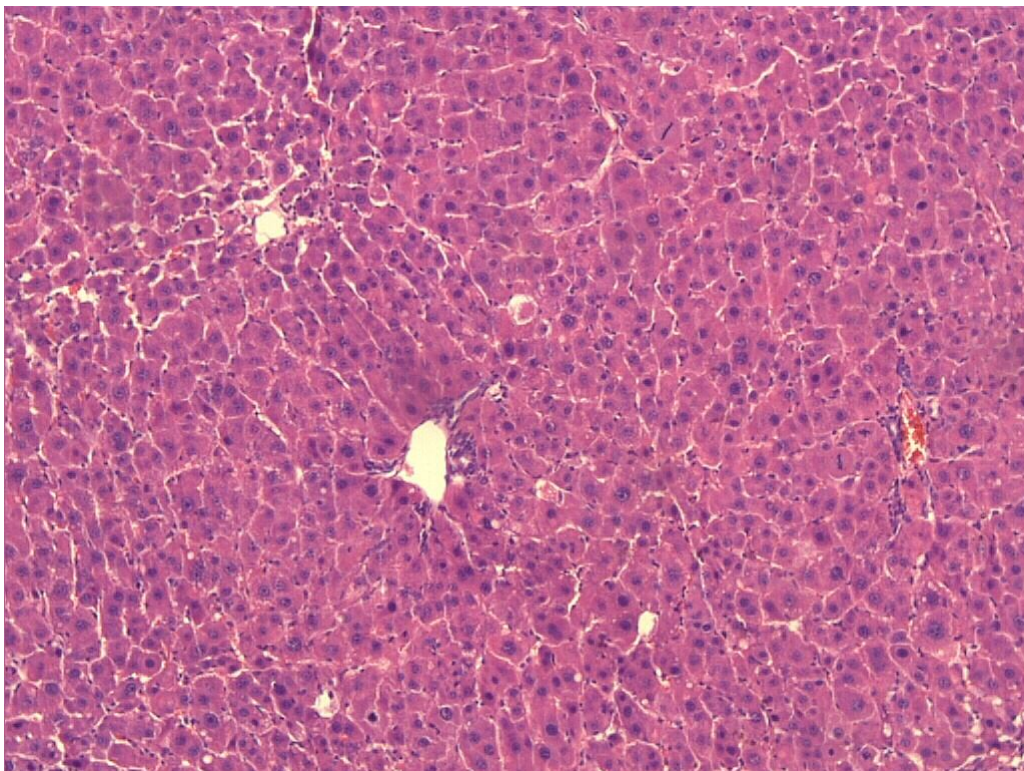
**Resim 80. Grup 9: TEM x6300**

Melatonin grubundaki sıçanların (grup 10) karaciğerlerin yüzeyinde sınırlı alanlar şeklinde makroskopik olarak yağlanma dikkati çekti (Resim 80). Melatonin grubuna ait H&E ile boyanmış karaciğer kesitlerinde santral ven çevresindeki hepatositlerde minimal düzeyde vakuolizasyon mevcuttu. Parankima içerisinde yer yer fokal nekroz alanları ve inflamatuvar inflamasyon alanları saptandı. Hepatositlerde çok sayıda farklı evrelerde mitotik figürler dikkati çekti (Resim 81, 82, 83, 84, 85, 86).

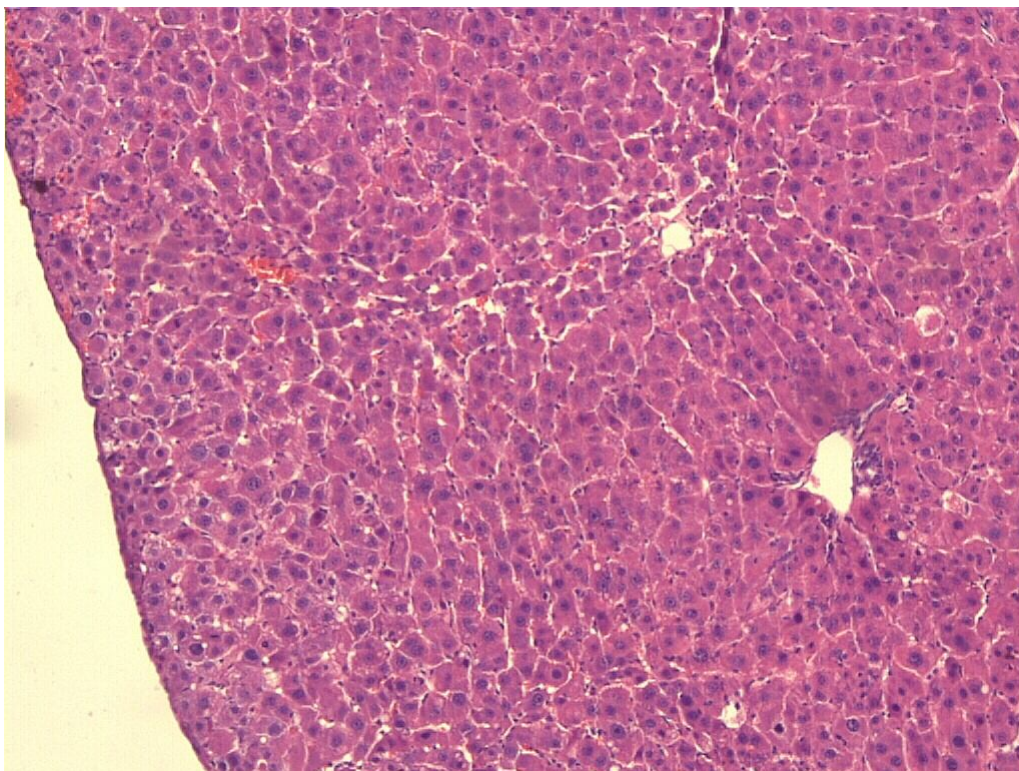
Periyodik- asit schiff (PAS) ile boyanan kesitlerde karaciğer parankiminin zon3 bölgesinde yerleşmiş hepatositlerde glikojen içeriğinin azaldığı saptandı (Resim 87). Glikojen kaybı skoru, CCl<sub>4</sub>(grup 8) grubundakinden düşük, kontrol ve zeytinyağı gruplarındakinden yüksekti (Tablo:9). Trikrom ile boyanan kesitlerde hepatositlerde vakuolizasyon ve minimal inflamatuvar hücre infiltrasyonu görüldü. Fibrotik değişiklik saptanmadı (Parankima içerisinde ve Glisson kapsülünde ) (Resim 88).



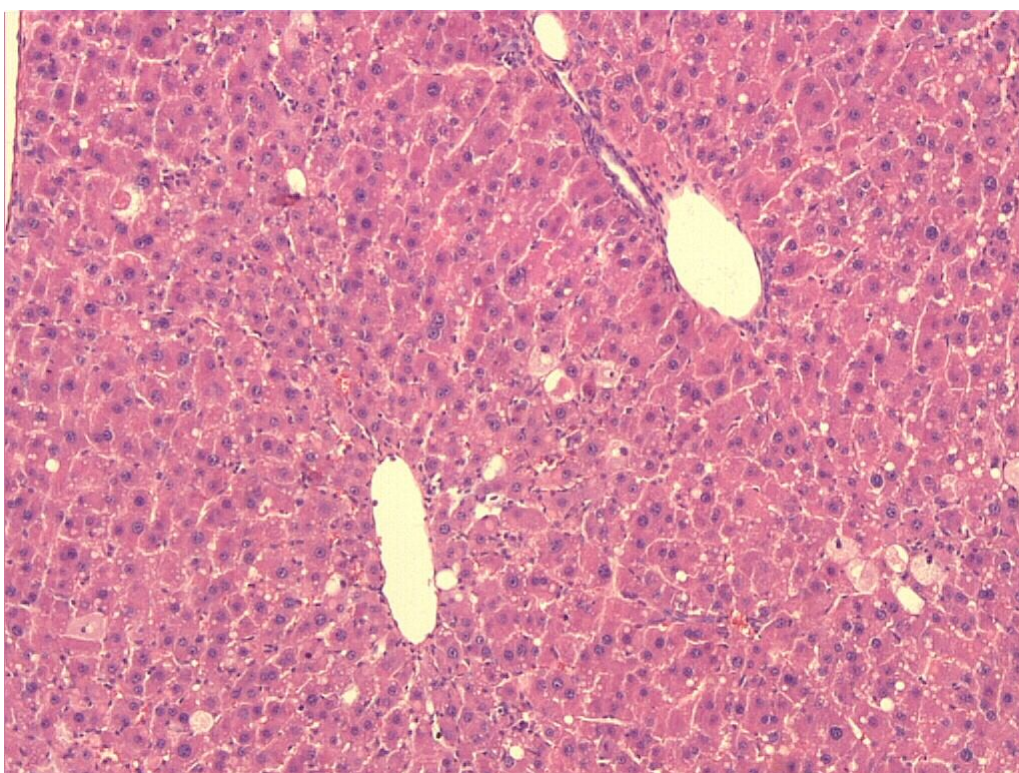
**Resim 81. Grup 10- Makroskopik**



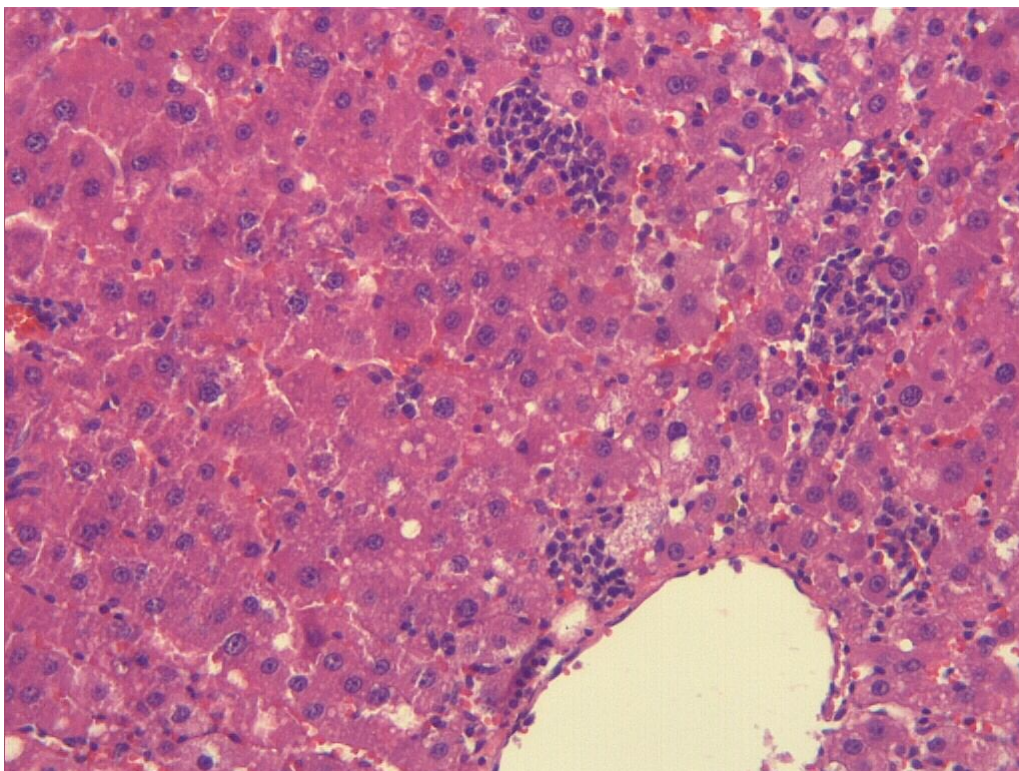
**Resim 82. Grup 10: H&E x10**



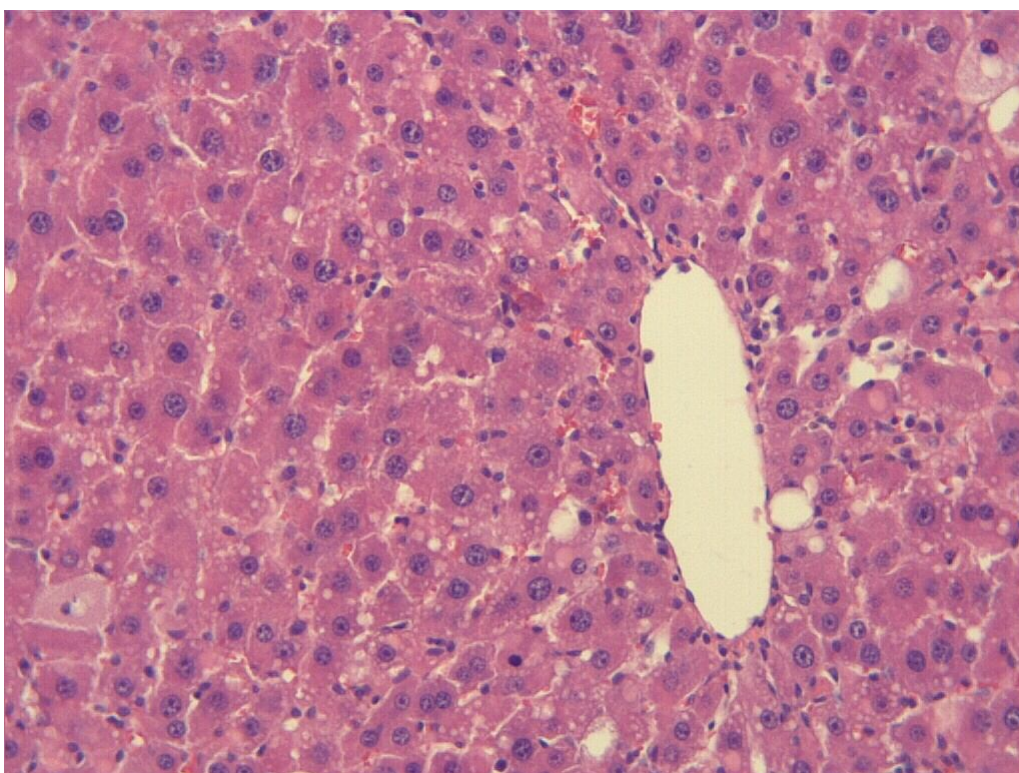
**Resim 83. Grup 10: H&E x10**



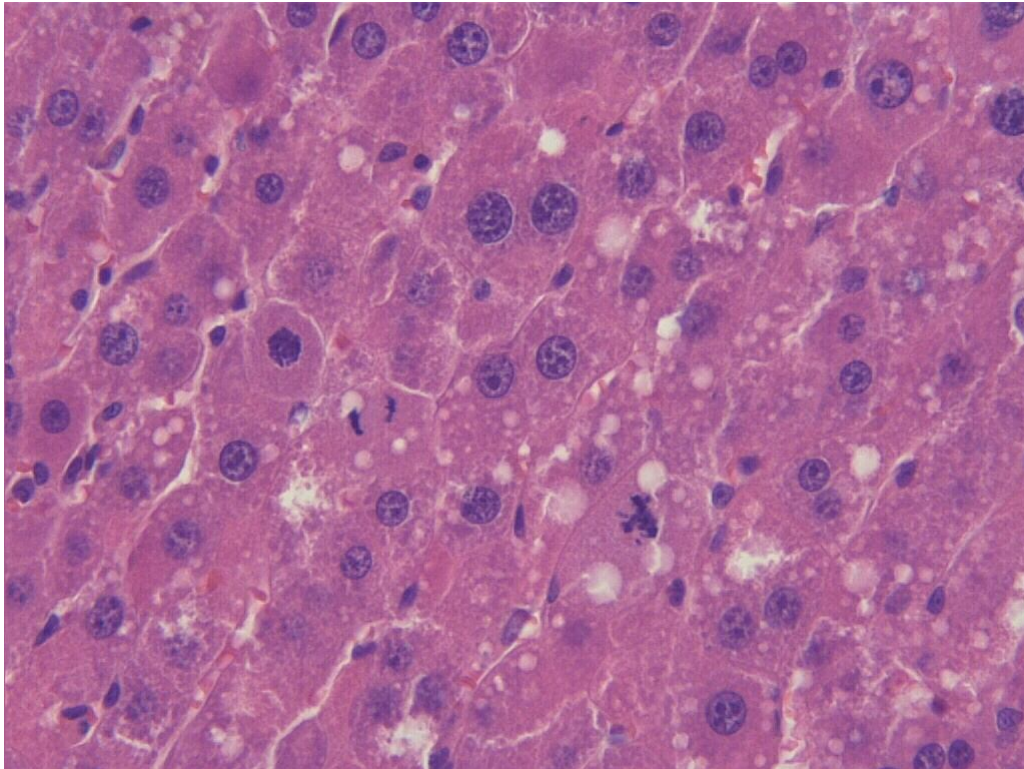
**Resim 84. Grup 10: H&E x10**



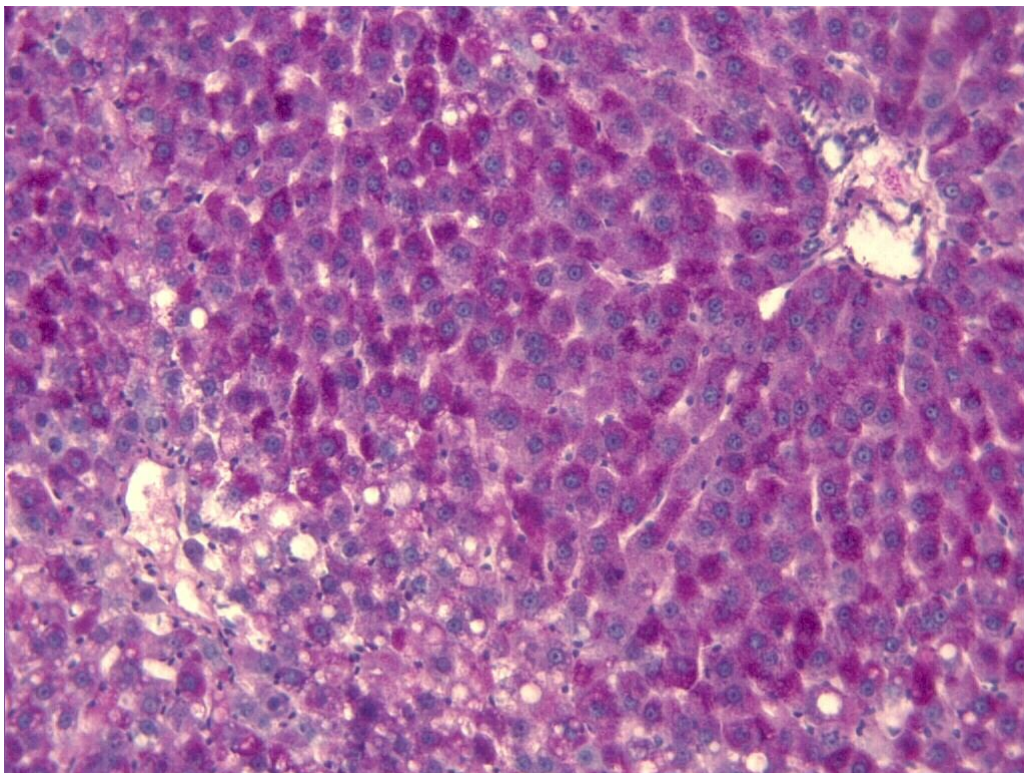
**Resim 85. Grup 10: H&E x20**



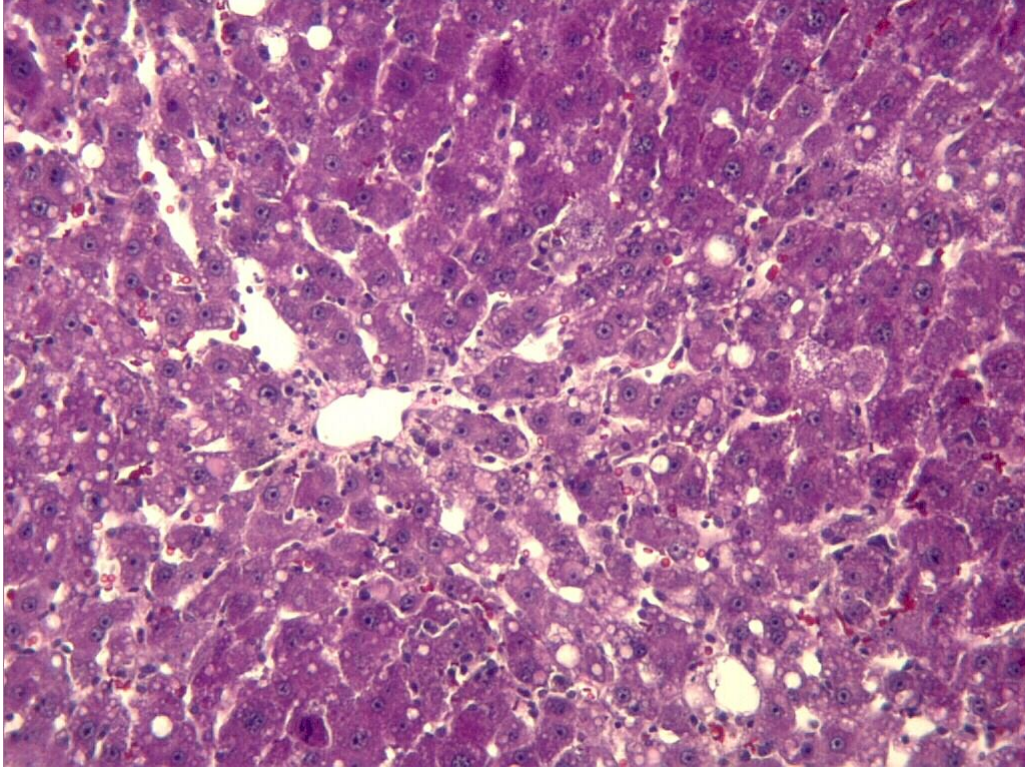
**Resim 86. Grup 10: H&E x20**



**Resim 87. Grup 10: H&E x40**

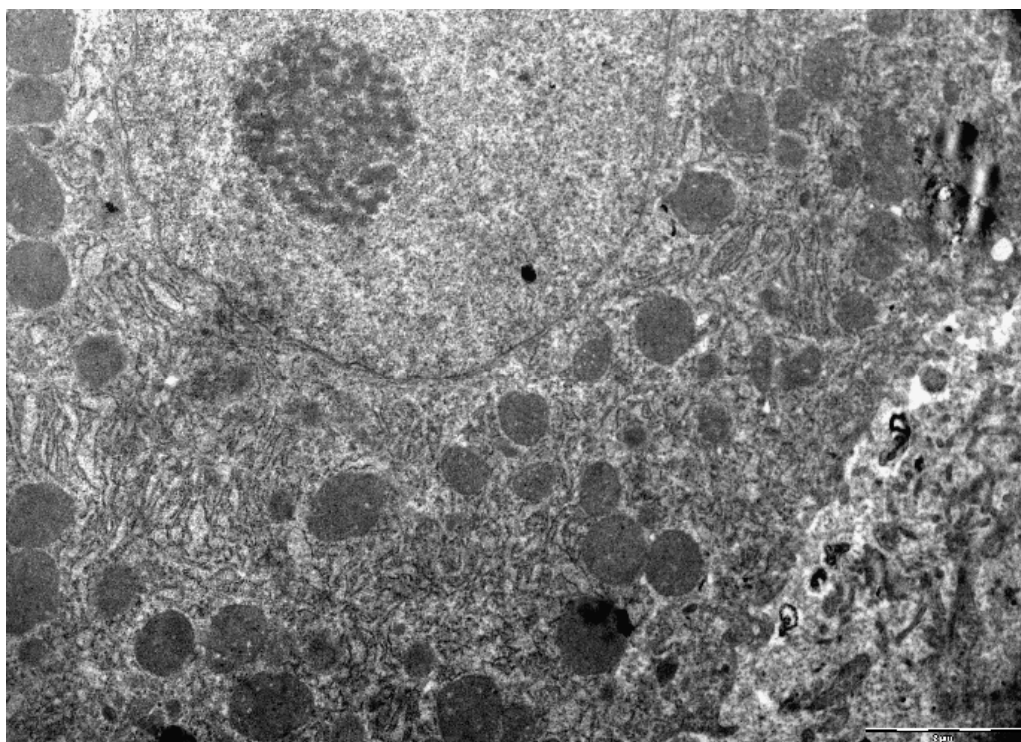


**Resim 88. Grup 10: PAS x20**

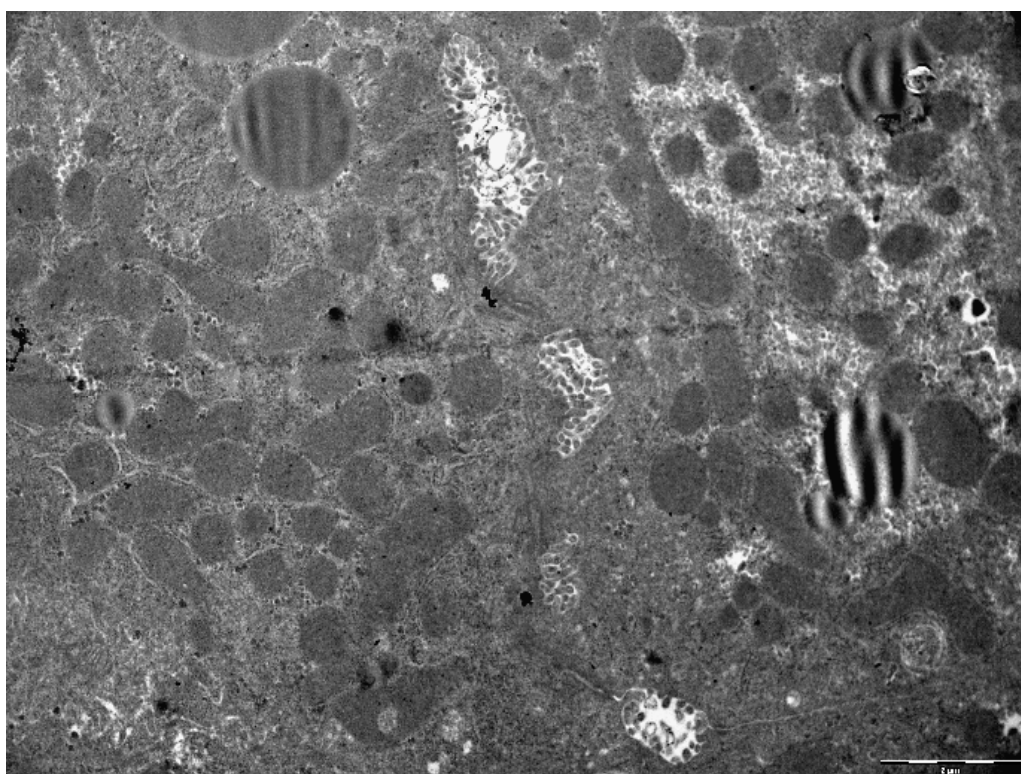


**Resim 89. Grup 10: Trk x20**

Melatonin grubundaki sıçanların (grup 10) karaciğer kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde yer yer hepatositlerin stoplazmasında küçük lipid vakuollerine ve lizozomal yapılara rastlandı. Bu grupta da mitokondrial matriks yoğunlaşması devam ediyordu. Hepatositler arasındaki safra kanalikülleri açık olarak izlendi. Bazı hepatositlerde minimal intrastoplazmik ödem mevcuttu (Resim 89, 90).



**Resim 90. Grup 10:,TEM x8000**



**Resim 91. Grup 10: TEM x6300**

## 4.2. İstatiksel Analiz

**Tablo 1: Hücre Hasar Parametrelerinin İstatiksel Dağılımı**

| GRUP                           | FİBROSİZ<br>X ± SD | YAĞLANMA<br>X ± SD | NEKROZ<br>X ± SD | İNFİLTRASYON<br>X ± SD | TOPLAM<br>X ± SD |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------------|------------------|
| G1                             | 0 ± 0              | 0 ± 0              | 0 ± 0            | 0 ± 0                  | 0 ± 0            |
| G2                             | 0 ± 0              | 0 ± 0              | 0 ± 0            | 0 ± 0                  | 0 ± 0            |
| G3                             | 1 ± 0              | 2,38 ± 0,91        | 1,5 ± 0,75       | 1,38 ± 0,51            | 6,12 ± 0,99      |
| G4                             | 1 ± 0              | 2,25 ± 0,5         | 1,1 ± 0,35       | 1,1 ± 0,35             | 5,50 ± 0,75      |
| G5                             | 1 ± 0              | 2,37 ± 0,51        | 1 ± 0            | 1 ± 0                  | 5,37 ± 0,75      |
| G6                             | 0 ± 0              | 0 ± 0              | 0 ± 0            | 0 ± 0                  | 0 ± 0            |
| G7                             | 0 ± 0              | 0 ± 0              | 0 ± 0            | 0 ± 0                  | 0 ± 0            |
| G8                             | 1,38 ± 0,52        | 2,12 ± 0,83        | 1,75 ± 0,47      | 1,75 ± 0,47            | 7,00 ± 1,77      |
| G9                             | 0,75 ± 0,46        | 1,5 ± 0,75         | 1 ± 0,53         | 0,87 ± 0,35            | 4,12 ± 1,64      |
| G10                            | 0,87 ± 0,35        | 2 ± 0,75           | 1 ± 0,53         | 0,87 ± 0,35            | 4,75 ± 1,66      |
| kruskal-wallis<br>st sonuçları | P< 0,0001          | P< 0,0001          | P< 0,0001        | P< 0,0001              | P< 0,0006        |

**Tablo 2: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hücre Hasar Parametreleri Bakımından Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | FİBROSİZ         | YAĞLANMA     | NEKROZ       | İNFİLTRASYON | TOPLAM       |
|------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| G1   | 3,4,5,6,7,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 |
| G2   | 3,4,5,6,7,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10 |
| G3   | 6,7,9            | 6,7,9        | 6,7,9,10     | 6,7,9,10     | 6,7,9,10     |
| G4   | 6,7,9            | 6,7,9        | 6,7,8        | 6,7,8        | 6,7,8,9      |
| G5   | 6,7,9            | 6,7,9        | 6,7,8        | 6,7,8        | 6,7,8,9      |
| G6   | 8,9,10           | 8,9,10       | 8,9,10       | 8,9,10       | 8,9,10       |
| G7   | 8,9,10           | 8,9,10       | 8,9,10       | 8,9,10       | 8,9,10       |
| G8   | 9,10             | 9            | 9,10         | 9,10         | 9,10         |

**Tablo 3: Karaciğer Doku Biyokimyası Parametre Sonuçları**

| GRUP                          | CAT<br>X ± SD | SOD<br>X ± SD | MDA<br>X ± SD | TOTAL GSH<br>X ± SD | GPX<br>X ± SD |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------------|---------------|
| G1                            | 227 ± 41      | 3,68 ± 0,39   | 0,27 ± 0,05   | 7,03 ± 0,93         | 5,83 ± 0,90   |
| G2                            | 212 ± 39,3    | 3,86 ± 0,57   | 0,18 ± 0,06   | 5,70 ± 1,33         | 4,45 ± 0,23   |
| G3                            | 81,9 ± 14,9   | 2,82 ± 0,86   | 0,40 ± 0,05   | 3,62 ± 0,96         | 3,46 ± 0,44   |
| G4                            | 149 ± 39,1    | 3,93 ± 0,74   | 0,33 ± 0,07   | 8,81 ± 2,34         | 4,35 ± 0,45   |
| G5                            | 115 ± 20      | 4,83 ± 0,89   | 0,37 ± 0,04   | 9,85 ± 2,39         | 4,95 ± 0,52   |
| G6                            | 222 ± 22,6    | 4,96 ± 0,50   | 0,18 ± 0,05   | 4,26 ± 0,75         | 4,95 ± 0,35   |
| G7                            | 215 ± 36,16   | 3,25 ± 0,92   | 0,26 ± 0,07   | 6,30 ± 0,86         | 4,21 ± 0,47   |
| G8                            | 73,57 ± 18,24 | 3,51 ± 1,17   | 0,65 ± 0,05   | 4,78 ± 0,61         | 2,94 ± 0,15   |
| G9                            | 85,95 ± 18,10 | 5,29 ± 0,87   | 0,56 ± 0,14   | 6,37 ± 1,84         | 3,96 ± 0,70   |
| G10                           | 98,92 ± 17,42 | 5,44 ± 0,81   | 0,37 ± 0,08   | 6,34 ± 1,27         | 3,86 ± 0,50   |
| kruskal-wallis test sonuçları | P< 0,0001     | P< 0,0001     | P< 0,0001     | P< 0,0001           | P< 0,0001     |

**Tablo 4: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Karaciğer Doku Biyokimyası Bakımında Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | CAT          | SOD        | MDA              | TOTAL GSH  | GPX            |
|------|--------------|------------|------------------|------------|----------------|
| G1   | 3,4,5,8,9,10 | 5,6,9,10   | 2,3,4,5,6,8,9,10 | 2,3,5,6,8  | 2,3,4,7,8,9,10 |
| G2   | 3,4,5,8,9,10 | 3,5,6,9,10 | 3,4,5,7,8,9,10   | 3,4,5,6    | 3,6,8,9,10     |
| G3   | 4,5,6,7,10   | 4,5,6,9,10 | 4,6,7,8,9        | 4,5,7,9,10 | 4,5,6,7,9      |
| G4   | 5,6,7,8,9,10 | 6,7,9      | 6,7,8,9          | 6,7,8,9,10 | 5,6,8,10       |
| G5   | 6,7,8,9      | 7,8        | 6,7,8,9          | 6,7,8,9,10 | 7,8,9,10       |
| G6   | 8,9,10       | 7,8        | 7,8,9,10         | 7,9,10     | 7,8,9,10       |
| G7   | 8,9,10       | 9,1        | 8,9,10           | 8          | 8              |

**Tablo 5: Karaciğer Enzimlerinin İstatistiksel Dağılımı**

| GRUP                          | ALT<br>X ± SD | AST<br>X ± SD | ALT/AST<br>X ± SD |
|-------------------------------|---------------|---------------|-------------------|
| G1                            | 46,12 ± 4,99  | 171 ± 16,32   | 0,26 ± 0,02       |
| G2                            | 35,62 ± 3,15  | 124 ± 10,19   | 0,28,± 0,02       |
| G3                            | 293 ± 268     | 481 ± 427     | 0,59 ± 0,18       |
| G4                            | 506 ± 204     | 636 ± 261     | 0,80 ± 0,10       |
| G5                            | 561± 252      | 822 ± 374     | 0,70 ± 0,13       |
| G6                            | 45,62 ± 6,13  | 149 ± 58      | 0,27 ± 0,04       |
| G7                            | 39,12 ± 6,01  | 133 ± 18,96   | 0,34 ± 0,17       |
| G8                            | 275 ± 217     | 404 ± 188     | 0,59 ± 25         |
| G9                            | 263 ± 177     | 532 ± 366     | 0,49 ± 0,19       |
| G10                           | 311 ± 180     | 493 ± 261     | 0,61 ± 0,19       |
| kruskal-wallis test sonuçları | P < 0,0001    | P < 0,0001    | P < 0,0001        |

**Tablo 6: Connover testi (ikili karşılaştırma): Karaciğer Enzimleri Bakımından İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | (ALT)          | (AST)            | (ALT/AST)      |
|------|----------------|------------------|----------------|
| G1   | 2,3,4,5,8,9,10 | 2,3,4,5,7,8,9,10 | 3,4,5,8,9,10   |
| G2   | 3,4,5,6,8,9,10 | 3,4,5,6,8,9,10   | 3,4,5,6,8,9,10 |
| G3   | 4,5,6,7        | 4,5,6,7          | 4,6,7          |
| G4   | 6,7,8,9,10     | 6,7              | 6,7,8,9,10     |
| G5   | 6,7,8,9,10     | 6,7,8,10         | 6,7,9          |
| G6   | 8,9,10         | 8,9,10           | 8,9,10         |
| G7   | 8,9,10         | 8,9,10           | 8,9,10         |

**Tablo 7: Mitoz Figürlerinin İstatiksel Dağılımı**

|                               | GRUP 1     | GRUP 2     | GRUP 3     | GRUP 4     | GRUP 5      | GRUP 6    | GRUP 7     | GRUP 8     | GRUP 9     | GRUP 10    |
|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| <b>MİTOZ<br/>X ± SD</b>       | 0,87± 0,83 | 0,37± 0,51 | 4,12± 5,02 | 7,50± 6,56 | 12,06± 7,99 | 0 ± 0     | 0,37± 0,51 | 2,62± 1,99 | 7,25± 6,54 | 3,75± 5,44 |
| Kruskal-wallis test sonuçları | P< 0,0001  | P< 0,0001  | P< 0,0001  | P< 0,0001  | P< 0,0001   | P< 0,0001 | P< 0,0001  | P< 0,0001  | P< 0,0001  | P< 0,0001  |

**Tablo 8: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Mitoz Figürleri Bakımından Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | MİTOZ          |
|------|----------------|
| G1   | 3,4,5,6,8,9,10 |
| G2   | 3,4,5,8,9,10   |
| G3   | 4,5,6,7        |
| G4   | 6,7,8,10       |
| G5   | 6,7,8,10       |
| G6   | 8,9,10         |
| G7   | 8,9,10         |
| G8   | 9              |
| G9   | 10             |

**Tablo 9: Hepatositlerde Glikojen Kaybının İstatiksel Dağılımı**

|             |                        |
|-------------|------------------------|
| G2          | 0,12 ± 0,35            |
| <b>GRUP</b> | <b>GLİKOJEN KAYIBI</b> |
|             | 2,25 ± 0,70            |
|             | <b>X ± SD</b>          |
| G4          | 2,0 ± 0,75             |
| G1          | 0 ± 0                  |

|                               |                 |
|-------------------------------|-----------------|
| G5                            | $1,87 \pm 0,64$ |
| G6                            | $0 \pm 0$       |
| G7                            | $0,25 \pm 0,46$ |
| G8                            | $2,66 \pm 0,50$ |
| G9                            | $1,75 \pm 0,70$ |
| G10                           | $1,87 \pm 0,64$ |
| kruskal-wallis test sonuçları | $P < 0,0001$    |

**Tablo 10: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Glikojen Kaybı Bakımından İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | GLİKOJEN KAYBI |
|------|----------------|
| G1   | 3,4,5,8,9,10   |
| G2   | 3,4,5,8,9,10   |
| G3   | 6,7            |
| G4   | 6,7,8          |
| G5   | 6,7,8,10       |
| G6   | 8,9,10         |
| G7   | 8,9,10         |
| G8   | 9, 10          |

**Tablo 11: Sıçanların Ağırlıklarının İstatistiksel Değişimi**

| GRUP | İLK GÜN | 5. GÜN | AĞIRLIK | KARACİĞER |
|------|---------|--------|---------|-----------|
|------|---------|--------|---------|-----------|

|                               | <b>X ± SD</b> | <b>X ± SD</b> | <b>DEĞİŞİMİ</b> | <b>AĞIRLIK</b> |
|-------------------------------|---------------|---------------|-----------------|----------------|
|                               | <b>X ± SD</b> | <b>X ± SD</b> | <b>X ± SD</b>   | <b>X ± SD</b>  |
| G1                            | 189,6 ± 15,05 | 201,6 ± 16,67 | 12 ± 6,04       | 10 ± 1,09      |
| G2                            | 176 ± 6,49    | 186 ± 8,76    | 10,3 ± 4,83     | 9,9 ± 0,69     |
| G3                            | 185 ± 8,12    | 175 ± 6,27    | -9,62 ± 7       | 10,8 ± 0,62    |
| G4                            | 170 ± 15,7    | 157 ± 16,28   | -12,7 ± 2,49    | 11,33 ± 0,67   |
| G5                            | 170 ± 8,62    | 157 ± 8,17    | -13,12 ± 7,86   | 11,17 ± 0,56   |
| kruskal-wallis test sonuçları | P < 0,0001    | P < 0,0001    | P < 0,0001      | P < 0,0001     |

**Tablo 12: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hayvan Ağırlıkları Bakımından İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

| <b>GRUP</b> | <b>İLK GÜN</b> | <b>5. GÜN</b> | <b>AĞIRLIK DEĞİŞİMİ</b> | <b>KARACİĞER AĞIRLIK</b> |
|-------------|----------------|---------------|-------------------------|--------------------------|
| G1          | 2,4,5          | 3,4,5         | 3,4,5                   | 4,5                      |
| G2          | 3              | 3,4,5         | 3,4,5                   | 3,4,5                    |
| G3          | 4,5            | 4,5           |                         |                          |

**Tablo 13: Sıçanların Ağırlıklarının İstatistiksel Değişimi (kronik)**

| <b>GRUP</b> | <b>İLK GÜN</b> | <b>21. GÜN</b> | <b>AĞIRLIK DEĞİŞİMİ</b> | <b>KARACİĞER AĞIRLIK</b> |
|-------------|----------------|----------------|-------------------------|--------------------------|
|             | <b>X ± SD</b>  | <b>X ± SD</b>  | <b>X ± SD</b>           | <b>X ± SD</b>            |
| G6          | 163± 10,76     | 160 ± 23,96    | -2,75± 2,56             | 9,68± 0,57               |
| G7          | 174± 5,72      | 199 ± 29,19    | 24,7 ± 24,27            | 11,62 ± 0,34             |
| G8          | 177± 7,07      | 162 ± 4,79     | -14,6 ± 6,23            | 11,5 ± 0,20              |
| G9          | 199 ± 14,34    | 179 ± 6,16     | -19,8± 13,86            | 11,66 ± 0,32             |
| G10         | 176 ± 7,78     | 160 ± 8,56     | -16,37 ± 6,92           | 11,12 ± 0,39             |

|                               |            |            |            |            |
|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| kruskal-wallis test sonuçları | P < 0,0001 | P < 0,0001 | P < 0,0001 | P < 0,0001 |
|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|

**Tablo 14: Connover Testi (ikili karşılaştırma): Hayvan Ağırlıkları Bakımından İstatistiksel Olarak Farklı Olan Gruplar**

| GRUP | İLK GÜN  | 21.GÜN | AĞIRLIK DEĞİŞİMİ | KARACİĞER AĞIRLIK |
|------|----------|--------|------------------|-------------------|
| G6   | 7,8,9,10 | 7,9    | 7,8,9,10         | 7,8,9,10          |
| G7   | 9        | 8,1    | 8,9,10           | 10                |
| G8   | 9        | 9      |                  | 10                |
| G9   | 10       | 10     |                  | 10                |

## 5. TARTIŞMA

Karaciğer, anatomik lokalizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarından dolayı toksik maddelere en fazla maruz kalan organlardan biridir. Karaciğerde çeşitli patolojik değişikliklere yol açan çok sayıdaki kimyasaldan birisi de karbontetraklorür' dür (77).

Karbontetraklorür sindirim kanalından emilip dolaşıma geçtikten sonra, vücudu akciğer, böbrekler ve özellikle safra yolu ile terk eder.  $CCl_4$  ile deneysel olarak oluşturulan intoksikasyondan birçok organ ve sistem doğrudan ya da dolaylı bir şekilde etkilenmektedir. Karbontetraklorür, yüksek dozlarda kullanıldığında karaciğerde birikir. Karbontetraklorür birikimine bağlı hepatosit dejenerasyonu sonucunda karaciğerin görevlerinin büyük kısmında aksamalar oluşur ve bu durum ise klinik semptomlar verir (78).

Karaciğer yağlanması, hangi nedenlere bağlı olursa olsun lipidlerin karaciğer ağırlığının % 5' inden fazlasını oluşturması veya histopatolojik incelemede hepatositlerin % 5' inden daha fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi olarak tanımlanır (1- 4). Karbontetraklorür, deneysel karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir (12- 15). Karbontetraklorür, mitokondriyal monooksijenaz (P450-2E1) sistemi tarafından metabolize edilerek triklorometil ( $CCl_3$ ) serbest radikali oluşuktan sonra sekonder olarak lipid yıkıcı enzimler, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapıların oluşmasına neden olur (12- 14, 17, 18). Oluşan bu serbest radikaller hücresel membranlardaki fosfolipidlerde bulunan yağ asitlerinde peroksidasyonu oluşturarak hücre harabiyetine yol açarlar. Sonuçta hem hücre membran yapısı hem de hücre içi organel membran yapıları bozulur (12, 13, 19). Karbontetraklorüre bağlı karaciğer hasarında meydana gelen lipid peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreçte karaciğerde yağlanma, fibrozis hatta siroz oluşabilir (12, 13). Karbontetraklorürün hepatotoksik etkisi, reaktif ara ürünlerinin metabolik aktivasyonu ve lipid peroksidasyonundaki artışa bağlıdır (19, 79). Serbest radikallerin hem in vivo hem de in vitro ortamlarda protein, lipid ve karbonhidratları ayrıca DNA yapısını bozduğu gösterilmiştir. Serbest radikallerin miktarı endojen antioksidan sistemin kapasitesini aştığında önemli hücresel hasarlar meydana geldiği bilinmektedir. Karbontetraklorüre bağlı

gelişen karaciğer hasarında protein sentezinde inhibisyon, yağ birikimi, apoptosiz ve fibrozis oluşur (79). Bu çalışmada da steatoz, nekroz, infiltrasyon ve hepatik fibrozis oluşturulmasında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda 4 ve 20 günlük CCl<sub>4</sub> uygulanması sonrası akut ve kronik karaciğer toksisitesine ait literatürlerde bildirilen hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis gibi major hasar bulgularının hemen hepsi değişik derecelerde gözlemlendi. Bu çalışmada hepatositlerdeki histopatolojik değişiklikler, klasik karaciğer lobüllerinin merkezinde- vena sentralis çevresinde ve yer yer de subkapsüler bölgelerde daha belirgindi.

Kronik CCl<sub>4</sub> toksitesi oluşturduğumuz gruptaki sıçanların batınları açıldığında karaciğerlerindeki yağlanma makroskopik olarak da karaciğer yüzeyinde yağ dokusu birikimi şeklinde rahatlıkla görülebilmekteydi. Akut CCl<sub>4</sub> toksitesi oluşturduğumuz grupta ise makroskopik yağlanma bulguları izlenmedi. Ancak akut karbontetraklorür uygulaması yapılan karaciğer kesitlerinde, mikroskopik olarak özellikle lobüllerin merkezi kısımlarında, santral ven çevresinde yerleşik hepatositlerde yoğun olarak sitoplazmik yağ vakuelleri saptadık. Ayrıca yer yer tüm parankimal alanlardaki hepatositlerde sitoplazmik vaküller mevcuttu. Kronik karbontetraklorür uygulaması ile karaciğer hasarı oluşturduğumuz sıçanların karaciğer kesitlerinde de benzer bulgular izlenmekle birlikte yağlanma alanlarının genişliği ve yağlanma derecesinin daha da artmış olduğunu tespit ettik. Akut ve kronik karaciğer hasarı oluşturulan her iki grupta da hepatositlerdeki yağlanmanın karakterizasyonu benzer olmakla birlikte akut toksite oluşturulan gruptaki sıçanların hepatositlerinde daha çok multiveziküler yağlanma, kronik toksite oluşturulan gruptaki sıçanların hepatositlerinde ise ağırlıklı olarak univeziküler tipte yağlanma olduğunu belirledik. Elektron mikroskopik incelemede ise hem akut hem de kronik CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçanların karaciğer kesitlerinde hepatositlerin sitoplazmasında lipid içeren ve hidropik vakuoller mevcuttu. Bu gruptaki vakuolleşme bulguları literatür bilgileri ile uyumlu olarak değerlendirildi. Tespit ettiğimiz histopatolojik bulgular içerisinde yağlanma ve hepatositlerin sitoplazmasındaki vakuolizasyon özellikle ön planda idi. Karbontetraklorürün karaciğer hücrelerinde sentezlenen trigliseridin kana geçişini yavaşlattığı ve bu maddenin hücrelerde biriktiği, böylece sitoplazma içerisinde yağ vakuollerinin oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir. Bunu lipoproteinlerin yapısındaki apoprotein sentezini ve çok düşük dansiteli lipoproteinlerin şekillenmesini ve salınımını

azaltarak gerçekleştirmektedir (78). Fan ve ark. farelerde  $CCl_4$  ile oluşturdukları akut karaciğer hasarında resveratrolün hepatositlerde yağ vakuolizasyonunu azalttığını bildirmişlerdir (23). Yine Bujanda ve ark. hepatik steatosizin resveratrol tedavisi ile önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir (20). Biz de çalışmamızda akut ve kronik  $CCl_4$  uyguladığımız gruplardaki (grup 3 ve grup 8) sıçanların karaciğer kesitlerinde, hepatositlerde belirgin ve yaygın vakuolizasyon saptadık. Hepatositlerdeki vakuolizasyonun kronik  $CCl_4$  uygulanan grupta akut  $CCl_4$  uygulanan gruptakine göre istatistiksel olarak da anlamlı düzeyde artmış olduğunu belirledik. Akut ve kronik  $CCl_4$  uygulaması ile hepatositlerde meydana gelen vakuolizasyon üzerine uzun ve kısa süreli melatonin ve resveratrol uygulamalarının vakuolizasyonu azaltıcı etkilerinin olduğunu belirledik ( $p < 0,0001$  grup 3 - 4, grup 3 - 5), ( $p < 0,0001$  grup 8 - 9, grup 8 - 10), (Tablo:1).

Karaciğer fibrozu, ekstrasellüler matriks komponentlerinin artması ile karakterize, dinamik bir süreçtir. Ekstrasellüler matriks yapımı ve yıkımı arasındaki denge; oluşan toksik oksijen radikallerine bağlı olarak potent profibrojenik mediatörlerin de aktive olması ile sürekli matriks yapımı yönünde bozulmaktadır (12, 34). Sağlıklı bir karaciğerdeki hepatosit kordonlarını oluşturan hepatositler ile sinuzoid endotel hücreleri arasında Disse aralığı denilen mikroskobik dar bir alan mevcuttur. Karaciğerin hasarlanması durumunda Disse aralığındaki kollajen ve fibronektin miktarı aşırı dercede artar ve sinuzoid endoteli ile hepatositler arasındaki bu alanı doldurur. Disse aralığının kollajen ile dolması sinuzoid lümenindeki kan ile hepatositler arasındaki madde alışverişini engelleyerek hepatositlerin fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Bu subendotelial kollajen birikimi farklı nedenlere bağlı olan birçok karaciğer hastalığı ile karakterize bir durumdur. Bu nedenle hepatik fibrozisin asıl nedeni Ito hücre aktivasyonu olarak görülmektedir (80- 83). Karaciğer parankiminde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da oluşur. Ancak organda oluşan hasar sürekli ve tekrarlanırsa hücre yenilenmesinden daha fazla bağ dokusu artışı olur. Bağ dokusundaki bu artış karaciğer yapısında bozukluklara neden olur. Yapılmış olan birçok çalışmada karaciğer hastalıklarında oksidatif stres ve buna bağlı olarak gelişen karaciğer hasarı ile fibrozis arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (12, 34). Karbontetraklorür toksikasyonu ile oluşan karaciğer hasarında hepatositlerden tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), transforming growth faktör- (TGF-  $\beta$ ) ve interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) salgılanır. Bu sitokinlerin varlığındaki artış Kupffer hücreleri ve hepatik stellat hücreleri (Ito hücreleri) aktive eder. Kupffer hücreleri

aktivasyonu sonucunda artan  $\text{TNF-}\alpha$ , ortamdaki zararlı sitokinlerin seviyelerinin yükselmesine neden olur. Artan zararlı sitokin seviyeleri de karaciğerde hepatosit ve endotelial hücre hasarını başlatır. Son yıllarda, karaciğerdeki fibrotik değişikliklerin oluşumunda özellikle Ito hücreleri sorumlu tutulmaktadır (80- 83). Hong ve ark.  $\text{CCl}_4$  ile oluşturulan karaciğer hasarında hepatik fibrozisin melatonin uygulaması ile azaldığını göstermişlerdir (34). Başka bir çalışmada Çınar ve ark. akut  $\text{CCl}_4$  intoksikasyonu sonucu karaciğerde sentrilobüler bölgedeki hepatositlerde karyoreksiz ve nekroz, kronik  $\text{CCl}_4$  intoksikasyonunda ise vena sentralislerin çevresinde belirgin bağ dokusu artışının olduğu ve bu bağ dokunun komşu vena sentralisler arasında uzanarak septumlar oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada kronik  $\text{CCl}_4$  intoksikasyonu oluşturdukları grupta ise vena sentralislerin çevresinde belirgin bağ dokusu artışının olduğu ve bu bağ dokunun komşu vena sentralisler arasında uzanarak septumlar oluşturduğunu rapor etmişlerdir (16). Wang ve ark. ratlarda melatonin uygulamasının  $\text{CCl}_4$  toksikasyonunun oluşan karaciğer fibrozisini azalttığını göstermişlerdir (84). Yapılmış çalışmalarda  $\text{CCl}_4$  uygulanmış ratlarda oksidatif stres ve karaciğer Kupffer hücrelerinin inaktivasyonunun karaciğer fibrozisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (85). Tahan ve ark. 14- d dimetilnitrozamin kaynaklı karaciğer fibrozisinde melatoninin etkili olduğunu rapor etmişlerdir (37). Biz de çalışmamızda akut  $\text{CCl}_4$  uyguladığımız Grup 3' deki sıçanların Masson trikrom ile boyanan karaciğer kesitlerinde minimal düzeyde fibrozis oluştuğunu saptadık. Grup 3' de oluşturduğumuz fibrozis bulguları üzerine melatonin ve resveratrolün düzeltici etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede olmadığını gördük ( $p<0,0001$  grup 3 - 4, grup 3 - 5). Kronik  $\text{CCl}_4$  uyguladığımız grup 8 deki sıçanların karaciğer kesitlerinde özellikle karaciğer lobüllerinin merkezindeki santral ven çevresinde ve yer yer Glisson kapsülünde belirgin fibrotik değişiklikler saptadık ( $p<0,0001$  grup 8 - 9, grup 8 - 10). Kronik  $\text{CCl}_4$  hasarı oluşturduğumuz sıçanların karaciğerlerindeki fibrozis hasarı üzerine uzun süreli melatonin ve resveratrol uygulamalarının belirgin düzeltici etkileri olduğunu tespit ettik. Resveratrol grubunda istatistiksel olarak fark olmamakla birlikte karaciğer fibrozis skorunun melatonine göre daha düşük olduğu görüldü (Tablo:1). Obez kişilerde inflamatuvar değişiklikler ve fibrozisin hepatik makroveziküler steatoz ile birlikteliği bilinmektedir. Alkol hikayesi olmayan obez ve diyabetiklerin karaciğer biyopsilerinde makroveziküler yağlanma, karışık tipte inflamatuvar infiltrasyonu ve Mallory cisimciği ile birlikte fokal nekroz gibi histopatolojik özellikler tanımlamışlardır (86, 87).

Karaciğer yağlanması önemli bulgulardan birisi de inflamatuvar hücre infiltrasyonudur. Steatohepatitte inflamasyon tipik olarak hafif seyreder ve portal alandan çok lobüler tutulum gösterir. Lobüler inflamasyon, karma tipte inflamatuvar hücre (mononuklear ve polimorfonuklear lökosit) infiltrasyonu ile karakterizedir. Lobüler inflamasyondaki nötrofil hücreler steatohepatit için karakteristiktir. Portal infiltrasyon yer yer görülür ve mononukleer hücrelerden oluşur (87). Çalışmamızda akut ve kronik CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçanların karaciğer kesitlerinde özellikle vakuolizasyonun yoğun olduğu karaciğer parankimi alanlarında minimal ve orta düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgindi. Çoklu etki mekanizmasına sahip olan melatonin, en önemli özelliklerinden biri anti-inflamatuvar etki gösterebilmesidir. Güçlü anti-oksidan moleküllerden olan melatonin ve resveratrol, toksik serbest radikalleri ortamdan temizlemeleri sayesinde, organlarda meydana gelen hasarın azaltılmasına yardımcı olabilmektedirler. Aynı zamanda proinflamatuvar sitokinlerin etkisini engelleyebildikleri de belirtilmiştir. Melatonin, transendotelial hücre göçünü ve ödemi azaltabilmekte, dolayısıyla adezyon moleküllerinin üretiminin durdurulmasına yardımcı olabilmektedir (88- 90).

Çalışmamızda kısa ve uzun süreli melatonin ve resveratrol uygulamalarının CCl<sub>4</sub>' ün karaciğerde oluşturduğu inflamasyonu belirgin dercede azalttığı görülmüştür. (Tablo 1). Karaciğer yağlanması hepatosit hasarı genellikle balonlaşma dejenerasyonu ve asidofilik dejenerasyon şeklinde iki farklı morfolojik bulgu ile sonuçlanmaktadır. Balonlaşma dejenerasyonu, intrasellüler ödem sonucu oluşur ve şişmiş hepatositlerle karakterizedir. Asidofilik cisimcikler ise hepatositlerin apoptozu sonucu oluşur ve eozinofilik sitoplazmik parçacıklar olarak gözlenir (91). Bir çalışmada resveratrolün apoptozis ve nekrozis hücre markırlarının aktivasyonunu sınırladığı gösterilmiştir (21). Bucker ve arkadaşları CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanların karaciğerlerinde sentrilobüler hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, buzlu cam görüntüsü, nukleuslarda pleomorfizm ve seyrek olarak nekrotik hücreler gözlemişlerdir (92). Başka bir çalışmada Çınar ve ark. CCl<sub>4</sub> intoksikasyonu sonucu karaciğerde sentrolobüler bölgedeki hepatositlerde karyoreksis ve nekroz tespit etmişlerdir (16). Bayram ve ark. CCl<sub>4</sub> uygulanmış sıçanların karaciğerinde özellikle sentrilobüler bölgelerdeki hepatositlerde belirgin balon dejenerasyonu, sık asidofilik sitoplazma dejenerasyonu (tek hücre nekrozu), köprüleşme nekrozları ve mitoz gözlediklerini rapor etmişlerdir (79). Apoptozun moleküler

mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hücredeki apoptotik yolların çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başlamaktadır. Ayrıca apoptoz mekanizması, uyarana ve hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Apoptozu etkileyen uyarıların bazıları şu şekilde sıralanabilir: Büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör (TNF), TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor- beta), Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpresör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar ve glukokortikoidler gibi. Apoptoz, hücrede, büzüşme, hacim küçülmesi ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Hücresel büzüşmenin nedeni, Na, K, Cl taşıyıcı sisteminin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır. Apoptotik uyarı alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur (93- 96). Çalışmamızda akut ve kronik CCl<sub>4</sub> toksitesini oluşturduğumuz sıçanların H&E ve Masson trikrom ile boyanan karaciğerler kesitlerinde yer yer piknotik nükleuslu ve asidofilik sitoplazmalı, çevre hücre bağlantılarını kaybetmiş değişik büyüklükte apoptotik cisimcikler ve eozinofilik sitoplazmalı hepatositler mevcuttu. Elektron mikroskopik incelemede ise yer yer heterokromatik ve sınırları düzensiz nükleuslar içeren hepatositler tespit ettik. (Resim 17, 21, 22, 61). Kısa ve uzun süreli melatonin ve resveratrol uyguladığımız gruplarda apoptotik cisimciklerin ve eozinofilik sitoplazmalı hepatositlerin belirgin şekilde azalmıştı. Zavodnik ve ark. sıçanlarda CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerine melatonin uygulanması ile bozulmuş hepatositlerin, hepatik lobüllerin periferik alanlarında sınırlandığını, nekrotik değişikliklerin azaldığını, hatta bazı alanlarda sadece birkaç nekrotik hücrenin görüldüğünü vurgulamışlardır (30). Çalışmamızda akut ve kronik CCl<sub>4</sub> uygulanmasıyla oluşturulan karaciğer hasarındaki hepatosit nekrozunun düzeltilmesi yönünde kısa ve uzun süreli melatonin ve resveratrol uygulaması ile başarılı sonuçlar elde ettik. Akut ve kronik CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplardaki sıçanların karaciğerlerindeki inflamasyon ve nekroz skorlarının uzun ve kısa süreli melatonin ve resveratrol uygulaması ile belirgin derecede azaldığını saptadık ( $p < 0,0001$  grup 3 - 4, grup 3 - 5), ( $p < 0,0001$  grup 8 - 9, grup 8 - 10), (Tablo:1).

Toksik maddeler ve ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkan süreç karaciğer hasarında oldukça önemlidir. Bu süreçte özellikle serbest oksijen radikalleri ve artmış hidrojen peroksit gibi prooksidan yapılar ile birlikte profibrojenik yapıları bazı mediatörler de hasarı

artırır. Bu bakımdan hücrel oksijenaz, NADPH oksidaz veya hücrel antioksidanları aktive etmek yoluyla veya antioksidan enzimlerin aktivasyonu ile oksidatif hasarın engellenmesi şarttır (12). Bu yüzden toksik karaciğer hasarını önleme ve düzeltme açısından antioksidan özelliklere sahip melatonin ve resveratrol gibi bileşiklerin kullanılması önemlidir. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) hepatosellüler hasarın en önemli belirteçleri ve onların serumdaki artışı karaciğerde hücre membranlarının fonksiyon bozukluklarına işaret ederler. Park ve ark. farelerde  $\text{CCl}_4$  indüklenen akut hepatik hasarda  $\text{CCl}_4$  uygulamasından hemen 24 saat sonra serum ALT ve AST seviyelerinin arttığını göstermişlerdir (14). Yine Zavodnik ve ark. hepatosit plazma membranlarının hasarından dolayı plazmada artan ALT ve AST gibi hepatik enzimlerin ortalama iki kat arttığını ancak melatonin enjeksiyonundan sonra plazmada ALT ve AST seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir (30). Fan ve ark. farelerde  $\text{CCl}_4$  ile indüklenen akut karaciğer hasarında resveratrolün ALT ve AST seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir (23). Çalışmamızda akut ve kronik  $\text{CCl}_4$  uygulaması ile karaciğer hasarı oluşturduğumuz gruplarda lipid peroksidasyonuna bağlı karaciğer hasarı sonucu karaciğer enzimlerinden ALT ve AST düzeylerinin anlamlı olarak arttığını belirledik. Karaciğerdeki bu ALT ve AST artışının melatonin ve resveratrol uyguladığımız gruplardaki sıçanların kan serumlarında istatistiksel olarak anlamlı azalışın olmadığı görülmüştür. Bu durum, melatonin ve resveratrol gruplarındaki histolojik değişikliklerin  $\text{CCl}_4$  gruplarına göre daha az olması ya da kontrol gruplarına yakın olmasına rağmen biyokimyasal verilerin belirgin düzelmemesi, tablonun kliniğe geç yansımından kaynaklanabilir. Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres, birçok patolojik durumda çıkmaktadır. Oksidatif stres durumunda ortaya çıkan serbest radikaller, fizyolojik olan ve olmayan birçok süreçte oluşmakta ve oksijenin hem süperoksit ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksi ( $\text{HO}\cdot$ ), hidroperoksi ( $\text{HO}_2\cdot$ ), peroksi ( $\text{ROO}\cdot$ ), alkoksi ( $\text{RO}\cdot$ ) gibi radikal türevlerini hem de singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), ozon ( $\text{O}_3$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hipoklorik asit ( $\text{HOCl}$ ), nitrik oksit ( $\text{NO}\cdot$ ) ve peroksinitrit ( $\text{ONOO}\cdot$ ) gibi radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır (97, 98).

Bizim çalışmamızda da hem akut hem de kronik  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruplardaki sıçanların karaciğer dokularındaki azalmış olan katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH) gibi antioksidan sistem enzimlerinin aktiviteleri, kısa ve uzun süreli melatonin ve resveratrol uygulanan gruplarda

belirgin şekilde artmıştır. Wang ve ark. sıçanlarda  $\text{CCl}_4$  ile oluşturulan karaciğer hasarında azalmış olan SOD ve GPx enzim aktivitelerinde, melatonin uygulaması sonrasında artış olduğunu göstermişlerdir (84). Glutasyon, serbest radikallere karşı ilk savunma basamağını oluşturur ve oksidatif hasar veya kimyasal reaktif toksik bileşiklere karşı hücrel savunmada önemli bir moleküldür. Özellikle de ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu için gereklidir (32). Eğer GSH miktarı azalırse karaciğer nekrozu başlar. Önceki çalışmalarda da  $\text{CCl}_4$  kaynaklı hepatositlerde GSH' ın,  $\text{CCl}_4$ ' e ait reaktif toksik metabolitlerinin detoksifikasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (14). Katalaz, hidrojen peroksiti ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), su ( $\text{H}_2\text{O}$ ) ve oksijene ( $\text{O}_2$ ) parçalayan oksidoredüktaz enzimdir (22). Melatonin ve resveratrol CAT ve GPx aktivasyonunu artırarak serbest radikal hasarını azaltırlar (33, 34). Malondialdehit (MDA), hücrel membran sistemlerinde lipid peroksidasyonun ana ürünüdür. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak hızlıca hücrel yapılara ulaşan ozon oluşumuna neden olur ve membran denatürasyonu ve peroksidasyona yol açan hidrojen peroksid ve reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasına yol açar. Ayrıca kollajen üreten stellate (Ito hücreleri) hücreleri aktive ederek fibrozisde rol oynar (34). Oksidatif stres çalışmalarında, organizmada serbest radikal üretimi artışının belirlenmesi için lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA konsantrasyonu sıklıkla ölçülmektedir. Lipid peroksidasyonu, hücre içi zar fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olması sonucunda zarların lipid yapısını değiştirerek hücre ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır. Bu olaya neden olan serbest oksijen radikalleri normal metabolizmanın ürünü olarak oluşabildikleri gibi; organizmanın, toksik ajanlara maruz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilirler (99- 101). Karbontetraklorür kaynaklı karaciğer hasarında resveratrolün antihepatotoksik etkisi ile MDA seviyesinde azalış ve GSH seviyesinde artış olmaktadır. Dani ve ark. oral verilen resveratrol içeren üzüm suyunun kronik  $\text{CCl}_4$  kaynaklı hasarda protein oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu azalttığını bildirmişlerdir (29). Bujanda ve ark. yaptığı çalışmada MDA seviyesinin resveratrol grubunda steatoz grubuna göre daha az olduğunu göstermişlerdir (20).

Çalışmamızda  $\text{CCl}_4$  toksisitesi artmış oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesini belirgin şekilde arttırmıştır. Buna karşılık güçlü antioksidan özellikleri iyi bilinen moleküller olan melatonin ve resveratrolün karaciğerdeki antioksidan enzimlerin aktivitelerini belirgin şekilde arttırıcı yönde etki ettiğini belirledik. Bu nedenle toksik karaciğer hasarında önemli etkiye sahip oksidatif stresin azaltılması ve

total antioksidan kapasitenin arttırılmasında melatonin ve resveratrolün kullanımının yararlı olabileceği düşüncesindeyiz. Sindirim sistemi ile karbonhidratlar monosakkaritlere kadar parçalanarak, gerektiğinde glukoz şeklinde kana verilmek üzere glikojen şeklinde hepatositlerde depolanır. Glikojen hepatositlerin sitoplazmasında granüler formda bulunur ve PAS boyanması ile ışık mikroskopik olarak belirlenebilir. Ultrastrüktürel olarak da rozet formundaki granüller şeklinde görülür (57). Erdoğan ve ark. CCl<sub>4</sub> ile oluşturdukları karaciğer hasarında hepatositlerdeki glikojen miktarındaki azalmayı bildirmişlerdir (19). Biz de çalışmamızda akut ve kronik CCl<sub>4</sub> toksitesisi oluşturduğumuz sıçanların PAS boyanan karaciğer kesitlerinde özellikle zon 3' de yerleşik hepatositlerde ileri düzeyde glikojen kaybı belirledik. Melatonin ve resveratrol uygulamalarının bu glikojen kaybını bir dereceye kadar engellediğini saptadık (Tablo:9).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sıçanlarda akut ve kronik karbontetraklorür uygulaması ile oluşturulan karaciğer toksititesi üzerine resveratrol ve melatoninin karaciğeri koruyucu ve karaciğer hasarını azaltıcı etkinliğinin olup olmadığı ışık mikroskopik, elektron mikroskopik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda resveratrol ve melatoninin karaciğer toksititesinin histolojik ve biyokimyasal bulgularını önemli derecede düzeltici etkinliği olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. Bundan sonraki aşamalarda resveratrol ve melatoninin etki mekanizmalarının ve etkin dozlarının tam olarak belirlenmesi yönünde çalışmalar yapılması uygun olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Sonsuz A. 2007. Nonalkolik Karaciğer Yağlanması. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi No:58 1 Kasım 2007; s. 91-98.
2. Çolak Y, Tuncer İ, 2010, Nonalcoholic Fatty liver Disease and Steatohepatitis, J Ist Faculty Med; 73:3.
3. Sonsuz A, Baysal B, 2011. Karaciğer Yağlanması ve Non Alkolik Steatohepatit. Güncel Gastroenteroloji. haziran.15/2
4. Farrell GC, Larter CZ. 2006. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. Hepatology. Feb;43(2 Suppl 1):S99-S112.
5. Işık A.T, Mas M.R, Cömert B, Ünal M.T, 2005. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığında Klinik Tanı ve Tedavi. Güncel Gastroenteroloji. Sayı: 9/1 | Mart 2005 naflıd 9
6. P Paschos and K Paletas. 2009. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. Hippokratia. Jan-Mar; 13(1): 9–19.
7. Ma T, Huang C, Zong G, Zha D, Meng X, Li J, Tang W. 2011 Hepatoprotective effects of geniposide in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. J Pharm Pharmacol, Apr;63(4):587-93.
8. Angulo P. 2007. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. Aliment Pharmacol Ther. Apr 15;25(8):883-9
9. Schwimmer J.B., Behling C., Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork N.J. Lavine J.E. 2005. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology; 42:641-649
10. Çelebi S, Ataseven H, Mengüçük E, Deveci S.E, Açık Y, BAHÇECİOĞLU İ.H, 2006. Epidemiologic features of nonalcoholic fatty liver in urban community of Elazığ. AKADEMİK GASTROENTEROLOJİ DERGİSİ; 5 (1): 41-46
11. Cankurtaran M, Arslan S. 2002. Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında radyolojik ve patolojik özellikler Güncel Gastroenteroloji. Sayı: 6/2 | Haziran
12. B. Üstündağ, İ.H.Bahçecioğlu, K. Şahin, F. Gülcü, S.Düzgün, İ.H.Özercan, MF Gürsu. 2005. Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCL<sub>4</sub>) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. Fırat üniversitesi sağlık bil. Dergisi, 19(4), 263-271.

13. Kuzu N, Metin K, Dagli AF, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M, Ozercan IH, Sahin K, Bahcecioglu IH. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:36381
14. Park SW, Lee CH, Kim YS, Kang SS, Jeon SJ, Son KH, Lee SM. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *J Pharmacol Sci.* 2008 Jan;106(1):136-43. Epub 2008 Jan 11.
15. Mukai T, Mera K, Nishida K, Nakashima M, Sasaki H, Nakamura J. Pharmacokinetics of phenol red in rat models of liver damage prepared by liver targeting of carbon tetrachloride. *Biol Pharm Bull.* 2004 Apr;27(4):595-7.
16. Çınar A, Yörük M, Meral I, Kılıçalp D, Koç A, Ertekin A. 1999. Karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan Akut ve kronik intoksikasyonun karacigerin histolojik yapısına, bazı hematolojik değerlere ve elektrokardiyogram üzerine etkileri. *J Vet Anim Sci*;23:235-42.
17. Tasduq SA, Kaiser PJ, Gupta BD, Gupta VK, Johri RK. Negundoside, an irridiod glycoside from leaves of *Vitex negundo*, protects human liver cells against calcium-mediated toxicity induced by carbon tetrachloride. *World J Gastroenterol.* 2008 Jun 21;14(23):3693-709.
18. Quan J, Piao L, Xu H, Li T, Yin X. Protective effect of iridoid glucosides from *Boschniakia rossica* on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009 Apr 23;73(4):849-54.
19. E. Erdoğan, A. Kaya, M.Ç. Rağbetli, H. Özbek, N. Cengiz. 2004. Anason (*Pimpinella anisum*) Ekstresinin Deneysel Akut Karaciğer Hasarında Karaciğer Koruyucu Etkisi Var mı?. *Van Tıp Dergisi*: 11 (3): 69-74.
20. Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M, Aldazabal P, García-Urkia N, Sarasqueta C, Cosme A, Irastorza B, González A, Arenas JJ Jr. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterol.* 2008 Sep 9;8:40.
21. Plin C, Tillement JP, Berdeaux A, Morin D. Resveratrol protects against cold ischemia-warm reoxygenation-induced damages to mitochondria and cells in rat liver. *Eur J Pharmacol.* 2005 Dec 28;528(1-3):162-8.
22. Gedik E, Girgin S, Ozturk H, Obay BD, Ozturk H, Buyukbayram H. Resveratrol attenuates oxidative stress and histological alterations induced by liver ischemia/reperfusion in rats. *World J Gastroenterol.* 2008. Dec 14;14(46):7101-6.

23. Fan G, Tang JJ, Bhadauria M, Nirala SK, Dai F, Zhou B, Li Y, Liu ZL. Resveratrol ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2009 Nov;28(3):350.
24. Lu R, Serrero G. Resveratrol, a natural product derived from grape, exhibits antiestrogenic activity and inhibits the growth of human breast cancer cells. *J Cell Physiol*. 1999 Jun;179(3):297-304.
25. Karabulut A. Resveratrol ve Etkileri. *Türkiye klinikleri J Med Sci* 2008;28.
26. Shakibaei M, Harikumar KB, Aggarwal BB. Resveratrol addiction: to die or not to die. *Mol Nutr Food Res*. 2009 Jan;53(1):115-28.
27. Sayın O, Arslan N, Güner G. Resveratrol ve Kardiyovasküler Sistem. *Türk J Biochem* 2008; 33 (3); 117-121.
28. İnanç N, Tuna Ş. Fitoöstrojenler ve Sağlıktaki Etkileri. *J Fac Vet Med Univ Erciyes* 2(2) 91-95, 2005.
29. Bishayee A, Darvesh AS, Politis T, McGory R. Resveratrol and liver disease: from bench to bedside and community. *Liver Int*. 2010 Sep;30(8):1103-14.
30. Zavodnik LB, Zavodnik IB, Lapshina EA, Belonovskaya EB, Martinchik DI, Kravchuk RI, Bryszewska M, Reiter RJ. Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. *Cell Biochem Funct* 2005; 23: 353–359.
31. Şahna E, Deniz E, Aksulu EH. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2006; 6: 163-8.
32. Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yeğen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. *J. Pineal Res*. 2003; 34:282–287.
33. Kuruş M, Eşrefoğlu M, Şahna E, Sevil S, Otlı A. Siklosporin A'ya Bağlı Kalp Hasarında Melatoninin Histopatolojik Etkileri Üzerine Deneysel Bir Çalışma. *Fırat Tıp Dergisi* 2008;13(1): 09-14.
34. Hong RT, Xu JM, Mei Q. Melatonin ameliorates experimental hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *World J Gastroenterol* 2009 March 28; 15 (12): 1452-1458.
35. Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N, Pekmez H, Yılmaz HR, Sarsılmaz M. Formaldehit Maruziyeti Sonucu Sıçan Akciğerinde Oluşan Oksidatif Hasara Karşı

Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi: Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışma. Van Tıp Dergisi: 11 (4): 105-112, 2004.

36. Inci I, Inci D, Dutly A, Boehler A, Weder W. Melatonin attenuates posttransplant lung ischemia-reperfusion injury. Ann Thorac Surg. 2002 Jan; 73 (1): 220-5.

37. Tahan V, Ozaras R, Canbakan B, Uzun H, Aydın S, Yıldırım B, Aytekin H, Ozbay G, Mert A, Senturk H. Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. J. Pineal Res. 2004; 37:78–84.

38. Sener G, Atasoy BM, Ersoy Y, Arbak S, Sengöz M, Yeğen BC. Melatonin protects against ionizing radiation-induced oxidative damage in corpus cavernosum and urinary bladder in rats. J. Pineal Res. 2004; 37: 241–246.

39. Çolakoğlu N, Ozan E, Sönmez MF, Yılmaz S, Ozan G. Sigaranın Karaciğerde Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler Üzerine Melatonin ve C Vitamininin Etkileri. Fırat Tıp Dergisi 2005;10(3): 108-112.

40. Rezzani R, Rodella LF, Bonomini F, Tengattini S, Bianchi R, Reiter RJ. Beneficial effects of melatonin in protecting against cyclosporine A-induced cardiotoxicity are receptor mediated. J. Pineal Res. 2006; 41:288–295.

41. Unur E, Ülger H, Ekinci N. Anatomi, Medikal Kitabevi, 2005, pp:153- 157

42. Arıncı K, Elha A. Anatomi, Güneş Kitabevi, 1995, pp: 265- 273

43. Gökmen GF. Sistemantik Anatomi, İzmir Güven Kitabevi, 2003, pp:506-518

44. Dilek NO. Karaciğer. Klinik Tıp Kitapları Serisi, 1.cilt, 2003, pp:1- 14

45. Şeftalioğlu A. İnsan Embriyolojisi. Genel Dağıtım Tıp ve Teknik Yayıncılık, pp: 301- 302

46. Moore KL, Persaud TVN. The Developing Human / Clinically Oriented Embryology. WB. SAUNDERS CAMPANY, 1998, pp:279

47. Moore KL, Persaud TVN. Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri/ BEFORE WE ARE BORN Çeviri editörleri: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P, Güneş Tıp Kitap Evleri 2009, pp:142- 144

48. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Çeviri editörleri: Dalkılıç H, Yıldırım M. Nobel Tıp Kitap Evleri 2009,

49. Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi. Alfa Basım Yayım Dağıtım. Eylül 1992, pp:181- 182

50. Petorak İ. Medikal Embriyoloji. BETA Basım Yayım Dağıtım A.Ş. Eylül 1984, pp:200- 202
51. Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Çeviri Editörü: Başaklar AC. Palme yayıncılık 2005, pp:292- 293.
52. Guyton & Hall. Tıbbi Fizyoloji, çeviri editörleri: Çavuşoğlu H, Yeğen ÇB. Yardımcıları: Aydın Z, Alican İ. Nobel Tıp Kitabevleri, 2007
53. William FG. Tıbbi Fizyoloji, Çeviri Editörü: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Nobel Kitabevi, yirminci baskı, 2002, pp:483- 485.
54. Paker Ş, Histoloji Uludağ Üniversitesi Basımevi- 1993, pp:361- 372
55. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, Meteksan Anonim Şirketi, 1993, pp:882- 883
56. Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Berne and Levy. Principles of Physiology, Elsevier Mosby, 5th edition, 2006, pp: 542- 545
57. Çağlayan Ş. Yaşam Bilimi Fizyolojisi, Üniversite Kitabevi, 1995, pp:160- 165
58. Akın G, Pekgöz E, Gökhan Hİ. Karaciğer: Yapısı, Metabolik Fonksiyonları, Fizyopatolojisi, Patobiyokimyası, Tertip Matbaası, 1992, pp:4- 30
59. Göksu YA. Sıçanlarda Gebeliklerinin İlk Yarısında Uygulanan Trimetobenzamid’ in Postnatal Dönemde Yavru Sıçanların Karaciğeri Üzerine Etkisinin Işık Mikroskobunda İncelenmesi, 2004, Isparta.
60. Eşrefoğlu M. ÖZEL HISTOLOJİ. Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. Malatya, pp:106- 120
61. William K, Ovalle, Patrick C. Nahirney. NETTER’S ESSENTIAL HISTOLOGY. Çeviri Editörleri: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. Güneş Tıp Kitabevleri, ANKARA, 2009, pp:312- 323
62. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology, Third Edition SAUNDERS ELSEVIER COMPANY, Philadlphia 2007, pp:422- 432
63. Junquera LC, Carneiro J. Temel Histoloji Text & Atlas. Çeviri Editörleri: Aytekin Y, Solakoğlu S. Nobel Tıp Kitabevleri, 2006, pp:332- 344
64. Kierszenbaum AL. HISTOLOJİ ve HÜCRE BİYOLOJİSİ Patolojiye Giriş. Çeviri Editörü Demir R, Palme Yayıncılık, ANKARA, 2006, pp:457- 474
65. Kierszenbaum AL. HISTOLOGY AND CELL BIOLOGY, An Introduction to Pathology. MOSBY ELSEVIER COMPANY, Philadlphia 2009, pp:495- 513

66. Eroschenko VP. Histoloji Atlası, Dokuzuncu Baskı, çeviri Editörü: Demir R. Palme Yayıncılık, ANKARA 2001, pp:219- 225
67. Barbara Y, Heath JW. WHEATER'S FUNCTIONAL HISTOLOGY. Fourth Edition, Harcourt Publishers Limited, 2000, pp:274- 280
68. Ross MH, Pawlina W, Lippincott W & W. Histology A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology, Fifth Edition, 2006, pp:576- 591
69. Erben T. Max CLAR. HİSTOLOJİ ATLASI, Üçüncü Baskı, Sanal Matbaacılık, pp:160- 167
70. Gartner LP, Hiatt JL, Wolters K-Lippincott W&W.COLOR ATLAS of HISTOLOGY, Fifth Edition. 2009. pp:319- 334
71. Gartner LP, Hiatt JL. Renkli HİSTOLOJİ ATLASI. Çeviri Editörleri: Dağdeviren A, Müftüoğlu S, Karabay G, Güneş Tıp Kitabevleri, ANKARA, 2009, pp: 304-309
72. Çiçek B. Oğuz D. Erden E. Şahin T. 2002. Nonalkolik steatohepatitte histolojik hasarı öngöründe klinik ve laboratuvarın yeri. The value of clinical and laboratory findings in non-alcoholic steohepatitis. AKADEMİK GASTROENTEROLOJİ DERGİSİ, 1(1): 1-7.
73. Luck H. Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie, Academic Press, NewYork, USA.1963, pp:885-888.
74. Mccord JM, Fridovich I, Superoxide Dismutase: An enzymic function for Erythrocuprein (Hemocuprein), The J of Biological Chemistry, Vol: 244, No:22, 1969, pp:6049- 6055
75. Theodorus P, Akerboom M, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. Methods Enzymol, 1981, no: 77, pp: 373- 383.
76. Buege AJ, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol, 1978, no: 52, pp: 302-310.
77. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. Basic Pathology. Nobel Tıp Kitabevi. 2003.pp: 591-630.
78. Sert N, Altınışat Ç. Gebe ve Gebe Olmayan Sıçanlarda Karbontetraklorürün (CCl<sub>4</sub>) Bazı Biyokimyasal Değerler Üzerine Etkileri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 14(2): 237-242, 2008.

79. İ Bayram, H Özbek, S Uğraş, İ Tuncer, D Reçber. 2004. Askorbik Asit ve Alfa-Tokoferol'ün Karbon Tetraklorürle Olusturulmuş Akut Karaciger Toksisitesi Modelinde Karacigeri Koruyucu Etkisi Van Tıp Dergisi: 11 (2):32-38.
80. Series introduction: hepatic sinusoidal cells in liver physiology and pathology. Med electron microsc 2004; 37: 1-2.
81. Friedman S.L. The cellular basis of hepatic fibrosis- mechanism and treatment strategies. Nat clin pract gastroenterol hepatol. 2004; 1(2): 98- 105.
82. Friedman S.L. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. J Bio Chem. 2000; 275: 2247- 2250.
83. Iredale J.P. Hepatic stellate cell behaviour during resolution of liver injury. Semin liver Dis 2001; 21(3):427- 436.
84. Wang H, Wei W, Wang NP, Gui SY, Wu L, Sun WY, Xu SY. Melatonin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress. Life Sci. 2005 Aug 26;77(15):1902-15.
85. Muriel P, Escobar Y. Kupffer cells are responsible for liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. J Appl Toxicol. 2003 Mar-Apr;23(2):103-8.
86. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2002; 122: 1649-1657.
87. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med 2002; 346(16): 1221-1231.
88. Karadaş Ö. Odabaşı Z. Migrende Melatonin Proflaksisinin Etkinliğine Yönelik Acık Uclu Klinik Çalışma: On Rapor Nöropsikiyatri Arflivi 2012; 49: 44-7
89. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M et al. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Ann N Y Acad Sci 2000; 917:376-86.
90. Şahin M, Yıldız F. Şirvancı S. Ercan F. Şahin D. Boyacı H, Başığit İ. Ilgazlı A. Comparison of Anti-Inflammatory Effects of Theopylline and Resveratrolin in Chronic Bronchitic Rats. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(3):559-567
91. Brunt EM, Elizabeth M. Nonalcoholic steatohepatit: Definition and pathology. Seminars In Liver Disease 2001; 21: 3-16.
92. J.V. Bruckner, W.F. MacKenzie, S. Muralidhara, R. Luthra, G.M. Kyle, D. Acosta. Oral toxicity of carbontetrachloride: Acute, subacute, and subchronic studies in rats. Volume 6, Issue 1, January 1986, Pages 16–34.

93. Tomatır A.G. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. T Klin Tıp Bilimleri 2003, 23: 499-508
94. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. Biofactors 1998; 8:1-5.
95. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. Annual Review of Physiology 1998;60:601-17.
96. Büyükgebiz O, Caferler JS. Apoptoz. Sendrom 2001; 13:102-7.
97. Yazıcı C, Köse K. MELATONİN: KARANLIĞIN ANTİOKSİDAN GÜCÜ Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2004. 13(2); 56-65.
98. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. Clin Chim Acta 2003, 329: 23-38.
99. Göker B., Özmen R. Sıçanlarda Isırgan Otu (*Urtica dioica* L.) Yaprığı ile Beslenmenin Akut Karbon Tetraklorür Uygulamasına Bağlı Gelişen Karaciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi. F.Ü.Sağ. Bil. Tıp Derg. 2009; 23 (2): 77 - 80
100. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol 1990; 68: 989.
101. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-426.

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**



Toplantı Tarihi : 12.10.2009  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2009/23  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsi : Sıçan  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Wistar-albino  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı : Yetişkin  
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Ağırlığı : 150-180 gram

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜL'ün yürütücüsü olduğu "Karbontetraklorür ile oluşturulan akut ve kronik karaciğer hasarına karşı resveratrol ve melatonin etkileri" isimli 2009/23 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

|                                     |                                        |                                                           |
|-------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ<br>Başkan<br> | Doç.Dr.Nigar VARDI<br>Başkan Yard.<br> | Doç.Dr. Yunus KARAKOÇ<br>Raportör<br>                     |
| Prof.Dr. Ahmet KIZILAY<br>Üye<br>   | Doç.Dr.Abdurrahman KARAMAN<br>Üye<br>  | Yrd.Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ<br>Üye<br>                       |
| M.Zafer BOZDAĞ<br>Üye<br>           | Bekir ÜNAL<br>Sivil Üye<br>kattılmadı  | Zafer KIRÇUVAL<br>Sivil Toplum Örgütü Üyesi<br>kattılmadı |

**ÖZGEÇMİŞ**

Adı: Birgül

Soyadı: Yiğitcan

Doğum Tarihi: 03.11.1984

**Okuduğu Okullar**

İlkokulu: Gazi İlköğretim Okulu

Ortaokulu: Atatürk Orta Okulu

Lisesi: Turgut Özal Koleji, Rahime Batu Koleji

Üniversitesi: İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2002-2006).

Yüksek lisans: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı, Malatya (2009 – 2012)

İç ve Dış Androloji Eğitimi, Memorial Hastanesi, İstanbul (02.01.2012 – 15.02.2012)