



T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**Ratlarda Tetrasiklin Kullanımına Bağlı Oluşan Hepatotoksisitenin Önlenmesinde
Mangiferin Ve Amlodipinin Koruyucu Etkinliğinin Karşılaştırılması**

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

DR.FARUK TATLI

TEZ YÖNETİCİSİ
PROF.DR. ERCAN GEDİK

DİYARBAKIR-2022

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitimimde süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli öğretim üyeleri: Prof. Dr. Ercan GEDİK ,Prof. Dr. Sadullah GİRGİN ,Prof. Dr. Abdullah OĞUZ, Prof. Dr. Burak Veli ÜLGER, Prof. Dr. Mehmet YILMAZ, Doç. Dr. Mehmet Veysi BAHADIR, Doç. Dr. Ulaş ADAY , Doç.Dr. Mehmet Tolga KAFADAR hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım döneminde yardımlarından dolayı; Histoloji Anabilim Dalında görevli Dr. Eda YILDIZHAN ile Prof Dr. Murat AKKUŞ 'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca uzmanlık eğitimim süresince arkadaşlık ve aile ortamını paylaştığım çalışmama katkıda bulunan tüm araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım; Op. Dr. Esra HAMURCU, Op.Dr. M. Ali KIRŞAN, Op Dr. Gizem YAMAN, Op.Dr. İbrahim Halil ÖCAL, Op.Dr. Mehmet RENÇBER Dr.Hikmet ÖZESMER, Dr. Faik Veysel AKPULAT, Dr. Mehmet Mazlum İNAN, Dr. Şakir KOCA, Dr. Azat KÖZGÜN, Dr. Mahsum BARÇİN , Dr. Baran DEMİR, Dr. Aydın BARS, Dr. Ömer Serhat DAĞ, , Dr. Mazlum GÜNDÜZ , Dr. Ferdi BAYRAK ,Dr. Abdulkadir AKBAŞ, Dr. Alper KIZIL, Dr. Ferhat IŞIK, Dr. Mervan KAMAR, Dr. Hasan ALKLAY ,Dr. Bilal URUÇ ,Dr. Çağrı ARSLAN Dr.Ali YILDIZDAĞ, Dr. Dilan YILDIZ 'a ve diğer Cerrahi Anabilim dalı, Ameliyathanede görevli arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen aileme; biricik eşim Sevda ve oğlum Ali Hamza'ma sonsuz motivasyon ve sabır kaynağım oldukları için sevgilerimle teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	2
İÇİNDEKİLER	3
TABLO LİSTESİ	5
ŞEKİL LİSTESİ	6
KISALTMALAR.....	8
ÖZET	9
ABSTRACT	10
1. GİRİŞ VE AMAÇ	12
2.GENEL BİLGİLER	14
2.1. Karaciğerin Anatomisi.....	14
2.2.Karaciğerin Lobül ve Lobları	15
2.2.1.Klasik Lobül.....	15
2.2.2 Portal Lobül.....	16
2.2.3 Hepatik Asinüs.....	16
2.3.Karaciğeri Besleyen Damarlar	17
2.3.1.Portal Ven	17
2.3.2 Hepatik Arter.....	17
2.4.Karaciğer Segmentleri.....	18
2.5.Karaciğer Hücreleri.....	19
2.5.1. .Hepatosit	19
2.5.2. .Endotelial Hücreler	20
2.5.3.KupfferHücreleri	20
2.5.4..Presinüzoidal Hücreler (İtoHücreleri)	20

2.5.5.Karaciğer Sinüzoidleri ve DisseAralığı.....	20
3. MATERYAL VE METOD.....	21
3.1. DENEY HAYVANLARI GRUPLARININ OLUŞTURULMASI VE DENEY PROTOKOLÜ.....	21
3.1.1. Tetrasiklin Dozunun Belirlenmesi.....	21
3.1.2. Amlodipin Dozunun Belirlenmesi.....	21
3.1.3. Mangiferin Dozunun Belirlenmesi.....	22
3.1.4.Deney Gruplarının Oluşturulması.....	22
3.2. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	23
3.3. TOTAL ANTİOKİDANT STATUS (TAS).....	23
3.4. TOTAL OXİDANT STATUS (TOS).....	23
3.5. RUTİN HİSTOLOJİK TAKİP.....	23
3.5.1. Hematoksilen&Eozin Boyama Protokolü.....	24
3.5.2.Periyodik Asit Schiff(PAS) Boyama Protokolü.....	24
3.6.İMMUNOHİSTOKİMYASAL METODLAR.....	24
3.7.MORFOLOJİK VE İSTATİKSEL ANALİZ.....	25
4. BULGULAR.....	27
4.1 Biyokimyasal Analizler.....	27
4.2. TAS ve TOS Analizleri.....	28
4.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	29
4.4.İmmunohistokimyasal Değerlendirme.....	37
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47

TABLO LİSTESİ

Tablo no	Sayfa no
Tablo 1 Biyokimyasal analizleri yapılan AST ve ALT değerlerinin istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.....	27
Tablo 2. Biyokimyasal analizleri yapılan TAS ve TOS değerlerinin istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.....	28
Tablo 3. Histopatolojik değerlendirmede karaciğer hasar gradelemesi yapılan dokuların istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.....	29
Tablo 4. Histoskorlaması yapılan karaciğer dokularının istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.....	37

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1 .Karaciğer Anatomisi	15
Şekil 2. Karaciğer sinüzoidi, portal triad ve karaciğer zonları	17
Şekil 3.Karaciğerin hepatik venlere göre sektörlere ayrılması.....	18
Şekil 4.Karaciğer Segmentleri	19
Şekil 5. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu. Normal görünümde karaciğer dokusu (H&E, Bar 50 µm).....	30
Şekil 6. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).	30
Şekil 7. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu. Normal görünümde karaciğer dokusu (H&E, Bar 50 µm).	31
Şekil 8. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).....	31
Şekil 9. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu. Normal görünümde karaciğer dokusu (H&E, Bar 50 µm).....	32
Şekil 10. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).....	32
Şekil 11. Tetrasiklin grubuna ait karaciğer dokusu. Karaciğer dokusunda hemoraji, sinüzoidlerde genişleme, hepatositlerin ışınsal diziliminde bozulma (H&E, Bar 50 µm).....	33
Şekil 12. . Tetrasiklin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusunda azalmış glikojen depolanması (PAS, Bar 50 µm).....	33
Şekil 13. Tetrasiklin+Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Sinüzoidal dilatasyonda ve piknotik hepatositlerde azalma (H&E, Bar 50 µm).....	34
Şekil 14. Tetrasiklin+Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusundaki glikojen yoğunluğunun yeniden oluşması (PAS, Bar 50 µm).....	35
Şekil 15. Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Normal görünümde vena sentralis, oldukça az sayıda piknotik hücreler, ışınsal dizilimin yeniden oluşumu (H&E, Bar 50 µm).....	36
Şekil 16. Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusundaki glikojen yoğunluğunun artması (PAS, Bar 50 µm).....	36
Şekil 17. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	38
Şekil 18. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm).....	39
Şekil 19. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	39

Şekil 20. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm).....	40
Şekil 21. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	40
Şekil 22. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm).....	41
Şekil 23. Tetrasiklin grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	41
Şekil 24. Tetrasiklin grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm).....	42
Şekil 25. Tetrasiklin+ Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	42
Şekil 26. Tetrasiklin+ Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm)...	43
Şekil 27. Tetrasiklin+ Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu (Il-6, Bar 50 µm).....	43
Şekil 28. Tetrasiklin+ Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusu (Apaf-1, Bar 50 µm)...	44



KISALTMALAR

TCN: TETRASİKLİN

AML: AMLODİPİN

MNG: MANGİFERİN

AST: ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ

ALT: ALANİN AMİNOTRANSFERAZ

PAS: PERYOİDK ASİT SCHİFF

H&E: HEMATOKSİLEN & EOZİN

IL-6: İNTERLÖKİN-6

EDTA: ETİLEN DİAMİNOTETRAASETİK ASİT

ALP: ALKALEN FOSFATAZ

TAS: TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ

TOS: TOPLAM OKSİDAN KAPASİTESİ

IVC: İNFERİOR VENA CAVA

1. ÖZET

Ratlarda Tetrasiklin Kullanımına Bağlı Oluşan Hepatotoksisitenin Önlenmesinde Mangiferin Ve Amlodipinin Koruyucu Etkinliğinin Karşılaştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Faruk TATLI

Danışman: Prof. Dr. Ercan GEDİK

Anabilim Dalı: Genel Cerrahi A.D.

1.1 TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Yapılan çalışmalarda antibiyotik türevi ilaçların neredeyse tamamının karaciğerde toksik etkiler yarattığı gözlenmiştir. Bu etkiler çok az düzeyde olabileceği gibi, kronik hepatit, siroz, akut karaciğer yetmezliği gibi önemli sorunlara da yol açabilmektedir. Çalışmamızda Tetrasiklin (TTC) kullanımına bağlı karaciğer toksisitesi durumunda Mangiferine (MNG) ile Amlodipin (AML)’in koruyucu etkinliklerini inceledik. Bu koruyucu etkinliklerden hangisinin daha üstün olduğunu ortaya koymak için de biyokimyasal, histolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırdık.

Materyal/Metod: Bu çalışmada yetişkin, 42 adet erkek Wistar Albino cinsi ratlar kullanıldı. Ratlar 7’li gruplar halinde 6 grup olarak ayrıldı. Grup 1; Kontrol grubu, Grup 2; TCN grubuna 2 hafta boyunca günlük 200 mg/kg doz ile gavajla TTC peroral (p.o.) verildi. Grup 3; AML grubu olup, AML 4 hafta boyunca günlük 1 mg/kg doz ile p.o. verildi. Grup 4; MNG grubu olup, MNG 4 hafta boyunca günlük 20 mg/kg/gün doz ile p.o. verildi. Grup 5; TCN+ AML grubu olurken, Grup 6; TCN+ MNG grubu aynı doz ve süre ile ilaçlar verildi.

Bulgular: TCN grubunun Total Antioksidan düzeyi diğer çalışma gruplarından oldukça düşük görülürken, Total Oksidan düzeyi diğer çalışma gruplarından anlamlı derecede yüksek izlendi. Karaciğer fonksiyon testlerine bakıldığında ise; TCN grubunun AST ve ALT değerleri TCN+ AML grubundan anlamlı farklılık göstermezken, diğer gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. TCN+AML grubunun H&E ve PAS boyaması sonucu; TCN grubuna kıyasla

konjesyonun azaldığı, sinüzoidal dilatasyonun ve hepatositlerde piknozun devam ettiği görüldü. TCN+MNG grubunda ise; TCN ve TCN+AML gruplarına kıyasla daha normal görünümde hepatik yapı izlendi. TCN+ AML grubunda Il-6 ve APAF-1 ekspresyonların TCN grubuna kıyasla orta şiddette olduğu görülürken, TCN+ MNG grubunda ekspresyonlar daha az şiddette görüldü.

Sonuç: Biyokimyasal, İmmunohistokimyasal ve Histopatolojik değerlendirmeler sonucu Mangiferin'in hepatotoksisite durumunda daha fazla koruyucu etkinliğe sahip olduğu izlendi.

Anahtar Kelimeler: Tetrasiklin, Amlodipin, Mangiferin, Hepatotoksisite.

2. ABSTRACT

Comparison of the Protective Efficacy of Mangiferine and Amlodipine in the Prevention of Hepatototoxicity Caused by Tetracycline Use in Rats

Student's Surname and Name: TATLI Faruk

Consultant of Thesis: GEDİK Ercan Professor

Department: General Surgery

Aim: Studies have shown that almost all antibiotic derived drugs have toxic effects on the liver. While these effects may be minimal, they may also lead to important problems such as chronic hepatitis, cirrhosis, and acute liver failure. In this study, we examined the protective effects of Mangiferine (MNG) and Amlodipine (AML) in the case of hepatic toxicity due to Tetracycline (TTC) use. In order to reveal which of these protective activities was superior, the groups were compared with biochemical, histological and immunohistochemical methods.

Materials/Methods: In this study, were used adult 42 male Wistar Albino rats. Rats were divided into 6 groups in groups of 7. Group 1; control group, Group 2; The TCN group was given TTC peroral (p.o.) by gavage at a daily dose of 200 mg/kg for 2 weeks. Group 3; It is the AML group, and AML is administered p.o. with a daily dose of 1 mg/kg for 4 weeks given. Group 4; It is the MNG group and MNG is administered p.o. at a daily dose of 20 mg/kg for 4 weeks given. Group 5; While TCN+ AML group, Group 6; TCN+ MNG group was given drugs with the same dose and duration.

Results: While the Total Antioxidant level of the TCN group was lower than the other study groups, Total oxidant level was found to be significantly higher than the other study groups. When looking at liver function tests; While the AST and ALT values of the TCN group did not

differ significantly from the TCN+ AML group, they were found to be significantly higher than the other groups. As a result of H&E and PAS staining of TCN+AML group; Compared to the TCN group, it was observed that the congestion decreased, sinusoidal dilatation and pycnosis in hepatocytes continued. In the TCN+MNG group; Compared to the TCN and TCN+AML groups, a more normal hepatic structure was observed. In the TCN+ AML group, IL-6 and APAF-1 expressions were seen to be moderate compared to the TCN group, while the expressions were less intense in the TCN+ MNG group.

Conclusion: As a result of our Biochemical, Immunohistochemical and Histopathological evaluations, it was observed that Mangiferin had more protective activity in case of hepatotoxicity.

Keywords: Tetracycline, Amlodipine, Mangiferin, Hepatotoxicity.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Yapılan çalışmalarda antibiyotik türevi ilaçların neredeyse tamamının karaciğerde toksik etkiler yarattığı gözlenmiştir. Bu etkiler çok az düzeyde olabileceği gibi, kronik hepatit, siroz, akut karaciğer yetmezliği gibi önemli sorunlara da yol açabilmektedir (1). Reçeteli ilaç kullanımı sonucu gelişen karaciğer toksisitesinin yıllık insidansı 10-15/10.000-100.000 olarak rapor edilmiştir (2,3). Gelişen karaciğer toksisitesinin en sık antiyotiklerden kaynaklandığı (%49,4) bildirilirken, antibiyotiklerden de penisilin türevleri ilk sırada yer almaktadır (4).

Tetrasiklin bugüne kadar antibiyotik, antiinflamatuvar, antiapoptotik, metal şelat, proteoliz ve iyontoforez gibi birçok farmasötik özellikleri dolayısıyla farklı amaçlarla kullanılmıştır (5). Fakat yaygın olarak gonore, frengi, pnömoni gibi çeşitli enfeksiyonal hastalıkları tedavi etmek için kullanılan bir antibiyotik olmasıyla bilinir. Doksisisiklin ve minosiklin yaygın olarak kullanılan türevleridir (6). Tetrasiklin ayrıca osteoartrit, peridontitis, diş taşı oluşumu, prion aracılı beyin hasarı hastalıkları ve metastatik kanser tedavilerinde de yaygın olarak kullanılır (7, 8).

Tetrasiklin, karaciğerde patolojik etkiye neden olma potansiyeli ile bilinir (2). Yüksek dozda tetrasiklin kullanımı kan konsantrasyonu, karaciğer ve böbrek hasarına neden olarak hayati tehlikelere sebep olabilir (9-11). İnsanlarda karaciğerde mikroveziküler steatozu ciddi şekilde indükleyebilir ve hayati tehlikelere sebep olabilir (11). Mikroveziküler steatozun yanında, oksidatif doku hasarı ve bozulmuş mitokondriyal fonksiyonlar tetrasiklinin neden olduğu hepatik ve renal toksisitenin sonuçlarındandır (10-12). Özellikle renal disfonksiyonu olan hastalar veya hamile hastalar çok büyük risk altındadır (13). Bu hastalarda günlük 2 gr dozdan alınması ölümcül hepatotoksisiteye neden olduğu görülmüştür (14). Bununla birlikte, predispozan faktörleri olmayan hastalarda bile hepatotoksisiteye neden olarak yağ infiltrasyonuna sebep olabilir (13). Tetrasiklinin hepatosit toksisitesi daha önce yapılan birkaç in vitro çalışmalarla kısmen kanıtlanmıştır. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda tetrasiklinle tedavi edilen ratların hepatositlerinde lipid birikimi, yağ asidi metabolizmalarında bozulmalar ve oksidatif stres gözlemlenmiştir (15-18).

Amlodipin L tipi kalsiyum kanallarını bloke eden, hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan lipofilik dihidropiridin özellikte bir ilaçtır (19, 20). Dihidropiridin de antioksidan özelliklere sahiptir (21, 22). Bugüne kadar antitrombotik ve antiarterosklerotik etkileri olduğu da bilinmektedir (23). Kalsiyum kanal blokleri etkisinden dolayı kan basıncını ve periferik vasküler direnci düşürür ve düz kasların gevşemesini sağlar (24). Farklı ilaçlarla kullanıldığında ilaç- ilaç etkileşimini indükleyebilir ve bu da ilaçların farmakokinetik etkileşimini indükleyebilir (25).

Mangiferin (1, 3, 6, 7-tetrahidroksiksanton-C2- β -D-glukozit), hem mango hemde papaya da bulunan glukosil ksantonun doğal bir bileşeni olup, antiinflamatuvar, antioksidan/ antiradikal, antibakteriel, hepatoprotektif, antikanserojenik, antiapoptotik, antidiyabetik ve antiviral özellikler gibi sayısız farmakolojik etkilere sahiptir (26-34). Mangiferin doku hasarını oksidatif stresten ve iltihaplardan korunmak için de kullanılabilir (35, 36). Ayrıca mango özü ve mangiferin birleşimi bugüne kadar yaşa bağlı hastalıkların geciktirilmesi, yaşlı yaşam kalitesinin artırılması ve oksidatif stresi önlemek için besin takviyesi olarak kullanılmıştır (37). Tüm bu özellikler mangiferinin güçlü bir antioksidan olma özelliğinden kaynaklanır (34, 38). Mangiferinin toksisite ve yan etki özelliğinin düşük olma ihtimali, önemli psikolojik ve farmakolojik etkilere sahip olması mangiferini büyük ölçüde klinik öneme sahip kılmıştır. Mangiferin takviyesi alan kişilerde serum trigliserit, FFA seviyeleri ve insülin direnci indeksinde önemli ölçülerde azalma, hiperlipidemisi olan hastaların ise yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol, L-karnitin, β -hidroksibutirat ve asetoasetat ve lipoprotein lipaz aktivitelerinde artma olduğu gözlenmiştir (39).

Karaciğer insan vücudu için hayati öneme sahip bir organ olup, toksisite durumlarında ciddi klinik sonuçlara hatta bazen ölümlere bile neden olabilmektedir. Bizde toksisite durumuna neden olabilen tetrasiklin'in uygun olmayan dozlarda alınması durumunda oluşabilecek patolojik durumları önlemede alternatif tedavi seçeneklerini çoğaltmayı amaçladık. Böylelikle olası bir karaciğer toksisitesi durumunda biri doğal bir antioksidan olan Mangiferine ile diğeri bir kalsiyum kanal blokleri olup aynı zamanda antioksidan özelliği de olan Amlodipin'in koruyucu veya tedavi edici özelliklerinin olup olmadığı varsa bu özelliklerden hangisinin daha üstün olabileceğini histolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

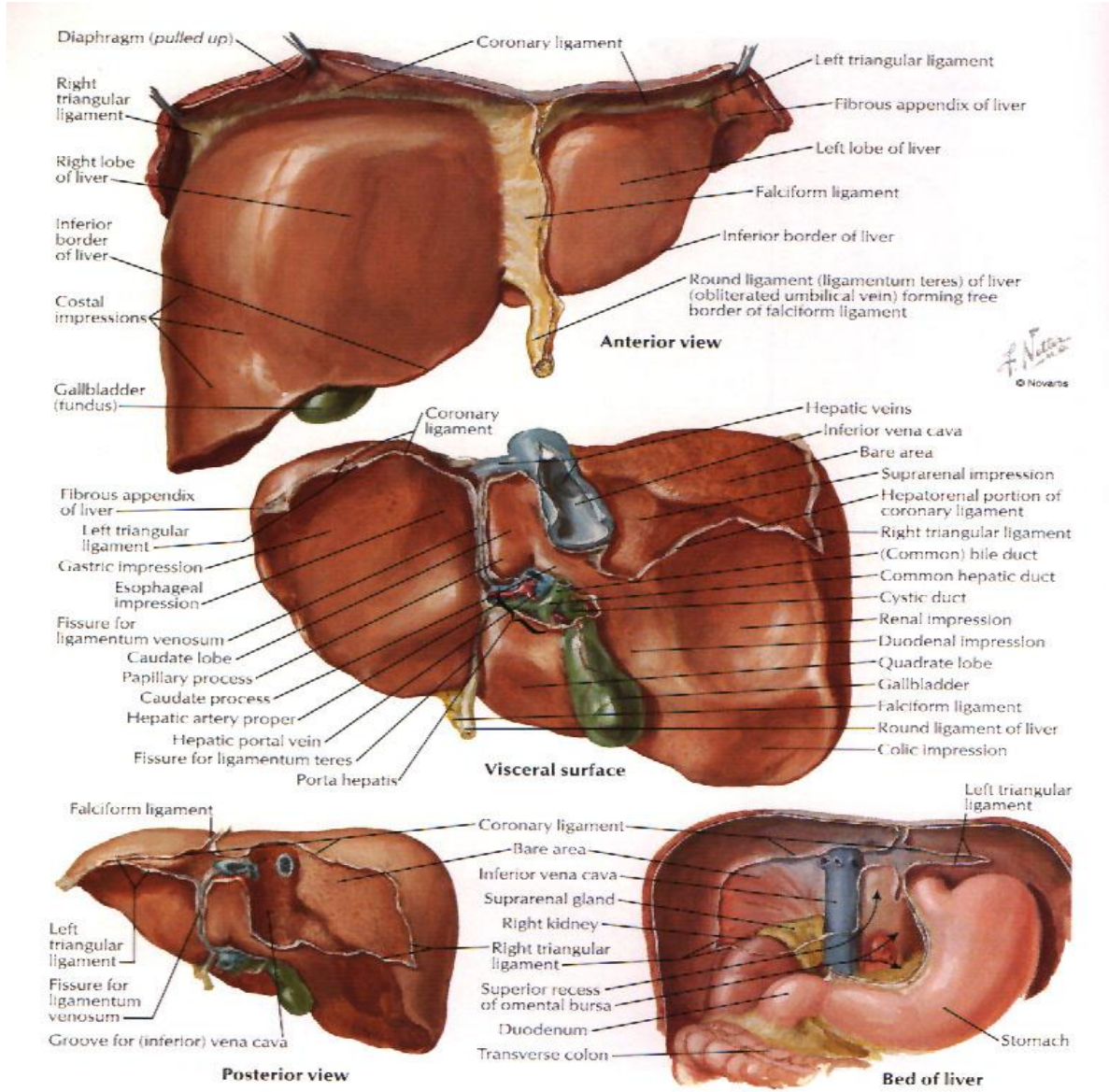
2.1.Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer vücudun en büyük ve en kompleks organı olup, yaklaşık 1200-1600 gram (g) ağırlığında, vücudun 1/15'ini kaplayan bir organdır (40,41). Yetişkinlerde vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluştururken, çocuklarda vücut ağırlığının neredeyse %5'ini oluşturur (42). Anatomik olarak karın sağ üst kadrinında, diyaframın hemen altında ve göğüs kafesi ile korunmaktadır (43). Karaciğer dıştan Glisson kapsülü denilen bir kapsül ile sarılı olup, bu kapsül peritonun altındaki bağ dokusundan yapılmıştır (44). Karaciğerin neredeyse tamamı periton ile kaplı olup, sadece vena kava inferior, safra kesesi çukuru ve vena kava inferiorun sağında yer alan çıplak alan aracılığıyla diyafram ile temas halindedir . Karaciğerin pozisyonu kişinin pozisyonuna göre değişiklik gösterebilir (45).

Karaciğerin iki yüzeyi vardır. Bunlar;

1. Diaframatik yüzey (fascies diafragmatica); bağ dokusu ile diyafragma yapışık, düzgün yüzeyli ve konveks şekillidir (45). Süperiorde sağ ve sol plevra ve akciğerlerle, kalp ve perikard ile komşuyken, posteriorde IVC ve alt seviye kotları, anteriorda kot kenarları ve ksifoid çıkıntı, sağ plevra ve akciğer ile komşuluk gösterir
2. Visseral yüzey (fascies visceralis); batındaki organları ile komşu kısımdır. Kalın bağırsak, sağ böbrek ve böbrek üstü bezi, safra kesesi, duodenum, mide ve özefagusun abdominal kısmı ile komşuluk gösterir (46).

Bugüne kadar karaciğerin birçok fonksiyonu tanımlanmıştır. İlk fonksiyonu ise gebeliğin 6-7. haftalarında kan yapımı ile başlar (47). Fakat gelişim ilerledikçe diğer organlar oluşur ve bu fonksiyonu giderek azalır (48). En önemli fonksiyonu ise; kimyasal maddelerin vücuttan emilimini, atılımı ve metabolize edilmesini sağlamaktır (49,50).



Şekil-1. Karaciğerin Anatomisi

2.2.Karaciğerin Lobül ve Lobları

2.2.1. Klasik Lobül: transvers kesitlerde altıgen şeklinde görülen, merkezde vena sentralisin yer aldığı lobüldür. Hücreler ışınal şekilde dizilmiştir buna Remark kordonları denir.

2.2.2. Portal Lobül

Üç klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleşmesi ile oluşan lobüldür.

2.2.3. Hepatik Asinüs

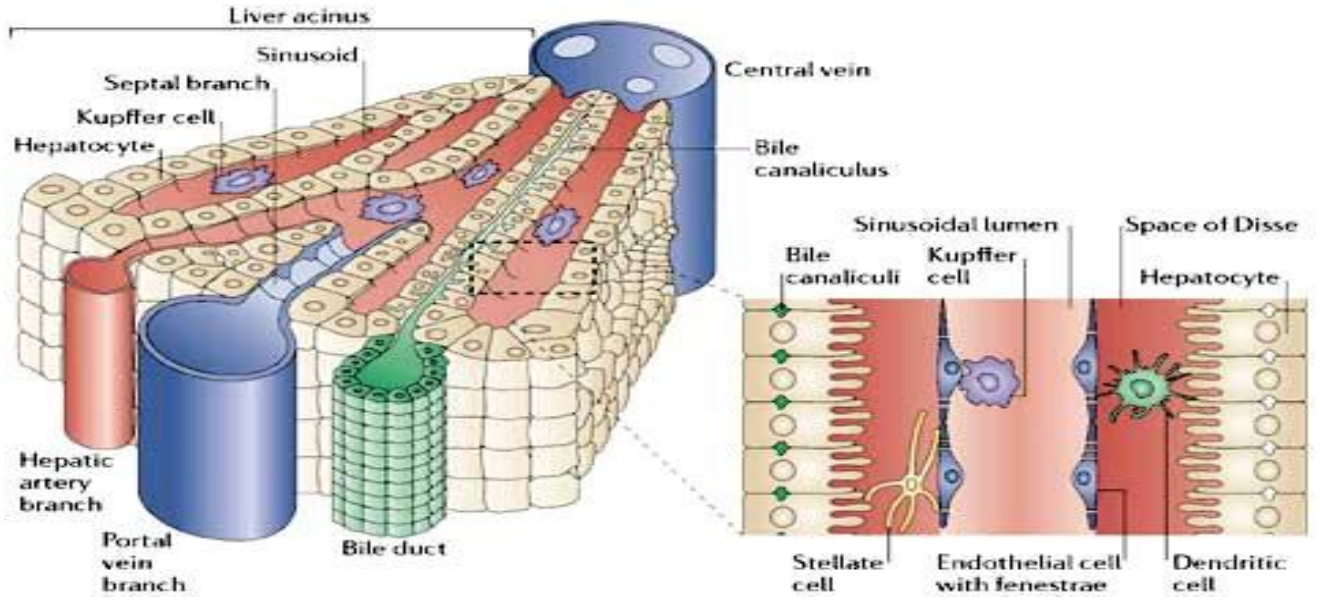
Kesitlerde baklava şeklinde görülen iki vena sentralis ve iki portal aralığın birleşmesi ile oluşan lobüldür (31,32)

Bu lobüller birleşerek lobları meydana getirir. Lobüller büyük oranda karaciğerin büyük bir kısmını oluşturan hepatosit hücrelerinden oluşmaktadır. Hepatositler fonksiyonlarına göre lobülün farklı alanlarına lokalize olmaktadır. Hepatositler bu özelliklerine göre periferden santrale doğru 3 zona ayrılmaktadır:

1. periferik zon; toksinlere, glukoza, lipid ve proteinlere yüksek oranda maruz kalan hücrelerden oluşmaktadır. Bu sebepten enzimatik faaliyetler yüksektir ve glikojen depoları ağırlıklı olarak bu zonda yer almaktadır.
2. geçiş zonu (intermediate zone); periferik zon ile santral zon arasında yer alır
3. santral zon; vena centralis etrafındaki hepatositlerden oluşmaktadır (51).

Karaciğer anatomik olarak dört lobdan oluşur.

- 1) Sağ lob (lobus hepaticus dexter): Karaciğerin en geniş ve en kalın lobudur.
- 2) Sol lob (lobus hepaticus sinister): Lobus hepaticus dexter ile birlikte karaciğerin her iki yüzünde de görülür. Fakat ligamentum falciforme hepatis adı verilen bağ ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Sağ loba nazaran daha ince ve dardır.
- 3) lobus quadratus: karaciğerin İnferior yüzünde yer alır. Solda ligamentum teres fissürü, arkada porta hepatis, sağda safra kesesinin yerleştiği fossa ile çevrilidir.
- 4) Lobus caudatus: karaciğerin visseral yüzünde görülen, Önde porta hepatis, sağda vena kava inferior (VCİ), solda ligamentum venozum fissürü ile sınırlıdır (45, 52).



Şekil 2. Karaciğer sinüzoidi, portal triad ve karaciğer zonları

2.3.Karaciğeri Besleyen Damarlar

Karaciğerin kanlanması başlıca portal ven ve hepatik arterler aracılığıyla olur.

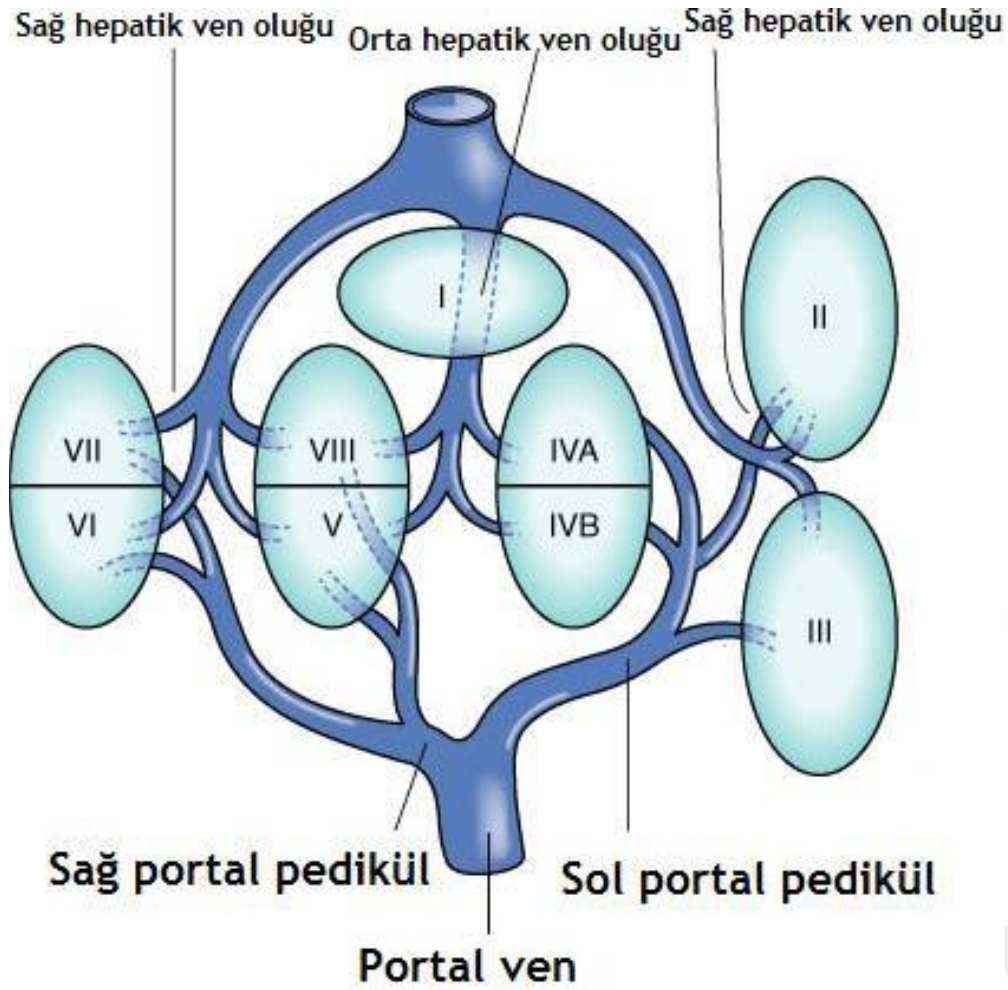
2.3.1.Portall Ven

Karaciğer kanlanmasının büyük bir kısmını sağlayan portal ven (%75'ini), Süperior mezenterik ven ile splenik venin birleşmesi ile oluşur. Portal ven valf içermediğinden düşük basınçta bile karaciğere büyük oranda kan akımını sağlar. Portal ven 6-8 cm uzunluğunda ve yaklaşık 1 cm çapındadır. Karaciğere girmeden hemen önce sağ ve sol portal dalları verir ve daha distalde segmenter anatomiye uygun olarak dallanır.

2.3.2.Hepatik Arter

Karaciğer kanlanmasının %25'ini, oksijen ihtiyacının ise yaklaşık %30 - 50'sini sağlamaktadır. Karaciğere girmeden önce sağ ve sol hepatik arter dallarına ayrılır (51).

Hepatik arter ile portal ven arasında birbirleri ile dengeli bir basınç ilişkisi vardır. Portal basınç arttığında arteriyel basınç azalmaktadır. Böylece karaciğerdeki kan akımı dengeli bir şekilde devam etmektedir (51).



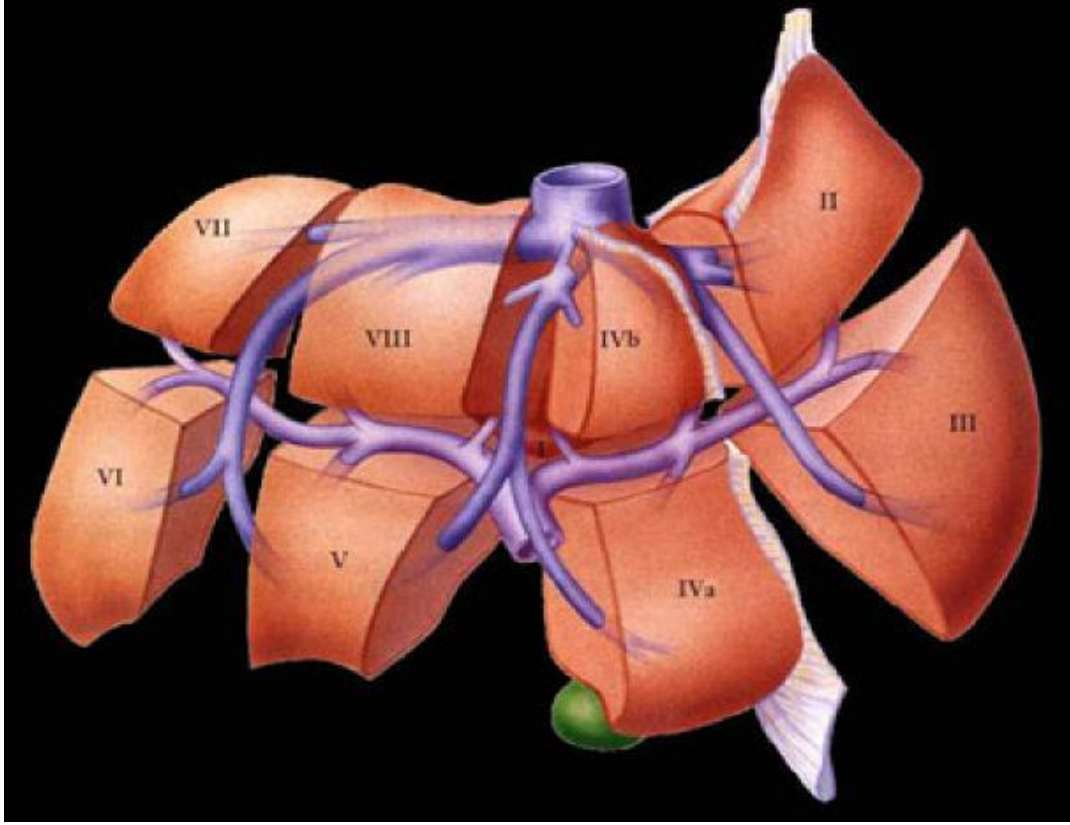
Şekil- 3. Karaciğerin hepatik venlere göre sektörlere ayrılması

2.4.Karaciğer Segmentleri

1. Kaudat lob
2. Sol lateral superior subsegment
3. Sol lateral inferior subsegment
4. Sol medial superior ve inferior subsegment
5. Sağ anterior inferior subsegment
6. Sağ posterior inferior subsegment
7. Sağ posterior superior subsegment
8. Sağ anterior superior subsegment

Diğer subsegmentler üç ayrı dikey düzlem ile belirlenir. Segment I haricindeki tüm bu segmentler daha sonra sağ ve sol ana portal dallar düzeyinden geçen bir yatay düzlem ile

superior ve inferior subsegmentlerine ayrılır. Böylelikle karaciğerin üç dikey ve bir yatay düzlem tarafından oluşturulan sekiz subsegmenti ve bir segmenti (segment I) tanımlanır (53).



Şekil-4. Karaciğer Segmentleri

2.5.Karaciğer Hücreleri

2.5.1.Hepatositler

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda karaciğerde 15 değişik hücre olduğu tanımlanmıştır (54). Ama karaciğerin büyük br çoğunluğunu oluşturan hücre tipi Hepatositlerdir. Hepatositler boyları 20-30 μm uzunluğunda olan poligonal şekilli hücrelerdir (55). Karaciğerin esas fomksiyonel hücreleri olup, ışık mikroskobu altında incelendiğinde bir veya iki çekirdekçikten oluştuğu görülür (56,57). Hepatositler vena sentralise doğru ışınsal dizilim gösterirken, bu

dizilim şekline ‘remark kordonları’ adı verilir. Karaciğerin ana hücreleri olup, yüksek rejenerasyon yetenekleri vardır. Sitoplazmalarında çok sayıda granüllü endoplazmik retikulum (GER) bulundurmalarından dolayı asidofil boyanır. Fazla sayıda mitokondri içermelerinden dolayı yüksek metabolik aktiviteye sahiptirler (58). Yapısında bulunan endoplazmik retikulumlar granüllü ya da granülsüz olarak ikiye ayrılır. Granüllü endoplazmik retikulumlar protein sentezinde görev alırken, Granülsüz endoplazmik retikulumlar ise safra yapımı, salgılanması ve toksik maddelerin detoksifikasyonunda görev alırlar

2.5.2.Endotelial Hücreler

Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %20-30’unu oluşturmaktadır. Karaciğer fonksiyonel ünitesindeki sinüzoidler, endotel hücrelerinin bir araya gelerek bağlanmasıyla oluşturdukları tubuler oluşumlardır. Disse aralığına geçen mayi, endotel hücreleri arasından süzülerek ya da primer endotel hücrelerinin aktif transportu ile protein ve elektrolit transferiyle oluşturulmaktadır (51).

2.5.3.Kupffer Hücreleri

Vücudun retiküloendotelial sisteminin önemli bir kısmını oluştururlar. Karaciğerin doku makrofajlarıdır ve karaciğer sinüzoidlerinin yüzeyini döşer. Karaciğerin primer fagositer hücreleri olma özelliği ile dolaşımdan, barsaklardan ve kolon florasından dolaşıma katılan bakteri, virüs ve endotoksinleri yok etmektedir (51).

2.5.4.Presinüzoidal Hücreler (İto Hücreleri)

Sinüzoidleri oluşturan endotel hücrelerinin hemen altında yani ağırlıklı olarak zon-1’de yer almaktadırlar. Sinüzoidlerin kan akımının düzenlenmesine, kasılıp gevşeyerek katkıda bulunmaktadır. Yapılan mikroskopik bakılarda yağ vakuollerince zengin olduğu için A vitamini deposu oldukları düşünülmektedir. Bu hücreler aynı zamanda kollajen üretimi ve depolanmasından sorumludur (51).

2.5.5.Karaciğer Sinüzoidleri ve Disse Aralığı

Sinüzoidleri oluşturan endotel hücreleri ile hepatik lobüldeki ışınal dizilimli hepatositler arasındaki interstisyel boşluğa disse aralığı adı verilmektedir. Sinüzoidlerden kanın geçişi esnasında disse aralığına plazma sıvısı akmaktadır. Hepatik lobül köşelerindeki bağ dokudan zengin olup içinde portal triadı bulunduran ve kiernan aralığı adı verilen bölgede lenfatik

damarlar mevcuttur (59). Disse aralığına geçen plazma sıvısı, hepatositlerin metabolik artıkları, yüksek moleköl ağırlıklı proteinler, kolesterol ve yağ asitleri bu lenfatiklere drene olur.

3.MATERYAL VE METOD

Yaptığımız çalışmanın etik kurul izini Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı (DÜHADEK)'ndan 2021/34 protokol numarası ile alınmıştır. Çalışmamız DÜSAM'dan temin edilen yetişkin 42 adet Wistar Albino cinsi erkek ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmanın deneysel bölümü DÜSAM hayvan bakım merkezinde; histolojik doku takipleri ve analizler ise Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji/Embriyoloji Araştırma Laboratuvarında; biyokimyasal değerlendirmesi ise Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1.Deney Hayvanları Gruplarının Oluşturulması ve Deney Protokolü

Çalışmada ortalama 8-10 haftalık, ağırlıkları 320-400 gr aralığında değişen 42 adet erkek Wistar Albino cinsi ratlar kullanıldı. Ratlar paslanmaz çelik kafeslerde, oda sıcaklığı 22 ± 2 °C de ve % 60 nemli ortamda tutuldu. Ratlara 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ışık düzenlemesi yapıp, normal diyet ile herhangi bir hareket veya yem/su kısıtlaması yapılmaksızın beslendi.

3.1.1.Tetrasiklin Dozunun Belirlenmesi

Deneyde kullanılacak olan TTC dozu günlük 200 mg/kg olacak şekilde gavaj yardımıyla oral (p.o.) olarak 2 hafta süre ile verildi (60).

3.1.2.Amlodipin Dozunun Belirlenmesi

Deneyde kullanılacak olan Amlodipin dozu günlük 1 mg/ kg olacak şekilde gavaj yardımıyla p.o. olarak 4 hafta süre ile verildi (61).

3.1.3.Mangiferin Dozunun Belirlenmesi

Deneyde kullanılacak olan Mangiferin dozu günlük 20 mg/ kg olacak şekilde gavaj yardımıyla p.o. olarak 4 hafta süre ile verildi (62).

Ratlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda, özel olarak hazırlanmış çelik kafeslerde 7'li gruplar halinde 6 grup olarak ayrıldı. Her bir sıçan ayrı ayrı tartılıp ağırlıkları belirlenerek, literatürlere uygun hesaplanan ilaç dozları uygulandı.

Grup 1 (n=7): Kontrol grubu olup deney süresince herhangi bir ilaç uygulaması verilmedi, günlük olarak sadece 1 cc saline oral verildi.

Grup 2 (n=7): Tetrasiklin grubu olup 2 hafta boyunca günlük 200 mg/kg doz ile p.o. olarak verildi.

Grup3 (n=7): Amlodipin grubu olup 4 hafta boyunca günlük 1 mg/kg doz ile p.o. olarak verildi.

Grup 4 (n=7): Mangiferin grubu olup 4 hafta boyunca günlük 20 mg/kg doz ile p.o. verildi.

Grup 5 (n=7): Tetrasiklin +Amlodipin grubu olup, 2 hafta süresince Tetrasiklin 200 mg/kg doz ile verilirken eş zamanlı olarak Amlodipin de 1 mg/kg doz ile oral verildi. 2. haftanın sonunda Tetrasiklin alımı kesilerek sonrasında 2 hafta daha Amlodipin verilmeye devam edildi.

Grup 6 (n=7):Tetrasikin +Mangiferin grubu olup, 2 hafta süresince Tetrasiklin 200 mg/kg doz ile verilirken eş zamanlı olarak Mangiferin de 20 mg/kg doz ile verildi. 2. haftanın sonunda Tetrasiklin alımı kesilerek sonrasında 2 hafta daha Mangiferin verilmeye devam edildi.

3.1.4.Deney Gruplarının Oluşturulması

DeneySEL aşamaya geçildiğinde hayvan refahını korumak amacıyla bütün hayvanların ağırlıkları teker teker ölçülerek her birine Ketamin Hidroklorür 90 mg/kg ve Xylazine Hidroklorür 10 mg/kg intraperitoneal yapılarak hayvanlar genel anesteziye alındı. Sedasyon kontrolü parmak kıstırma hareketi ile kontrol edildikten sonra tüm ratlar anestezi masasına supine pozisyonunda yatırılarak batın orta hattın laparotomi ile batın açıldı. Kalpten ekzanguinsiyon ile kan alınması sonucu tüm ratlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dk süre ile 10 dk santrifüje edilerek serum kısımlarına ayrıştırıldı. Biyokimyasal incelemeler amacıyla -80 °C' de saklandı. Karaciğer dokuları ise %10 formaldehit içerisinde Histoloji/Embriyoloji laboratuvarına gönderildi. Oluşan atıklar, imha edilmek üzere görevli personellere teslim edildi.

3.2.Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda tüm gruplardaki ratlardan alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplerde, 3000 devir/dk ile 10 dk santrifüj edildi. Toplam Antioksidan (TAS) ve Oksidan (TOS) durumları ölçümü ile birlikte serum alanin aminotransferaz (ALT) ve apartat aminotransferaz (AST) düzeylerine bakıldı.

3.3.Total Antioksidan Kapasitesi (TAS)

Vücutta meydana gelen serbest radikallerin antioksidan kapasitesini ölçen önemli bir yöntemdir. Serumlarına ayrılan plazma sıvısı Rel Assay Diagnostic (Gaziantep)'den temin edilen kitler kullanılarak TAS $\mu\text{mol/L}$ düzeyleri ölçüldü. TAS $\mu\text{mol/L}$ (mikromolar/litre) ölçü birimi olarak $\mu\text{mol/L}$ ve okuma cihazı olarak Beckman Coulter marka AU 5800 model cihaz kullanıldı. Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem kullanıldı (63).

3.4.Total Oksidan Kapasitesi (TOS)

Serumlarına ayrılan plazma sıvısı Rel Assay Diagnostic (Gaziantep)'den temin edilen kitler kullanılarak TOS mmol/L (milimolar/litre) düzeyleri ölçüldü. Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem kullanıldı (64).

3.5.Rutin Histolojik Takip

Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan karaciğer dokuları %10 formaldehit (Sigma #SZBE2450V) içerisinde 24 saat fikse edildikten sonra küçültülerek 24 saat daha bekletildi. Fiksasyon sonrası 12 saat çeşme suyunda yıkanan dokular dehidrasyon için artan alkol serilerinden geçirildi.

Sırasıyla % 70-80-96 alkol serilerinde birer saat bekletilerek, son olarak %100 alkolde 30 dk bekletildi. Xylene I ve Xylene II'de 30 dk şeffaflaştırıldı ve parafin içerisine alındı. Parafin I ve II' de birer saat bekletildikten sonra gömüldü. Alınan kesitler 5 μm kalınlığında pozitif şarjlı lamlara alınarak histolojik incelemeler amacıyla farklı boyalarla boyandı. Boyama öncesi 1 saat 58°C'deki etüvde parafin depolimerize edildi.

3.5.1.Hematoksilen & Eozin Boyama Protokolü

Rutin histopatolojik değerdendirmelerde yaygın olarak kullanılan bir boyama yöntemidir. Alınan kesitler Xylene içerisinde iki defa 15'er dk bekletilerek deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek (sırasıyla %100- 96-80-70) her birinde 5 dakika bekletildi. Hücre çekirdeklerini boyaması için Harris Hematoksilen solüsyonu kullanıldı. Çeşme suyunda 5 dk yıkandıktan sonra, hücre stoplazmasını boyaması için Eozin de 2 dk bekletildi. Sonrasında tekrar artan alkol serilerinden geçirilerek şeffaflaştırma işlemi yapıldı ve entellan ile kapatıldı. Işık mikroskobu altında incelemeler yapıldı.

3.5.2.Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Protokolü

Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler Xylene içerisinde iki defa 15'er dk bekletilerek deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek (sırasıyla %100- 96-80-70) her birinde 5 dakika bekletildi. PAS boyama kit prosedürü (Bioptica) uygulanarak boyandı. Üzerinde A solüsyonu yazan kitten dokuların üzerine 10 damla damlatılarak 30 dakika bekletildi. Sonrasında yıkama işlemi yapılmadan dokunun tamamını kaplayacak şekilde B solüsyonu damlatılarak 10 dk daha bekletildi. Kesitler çeşme suyunda 5 dakika yıkandıktan sonra, distile suya alınarak 2 dk daha yıkandı. Üzerinde C solüsyonu yazan kitten dokunun tamamını kaplayacak şekilde damlatılarak 10 dk bekletilip, akabinde distile su ile çalkalandı. Üzerinde D solüsyonu yazan kitten dokunun tamamını kaplayacak şekilde damlatılarak 20 dk bekletilip, akabinde distile su ile çalkalandı. Sonrasında E solüsyonu damlatılıp, 2 dk daha bekletildi. Kesitler yıkanmadan sadece üzerindeki solüsyon fazlalığı alınarak üzerlerine F solüsyonundan damlatıldı ve 3 dk bekletildikten sonra distile suda yıkandı. Son olarak G solüsyonundan 10 damla damlatılarak 2 dakika daha bekletildikten sonra oluşan boya fazlalığı giderilinceye kadar yıkandı. . Sonrasında tekrar artan alkol serilerinden geçirilerek şeffaflaştırma işlemi yapıldı ve entellan ile kapatıldı. Işık mikroskobu altında incelemeler yapıldı.

3.6.İmmunohistokimyasal Yöntemler

Rutin histolojik doku takibi sonrasında alınan kesitlere APAF-1 ve Il-6 primer antikor boyaması yapıldı.

Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Xylene içerisinde iki defa 15'er dk bekletilerek deparafinize edildi. . Kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek (sırasıyla %100- 96-80-70) her birinde 5 dakika bekletilerek distile suya kadar getirildi. Etilen diamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonuna alınarak mikrodalga fırında 3x6 dk

ısıtıldı ve 15 dk oda sıcaklığına gelene kadar soğumaya alındı. Tamponlanmış fosfat salin (PBS) çözeltisinde 3x15 dk yıkandı ve hidrofobik kalemle doku sınırları belirlenerek %3'lük H₂O₂'de bekletilip, 20 dakika süreyle endojen peroksit blokajı gerçekleştirildi. Tekrar PBS çözeltisinde 3x15 dk süreyle yıkandı. Dokulara Ultra V Block solüsyonundan damlatılarak 7 dk boyunca inkübe edildi. Dokular yıkamaya alınmadan antibody diluent ile 1/250 oranında dilüe edildi ve 4 °C'de gece boyunca buzdolabında bekletildi. Ertesi sabah oda sıcaklığına gelmesi için 1 saat beklendikten sonra PBS ile 3x5 dk yıkandı. Kesitlere anti rabbit sekonder antikor ile muamele edilerek 30 dk beklendi ve hemen ardından PBS ile 3x5 dk yıkandı. Streptavidin peroksidaz ile inkübe edildikten sonra PBS ile 3x5 dk yıkandı. Son olarak 3,3'diaminobenzidine (DAB) kromojen ile reaksiyona tabi tutuldu. Işık mikroskobu altında incelenen dokular spesifik tutulum gösterdikten sonra PBS'e alınarak reaksiyon sonlandırıldı. 40 saniye Gill Hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra 5 dk akar suda yıkama yapıldı ve artan alkol serilerinden geçirildi. Rutin histolojik takip aşamaları uygulandı.

3.7.Morfolojik ve İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows version 20 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) istatistik programında yapıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini değerlendirmek için Shapiro Wilk testi uygulandı. Normal dağılım gösteren verilere, parametrik testlerden Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testi uygulanırken, normal dağılım göstermeyen verilere ise Kruskal Wallis-H testi uygulandı. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için ise; Mann Whitney-U testi yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ değeri durumunda anlamlı olarak kabul edildi.

Histopatolojik değerlendirmede H&E ve PAS ile boyanan dokular ışık mikroskobu ile değerlendirilerek karaciğer hasarının şiddeti aşağıdaki gibi değerlendirildi:

- Grade 0: Hasar yok veya minimum hasar söz konusu.
- Grade 1: sitoplazmikvakuolasyon ve fokal nükleer piknozun eşlik ettiği hafif hasar söz konusu.
- Grade 2: sitoplazmikvakuolizasyon ile orta derecede hasar, nekrotik olmayan hepatosit hücrelerinde balonlaşma, sinüzoidal genişleme veya tıkanıklık, ve hücreler arası sınır kaybı,
- Grade 3: nekroze olmuş hepatositler, sitoplazmik hipereozinofili, yaygın sinüzoidal dilatasyon veya tıkanıklığın eşlik ettiği orta şiddetli hasar,

- Grade 4: yaygın nekrotik alanların eşlik ettiği doku kaybı, hepatik kordlarda parçalanma ve kanama (65).

İmmünohistokimyasal değerlendirmede Il-6 ile APAF-1 ile boyanan karaciğer dokularının ışık mikroskopik incelemesinde oluşan immünreaktivitenin yaygınlığı:

- 0.1: <%25,
- 0.4: %26-50,
- 0.6: %51-75,
- 0.9: %76-100)

immünreaktivitenin şiddeti:

- 0: yok,
- +0.5: çok az,
- +1: az,
- +2: orta,
- +3: şiddetli

olarak skorlanıp bir histoskorlama oluşturuldu.

Histoskor = Yaygınlık X Şiddet olarak belirlendi (66).

4.BULGULAR

4.1.Biyokimyasal Analizler

Karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla bakılan AST ve ALT değerlerinin istatistiksel analizinde;

Kontrol grubunun AST ve ALT değerlerinin Tetrasiklin grubu ile Tetrasiklin+ Amlodipin ve Tetrasiklin+ Mangiferin grubundan anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p<0,05$) .

Tetrasiklin grubunun AST ve ALT değerlerinin Tetrasiklin+ Amlodipin grubundan anlamlı farklılık göstermediği ($p>0,05$), diğer bütün gruplardan anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$).

Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun AST ve ALT değerlerinin Tetrasiklin+ Amlodipin grubundan anlamlı olarak düşük olduğu izlendi ($p<0,05$) (Tablo 3).

Table 1. Biyokimyasal analizleri yapılan AST ve ALT değerlerinin istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.

GRUPLAR	AST (μ /l)	ALT (μ /l)
Kontrol	63,28 $\pm$ 17,40 ^{b,e,f}	52,57 $\pm$ 12,68 ^{b,e,f}
Tetrasiklin	503,28 $\pm$ 187,13 ^{a,c,d}	326,00 $\pm$ 77,65 ^{a,c,d}
Amlodipin	76,42 $\pm$ 7,59 ^{b,e,f}	57,71 $\pm$ 12,37 ^{b,e,f}
Mangiferin	57,42 $\pm$ 14,52 ^{b,e,f}	54,14 $\pm$ 15,93 ^{b,e,f}
Tetrasiklin+ Amlodipin	228,58 $\pm$ 53,49 ^{a,c,d,f}	192,57 $\pm$ 25,23 ^{a,c,d,f}
Tetrasiklin+ Mangiferin	112,57 $\pm$ 34,92 ^{a,b,c,d,e}	119,85 $\pm$ 25,48 ^{a,b,c,d,e}

AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine aminotransferase. a: Kontrolden farklı, b: Tetrasiklinden farklı, c: Amlodipinden farklı, d: Mangiferinden farklı, e: Tetrasiklin+Amlodipinden farklı, f: Tetrasiklin+ Mangiferinden farklı.

4.2.TAS ve TOS Analizleri

TAS değerleri açısından gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu;

Kontrol grubunun TAS değeri ile Tetrasiklin grubunun TAS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi ($p<0,05$). Tetrasiklin grubunun TAS değeri diğer çalışma gruplarından oldukça düşüktü (Tablo 4).

TOS değerleri açısından gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu;

Tetrasiklin grubunun TOS değerleri diğer çalışma gruplarından anlamlı derecede yüksek izlendi ($p<0,05$). Tetrasiklin+ Amlodipin grubuna ait TOS değerlerine bakıldığında ise Tetrasiklin+ Mangiferin grubundan daha yüksek olduğu ($p<0,05$) (Tablo 4).

Table 2. Biyokimyasal analizleri yapılan TAS ve TOS değerlerinin istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.

GRUPLAR	TAS ($\mu\text{mol/L}$)	TOS (mmol/L)
Kontrol	$2,19 \pm 0,62^b$	$54,96 \pm 5,71^{b,e}$
Tetrasiklin	$1,31 \pm 0,17^a$	$140,83 \pm 31,80^{a,c,d,e,f}$
Amlodipin	$1,66 \pm 0,15$	$47,09 \pm 10,64^{b,e}$
Mangiferin	$1,61 \pm 0,13$	$54,50 \pm 8,99^{b,e}$
Tetrasiklin+ Amlodipin	$1,62 \pm 0,16$	$93,26 \pm 6,59^{a,b,c,d,f}$
Tetrasiklin+ Mangiferin	$1,83 \pm 0,12$	$49,87 \pm 7,70^{b,e}$

TAS – total antioksidan status ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L); TOS – total oksidan status ($\text{mmol Trolox equivalent/L}$). a: Kontrolden farklı, b: Tetrasiklinden farklı, c: Amlodipinden farklı, d: Mangiferinden farklı, e: Tetrasiklin+Amlodipinden farklı, f: Tetrasiklin+ Mangiferinden farklı.

4.3.Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik hasar gradelemesi yapılan karaciğer dokularının istatistiksel incelemelerinde;

Kontrol grubu ile Mangiferin ve Amlodipin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı, hasar skorlamalarının birbirlerine yakın olduğu izlendi ($p>0,05$).

Tetrasiklin grubu ile Tetrasiklin+Amlodipin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı izlenirken ($p>0,05$), diğer çalışma grupları arasında Tetrasiklin grubunun en yüksek hasar skorlamasına sahip olduğu görüldü ($p<0,05$).

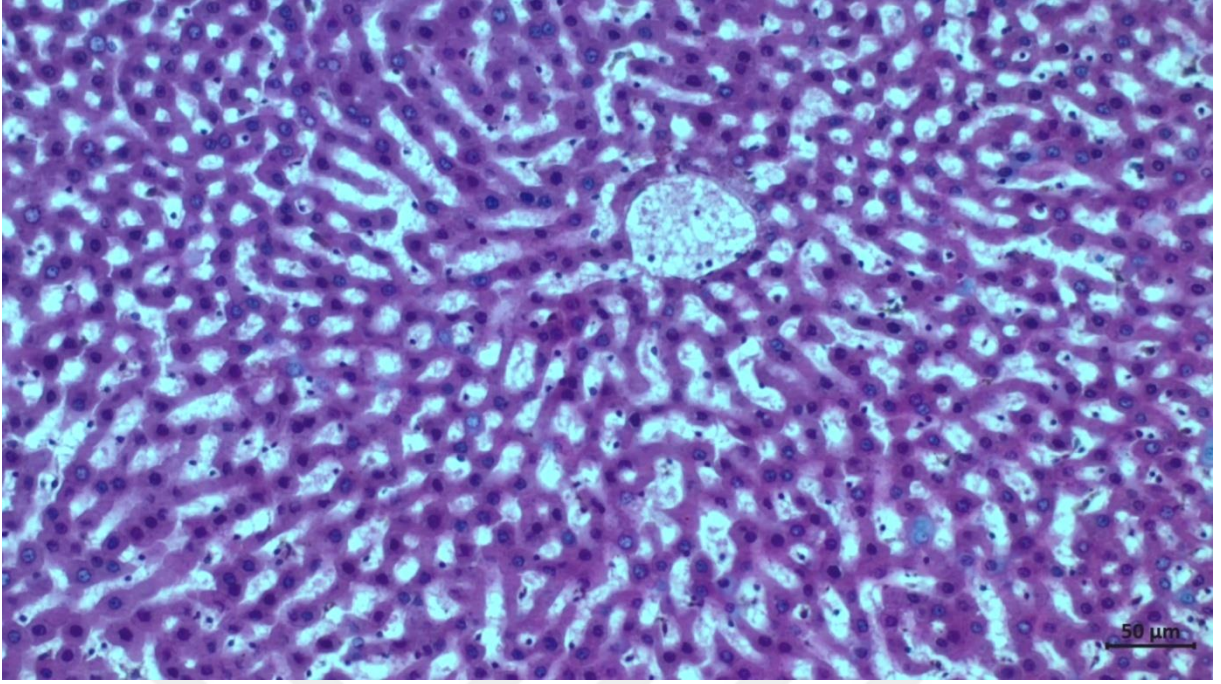
Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun karaciğer hasar skorlaması Tetrasiklin+ Amlodipin grubundan anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5).

Table 3. Histopatolojik değerlendirmede karaciğer hasar gradelemesi yapılan dokuların istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.

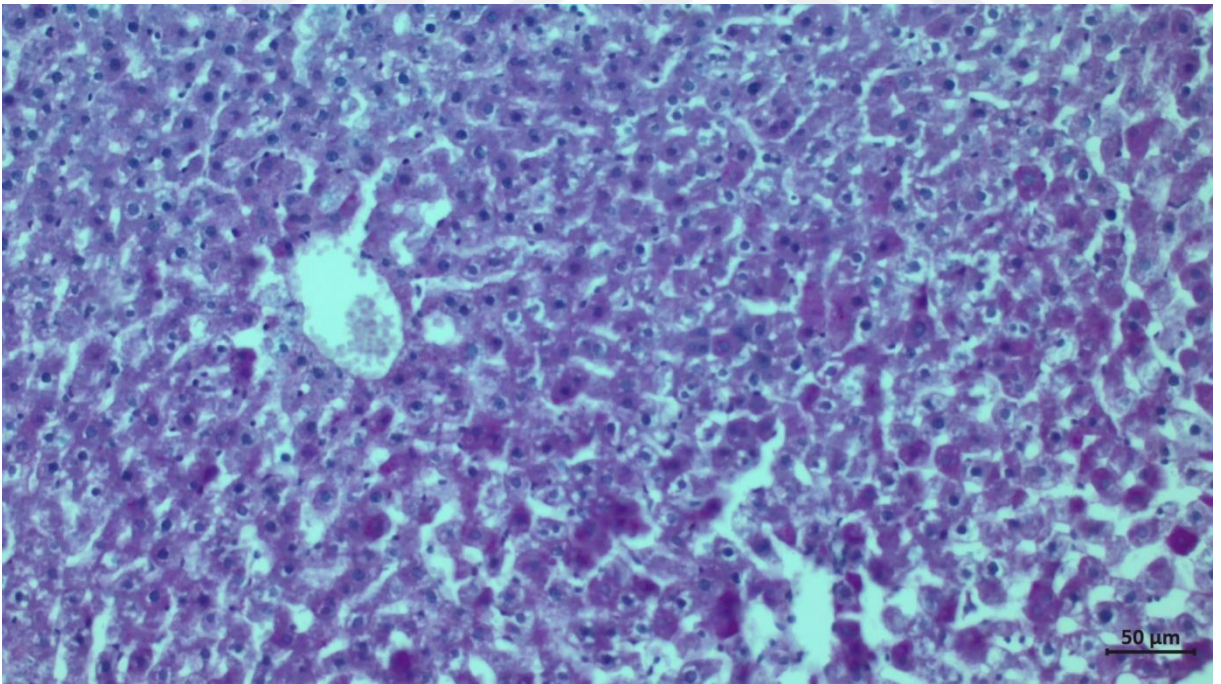
GRUPLAR	Histopatolojik Gradeleme
Kontrol	$0,14 \pm 0,37^{b,e,f}$
Tetrasiklin	$3,85 \pm 0,37^{a,c,d,f}$
Amlodipin	$0,28 \pm 0,48^{b,e}$
Mangiferin	$0,14 \pm 0,37^{b,e,f}$
Tetrasiklin+ Amlodipin	$2,57 \pm 0,78^{a,c,d,f}$
Tetrasiklin+ Mangiferin	$1,14 \pm 0,37^{a,b,d,e}$

a: Kontrolde farklı, b: Tetrasiklinden farklı, c: Amlodipinden farklı, d: Mangiferinden farklı, e: Tetrasiklin+Amlodipinden farklı, f: Tetrasiklin+ Mangiferinden farklı.

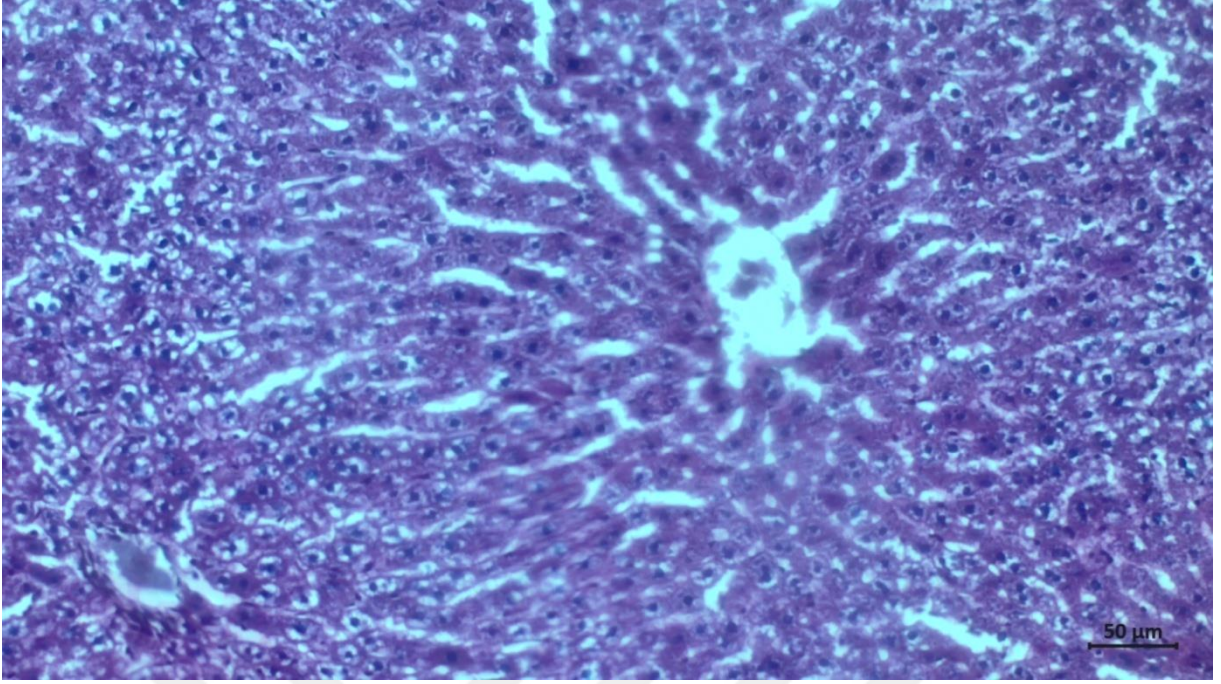
Histopatolojik incelemelerde H&E ve PAS ile boyanan karaciğer dokuları ışık mikroskobu altında incelendiğinde; Kontrol grubu (Şekil 5, 6) ile Amlodipin (Şekil 7, 8) ve Mangiferin (Şekil 9, 10) gruplarının karaciğer dokularının histolojik görünümünün normal yapıda olduğu izlendi. Hepatositler genel olarak merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip olup, hepatosit kordonları arasındaki sinüzoidler normal görünümdeydi. Glikojen yoğunluğunu değerlendirmek amacıyla yaptığımız PAS boyama sonucu; hepatositlerde depolanan glikojen yoğunluğu normal görünümde izlendi.



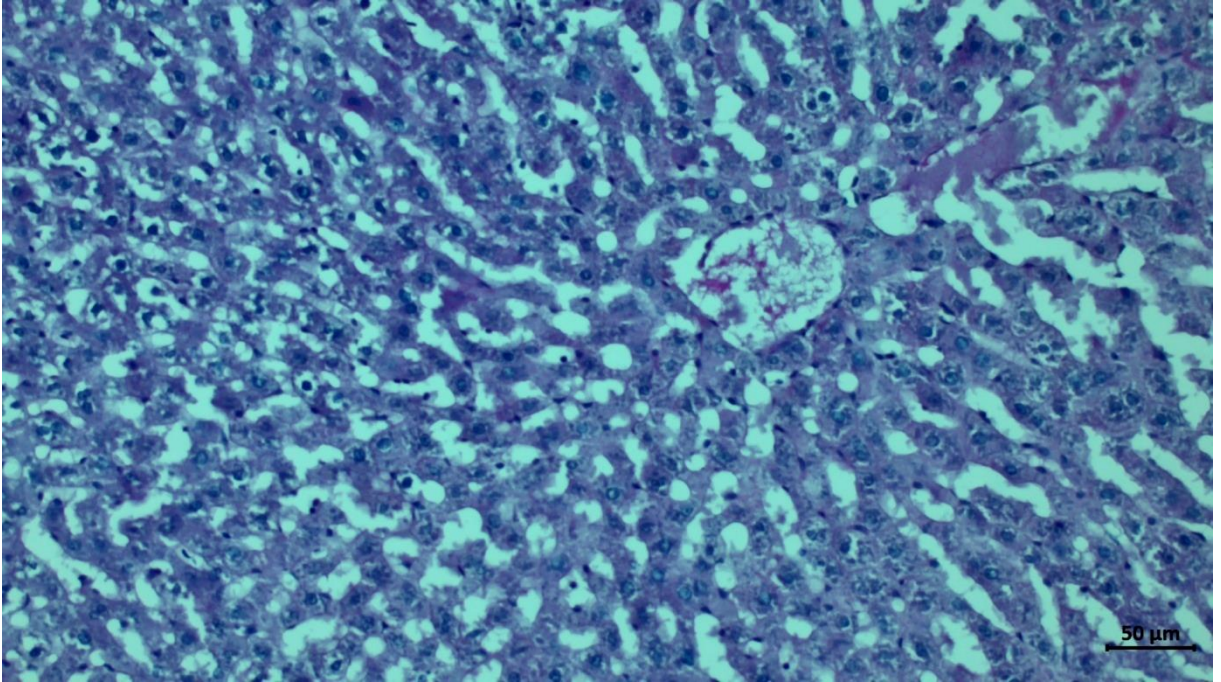
Şekil 5. Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Normal görünümde vena sentralis ve sinüzoidal dizilim. (H&E, Bar 50 µm).



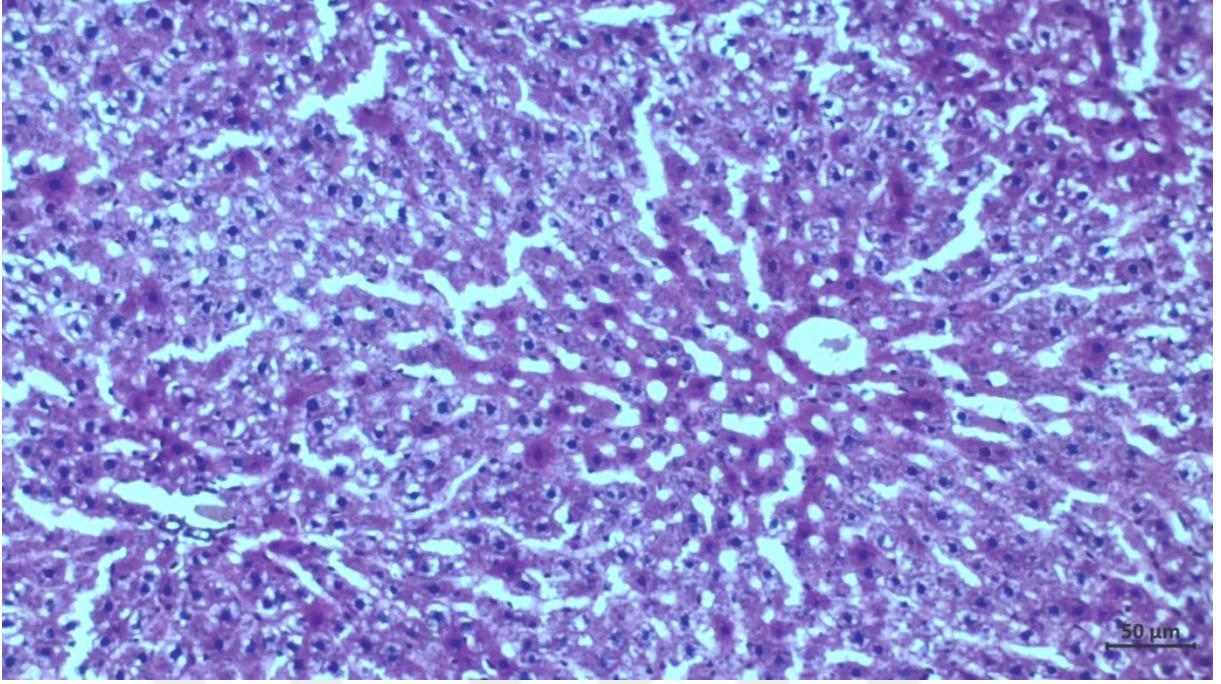
Şekil 6. Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf.. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).



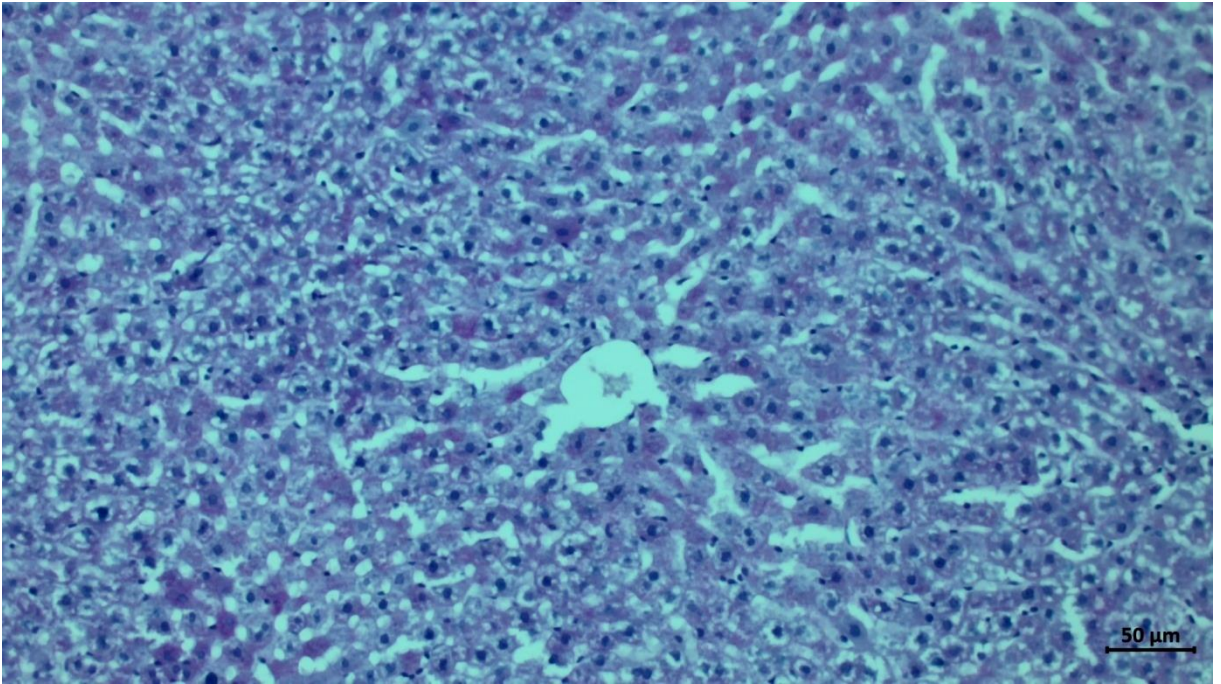
Şekil 7. Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Normale yakın görünümde vena sentralis ve sinüzoidal dizilim (H&E, Bar 50 µm).



Şekil 8. Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).



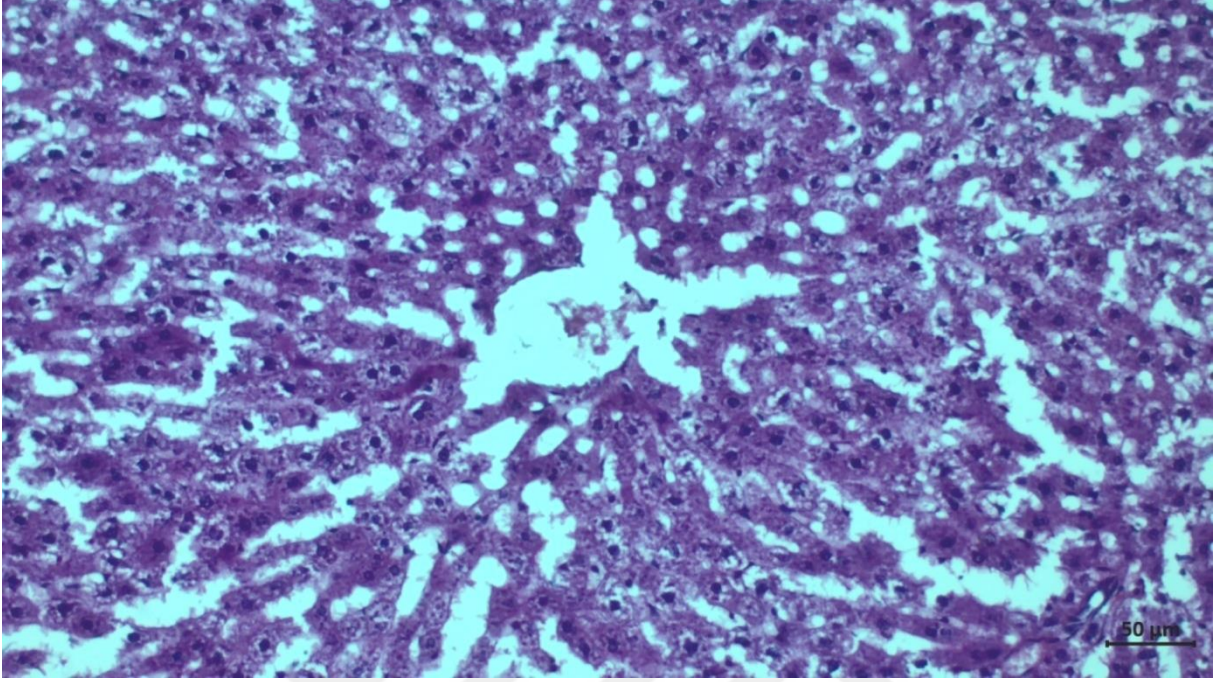
Şekil 9. Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Kontrole oldukça yakın görünümde karaciğer dokusu (H&E, Bar 50 µm).



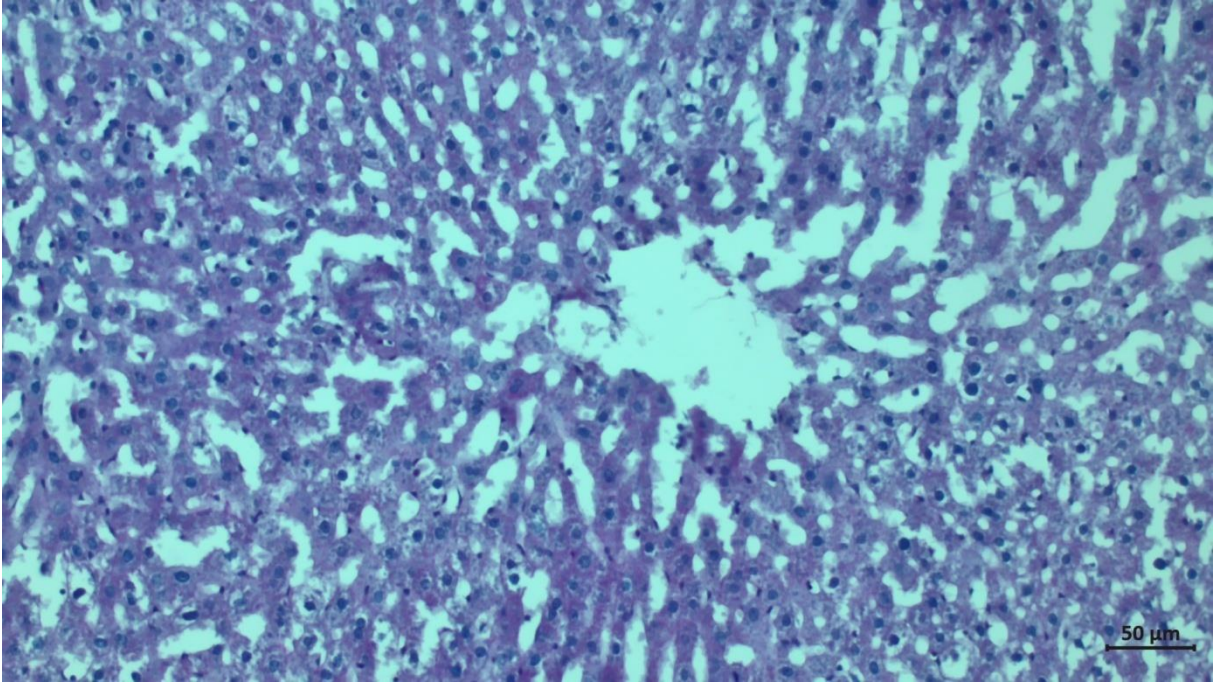
Şekil 10. Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusunda normal glikojen birikimi (PAS, Bar 50 µm).

Tetrasiklin grubunun H&E ve PAS boyaması sonucu; karaciğer dokusunda hemoraji, sinüzoidal kordon yapısında dilatasyon, hepatositlerin sıralı ışımsal diziliminde bozulma, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sentrolobüler nekroz ve çok sayıda piknotik hücreler izlendi

(Şekil 11). PAS boyama sonucu; hepatositlerin glikojen yoğunluğunda belirgin bir azalma görüldü (Şekil 12).

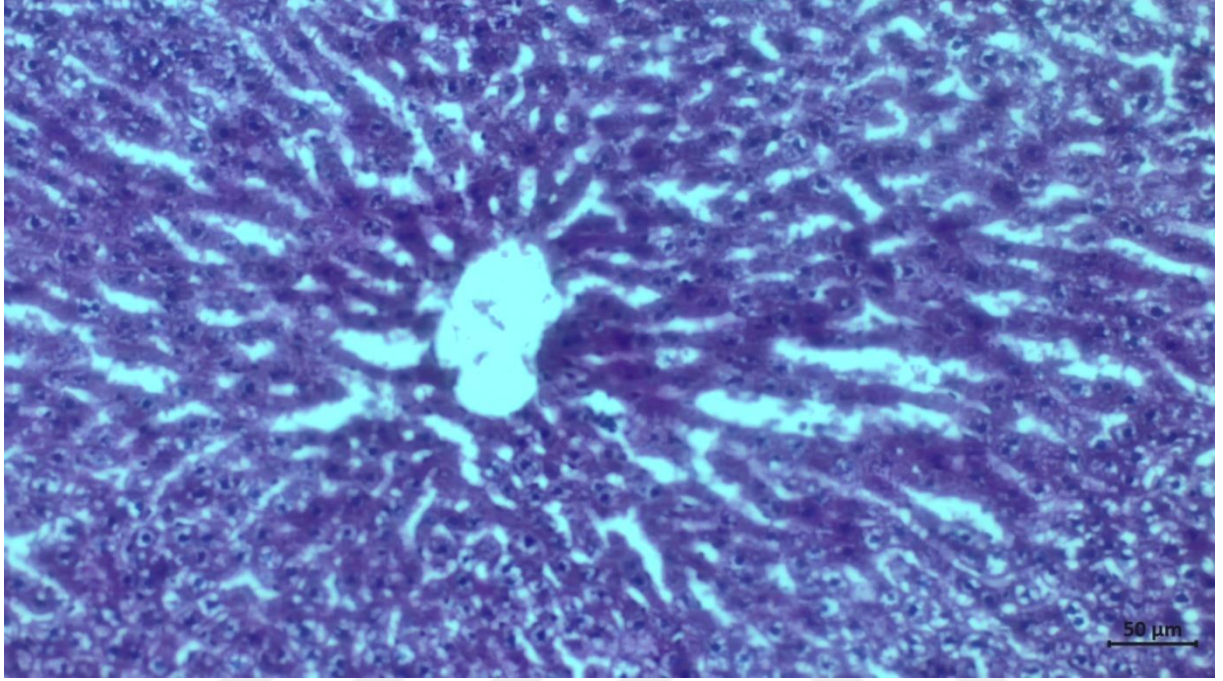


Şekil 11. Tetrasiklin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrogram. Karaciğer dokusunda hemoraji, sinüzoidlerde genişleme, hepatositlerin ışınsal diziliminde bozulma (H&E, Bar 50 µm).

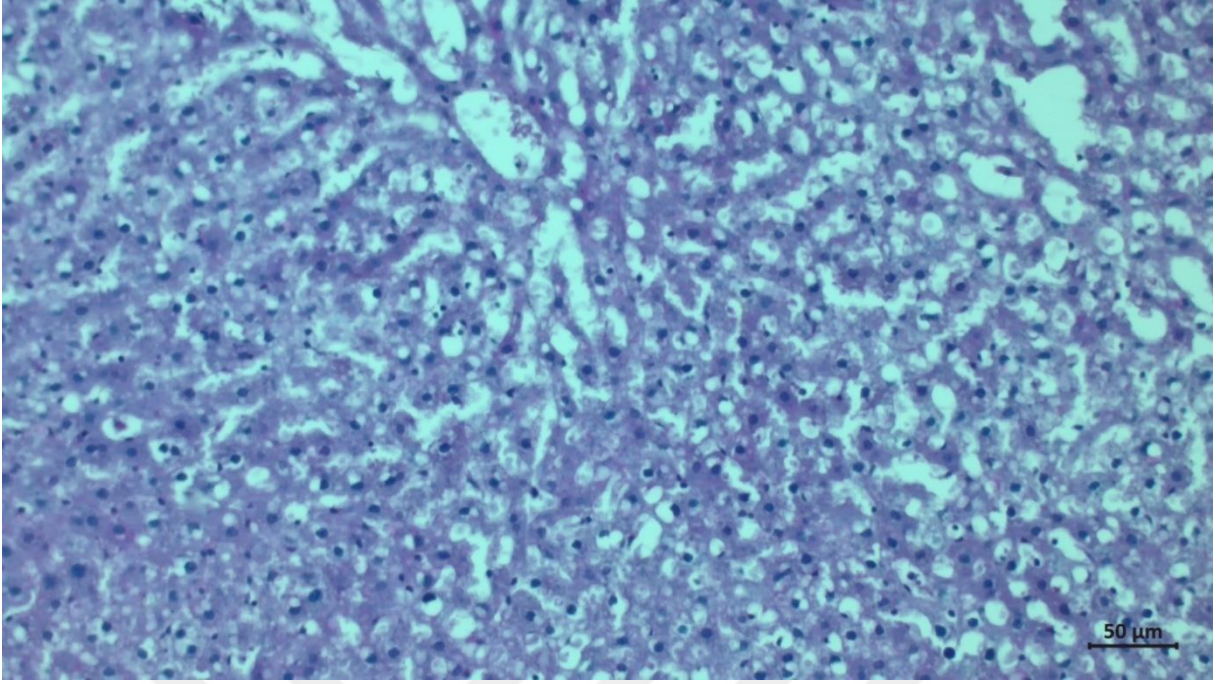


Şekil 12. Tetrasiklin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrogram. Karaciğer dokusunda azalmış glikojen depolanması (PAS, Bar 50 µm).

Tetrasiklin+Amlodipin grubunun H&E ve PAS boyaması sonucu; Tetrasiklin grubuna kıyasla konjesyonun azaldığı, sinüzoidal dilatasyonun ve hepatositlerde piknozun devam ettiği görülürken, diğer histopatolojik bulgularda azalma olduğu izlendi (Şekil 13). Hepatositlerdeki glikojen yapısının oluşmaya başladığı gözlemlendi (Şekil 14).

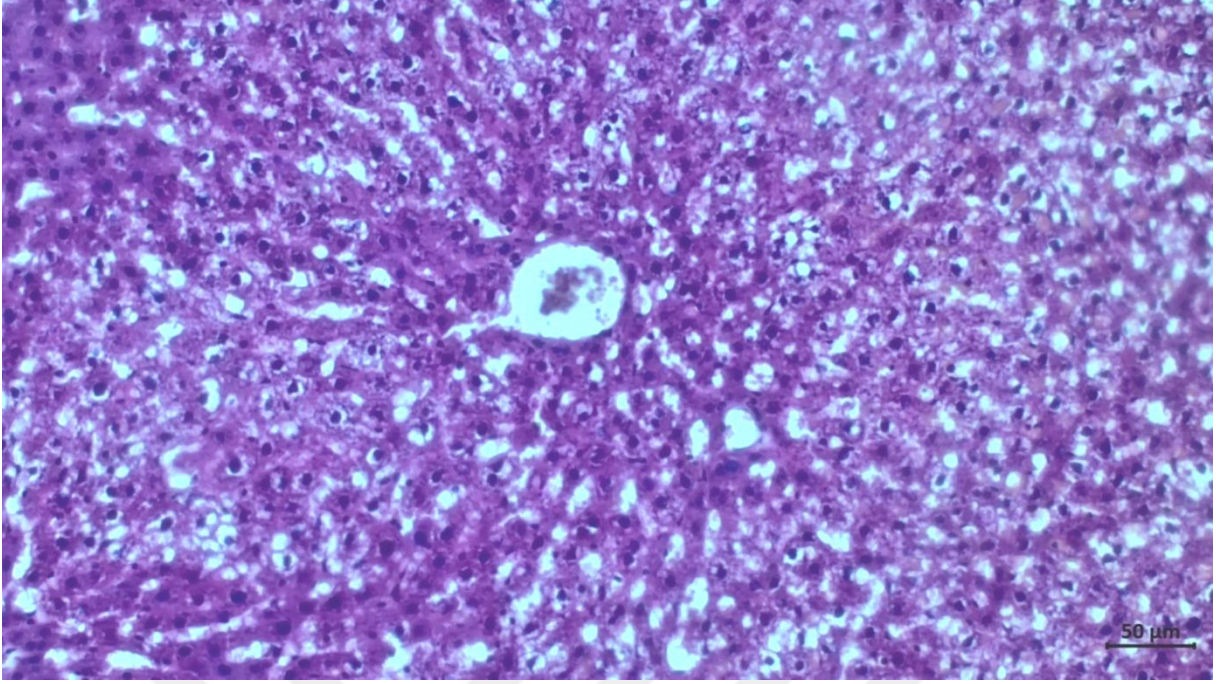


Şekil 13. Tetrasiklin+Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Sinüzoidal dilatasyonda ve piknotik hepatositlerde azalma (H&E, Bar 50 µm).

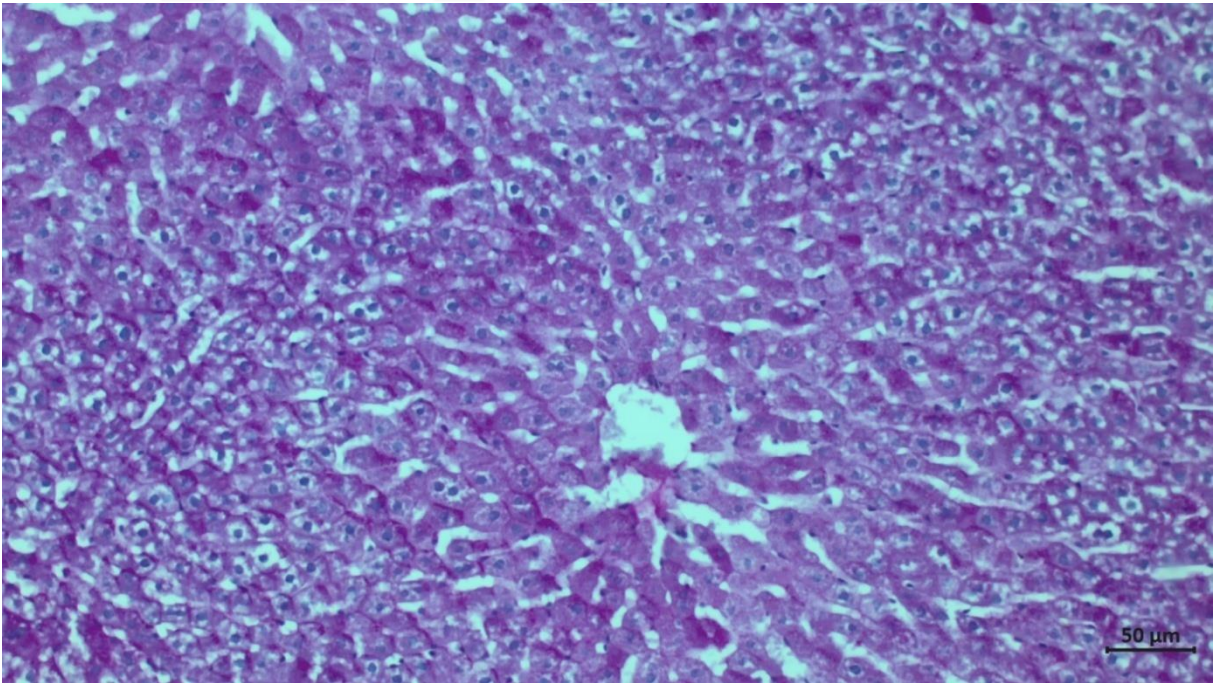


Şekil 14. Tetrasiklin+Amlodipin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusundaki glikojen yoğunluğunun yeniden oluşması (PAS, Bar 50 µm).

Tetrasiklin+Mangiferin grubunun karaciğer dokusu ışık mikroskopik incelemesinde; Tetrasiklin ve Tetrasiklin+Amlodipin gruplarına kıyasla daha normal görünümde hepatik yapı izlendi. Sentrolobüler nekrozda belirgin iyileşme, konjesyonda iyileşme ve piknotik hepatositlerde azalma olduğu görüldü (**Şekil 15**). Hepatositlerdeki glikojen yoğunluğu normale yakın görünümdeydi (**Şekil 16**).



Şekil 15. Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Normal görünümde vena sentralis, oldukça az sayıda piknotik hücreler, ışınal dizilimin yeniden oluşumu (H&E, Bar 50 µm).



Şekil 16. Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun karaciğer dokusuna ait mikrograf. Karaciğer dokusundaki glikojen yoğunluğunun artması (PAS, Bar 50 µm).

4.4.İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Karaciğer dokusu Il-6 ve Apaf-1 immünreaktivite ekspresyonları açısından değerlendirildiğinde hepatositlerdeki stoplazmik boyanma baz alındı. Boyanmanın v. Centralis ve civarında yoğun tutulum gösterdiği izlendi. Boyanmanın yaygınlığına ve şiddetine göre histoskorlaması yapıldığında;

Kontrol grubu ile Amlodipin ve Mangiferin gruplarının histoskorlamaları arasında anlamlı fark görülmezken ($p>0,05$) en düşük histoskorlamanın kontrol grubunda olduğu izlendi. Tetrasiklin grubuna ait skorlama değerlendirildiğinde ise; çalışma grubundaki bütün gruplardan daha yüksek olduğu izlendi ($p<0,05$). Mangiferin grubu ile Amlodipin grupları kıyaslandığında iki grup arasında histoskorlama açısından fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Tetrasiklin+ Amlodipin grubu ile Tetrasiklin+ Mangiferin grubunun histoskorlaması arasında anlamlı fark olmadığı izlendi ($p>0,05$) (**Table 6**).

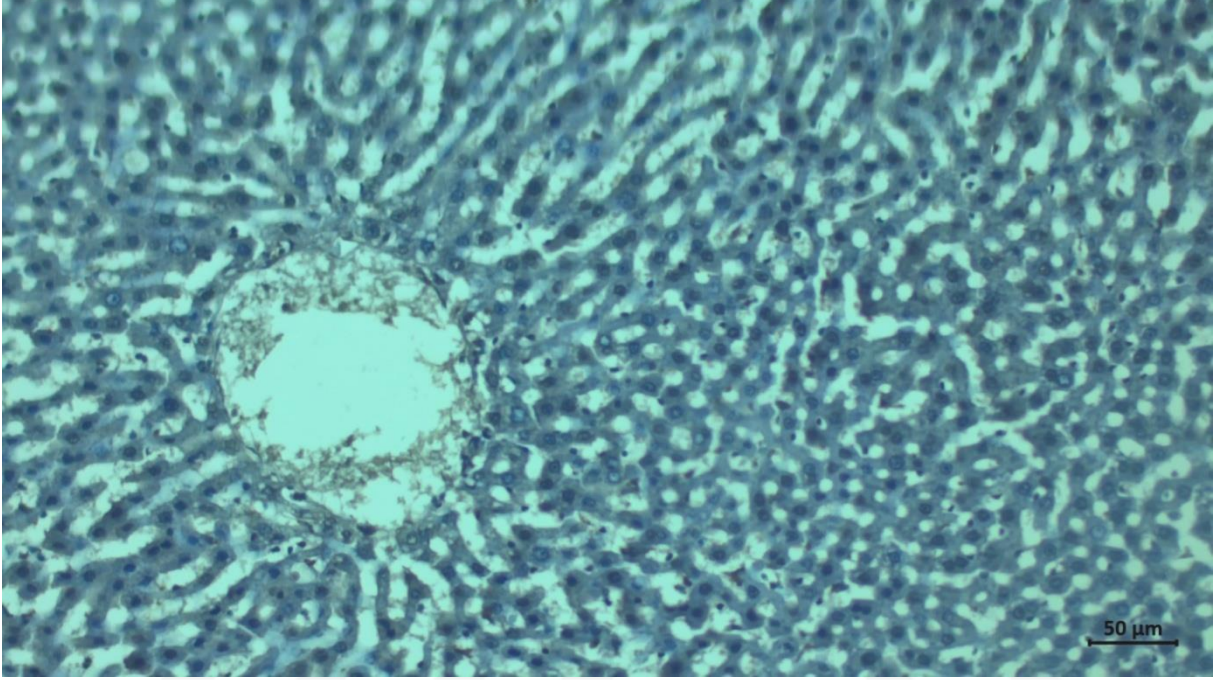
Table 4. Histoskorlaması yapılan karaciğer dokularının istatistiksel analizinin Ortalama $\pm$ Standart sapma değerleri.

GRUPLAR	Histoskor
Kontrol	0,02 $\pm$ 0,02 ^{b,e,f}
Tetrasiklin	2,44 $\pm$ 0,43 ^{a,c,d,e,f}
Amlodipin	0,31 $\pm$ 0,46 ^b
Mangiferin	0,04 $\pm$ 0,01 ^{b,e,f}
Tetrasiklin+ Amlodipin	0,62 $\pm$ 0,29 ^{a,b,d}
Tetrasiklin+ Mangiferin	0,37 $\pm$ 0,29 ^{a,b,d}

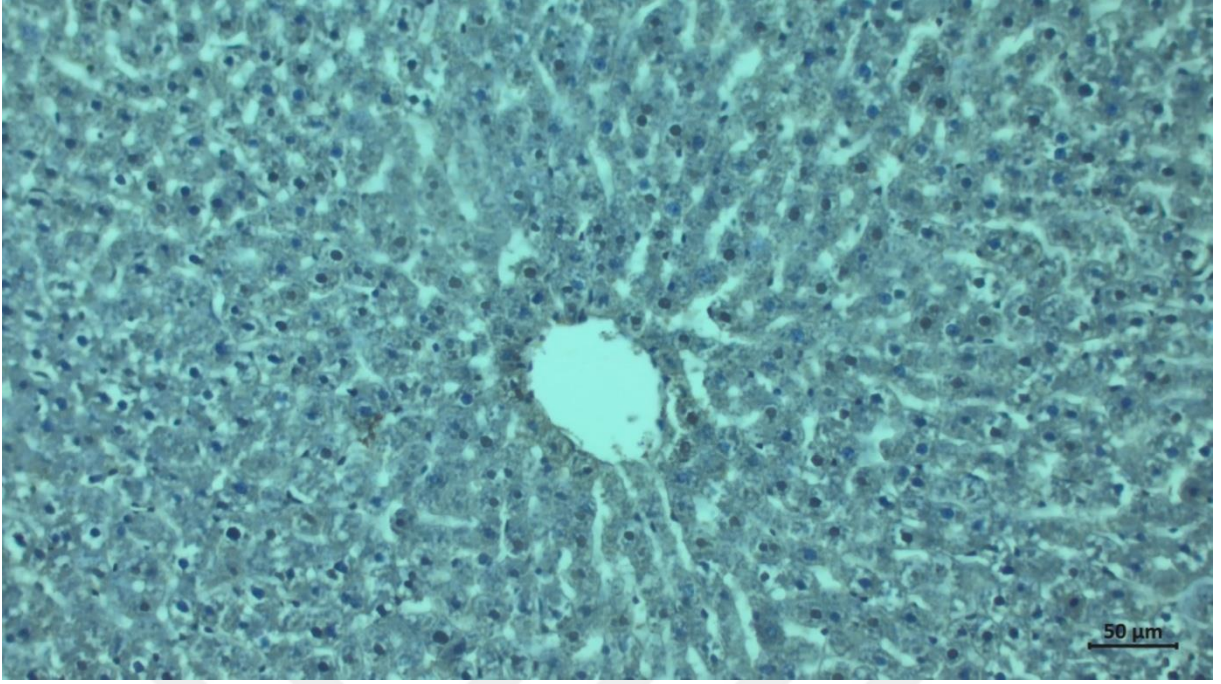
Histoskor= Yaygınlık x Şiddet. a: Kontrolden farklı, b: Tetrasiklinden farklı, c: Amlodipinden farklı, d: Mangiferinden farklı, e: Tetrasiklin+Amlodipinden farklı, f: Tetrasiklin+ Mangiferinden farklı.

Karaciğer dokusunun ışık mikroskopik incelemelerinde; Kontrol grubu (Şekil 17, 18) ile Amlodipin (Şekil 19, 20) ve Mangiferin (Şekil 21, 22) gruplarında Il-6 ve APAF-1

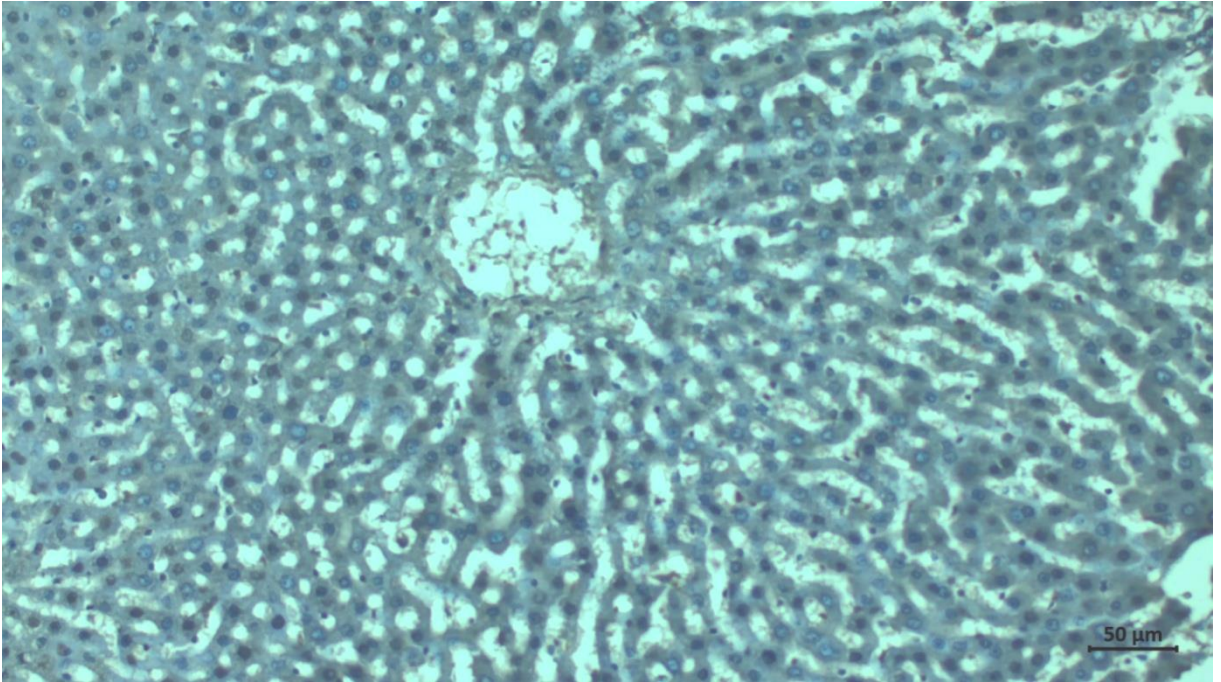
ekspresyonları yok veya çok az şiddet gösterdiği izlendi. Tetrasiklin grubunda ise yoğun pozitif ekspresyonlar şiddetli görüldü (Şekil 23, 24). Tetrasiklin+ Amlodipin grubunda ekspresyonların Tetrasiklin grubuna kıyasla daha çok hafiflediği ve orta şiddette olduğu görüldü (Şekil 25, 26). Tetrasiklin+ Mangiferin grubunda ekspresyonlar az veya orta şiddette görüldü (Şekil 27,28).



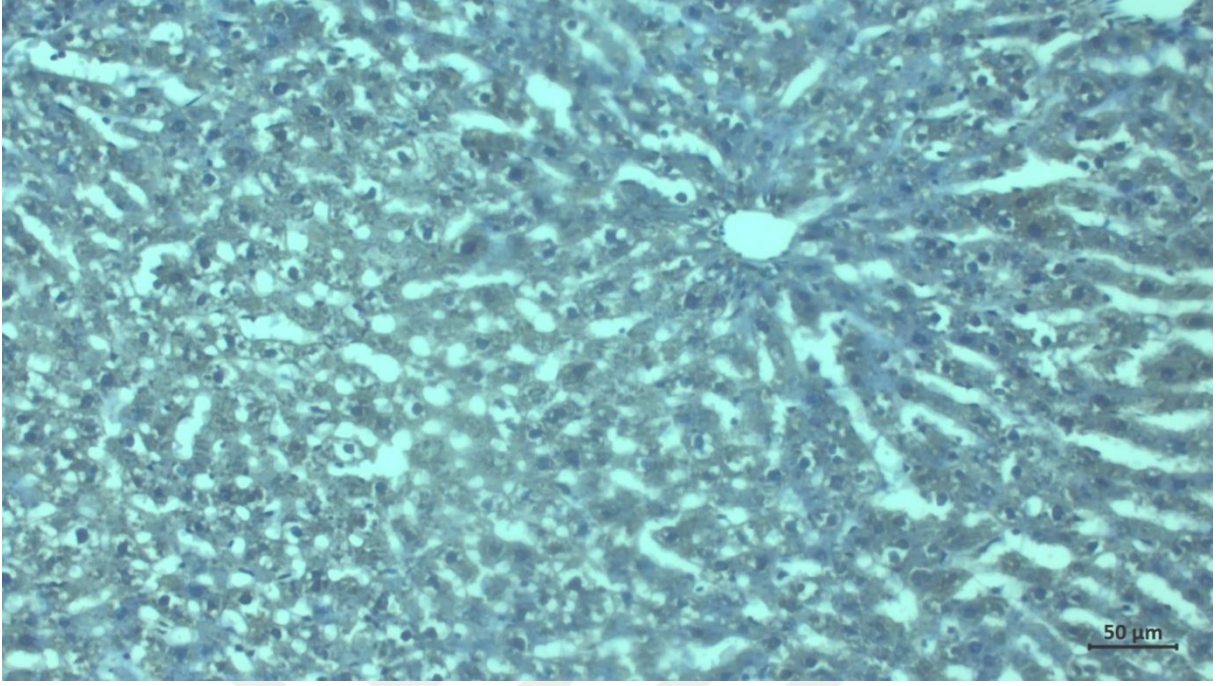
Şekil 17. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (H-E, Bar 50 µm).



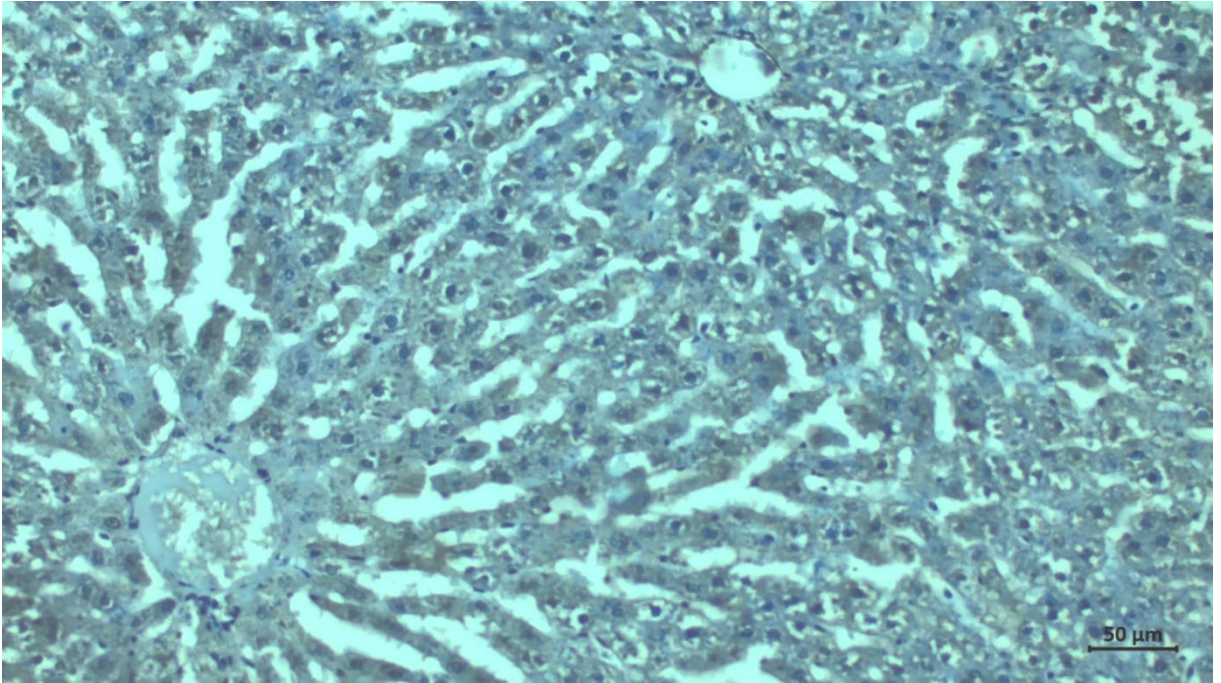
Şekil 18. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Apaf-1, Bar 50 µm).



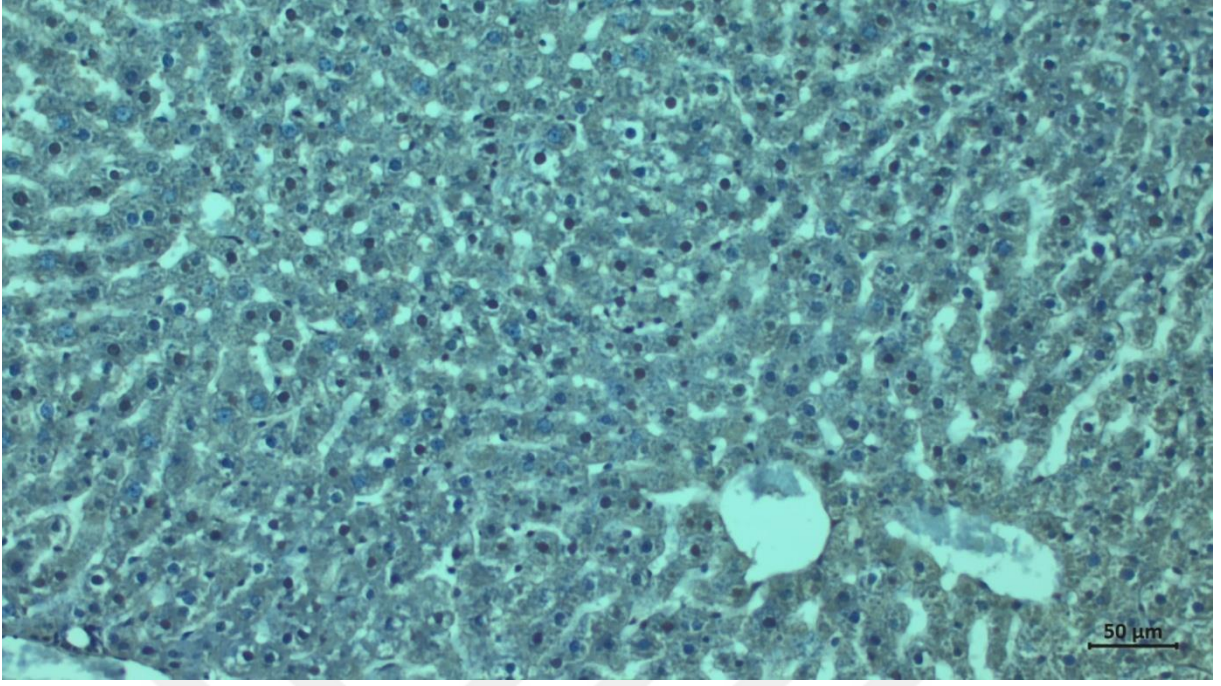
Şekil 19. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Il-6, Bar 50 µm).



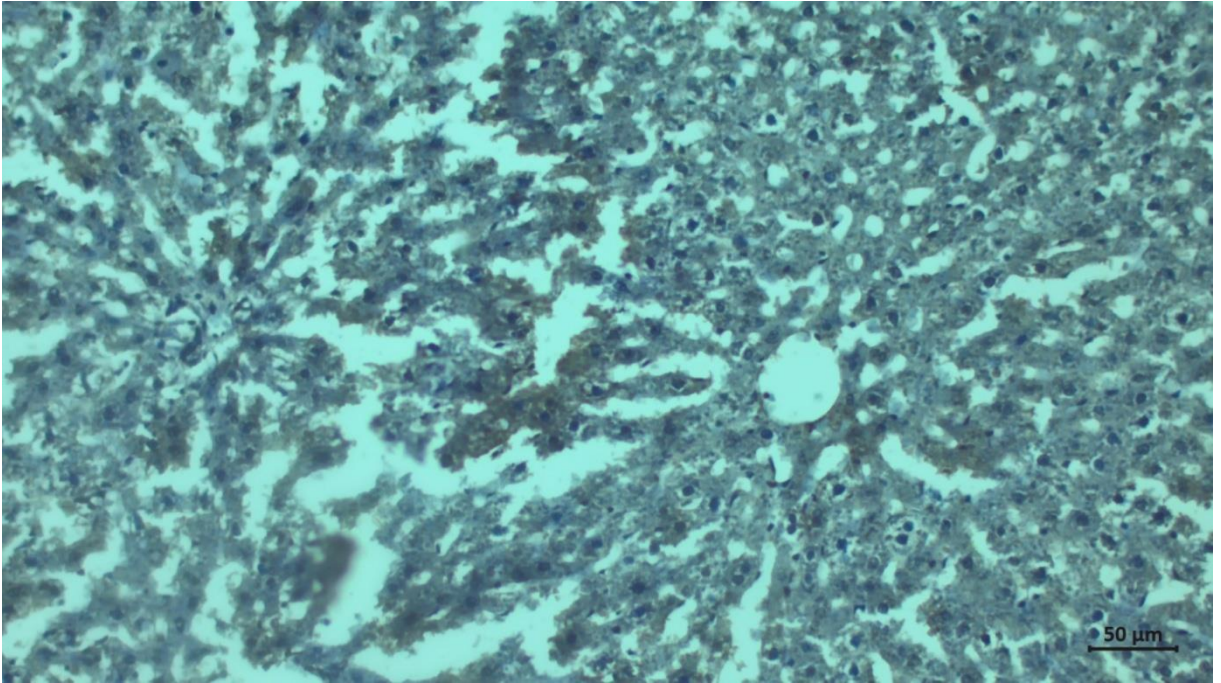
Şekil 20. Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrofrafı (Apaf-1, Bar 50 µm).



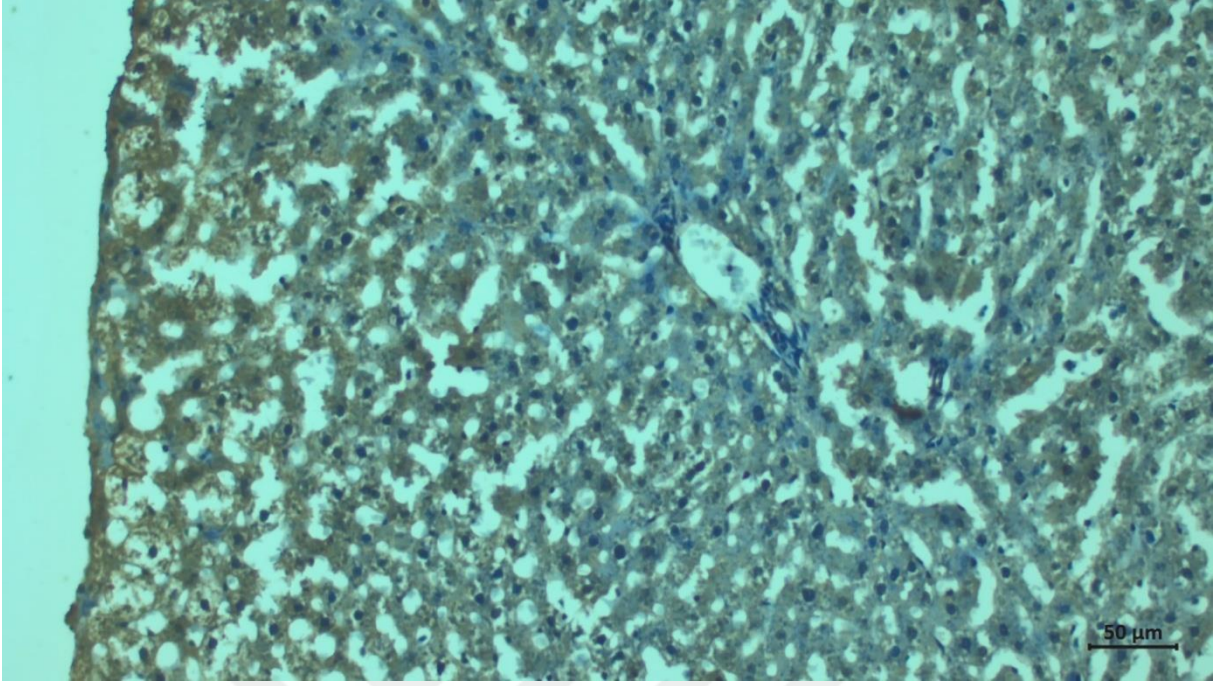
Şekil 21. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrofrafı (Il-6, Bar 50 µm).



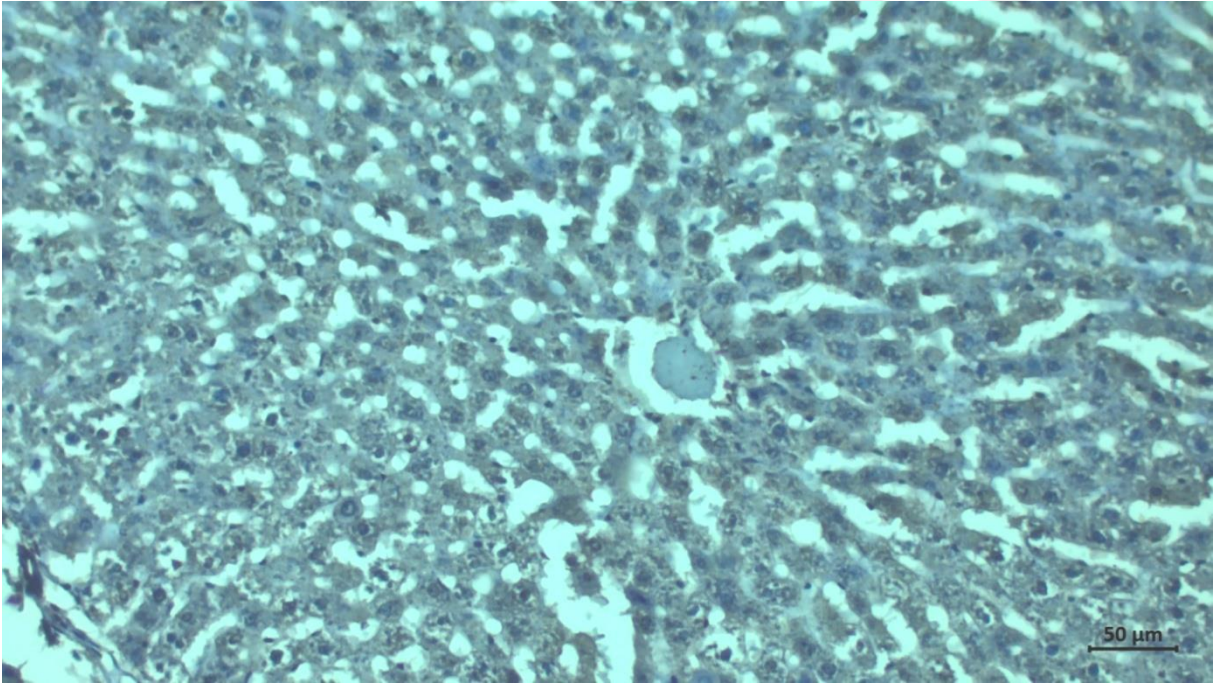
Şekil 22. Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Apaf-1, Bar 50 µm).



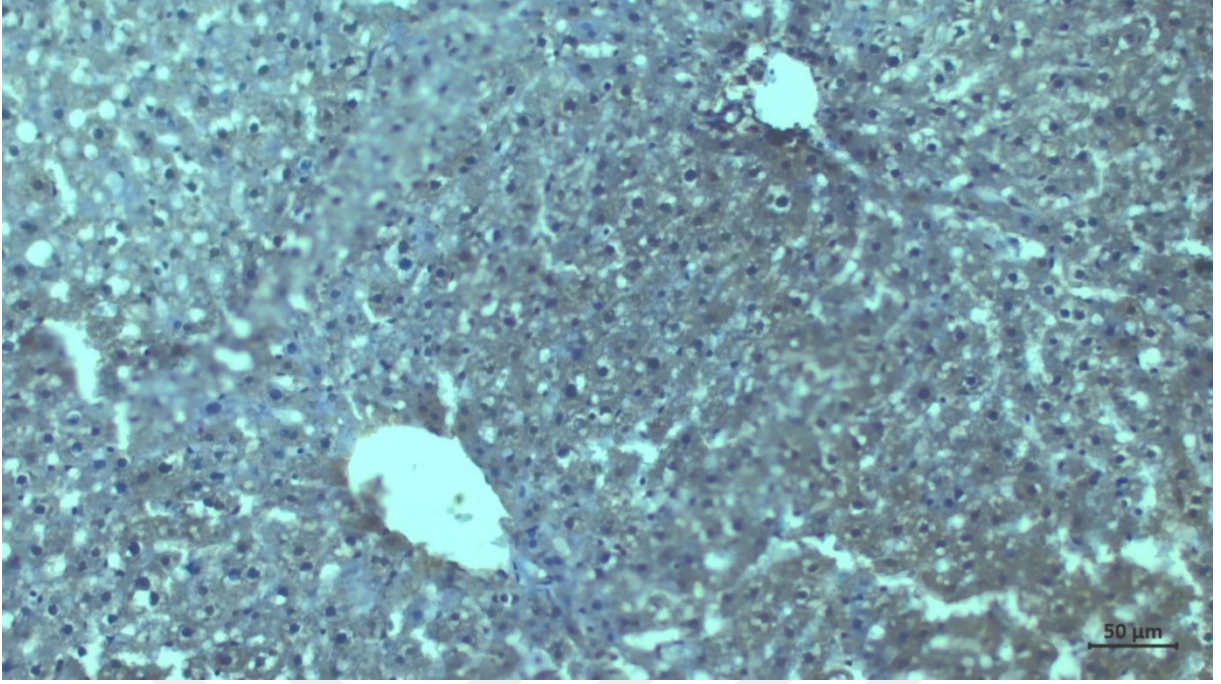
Şekil 23. Tetrasiklin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Il-6, Bar 50 µm).



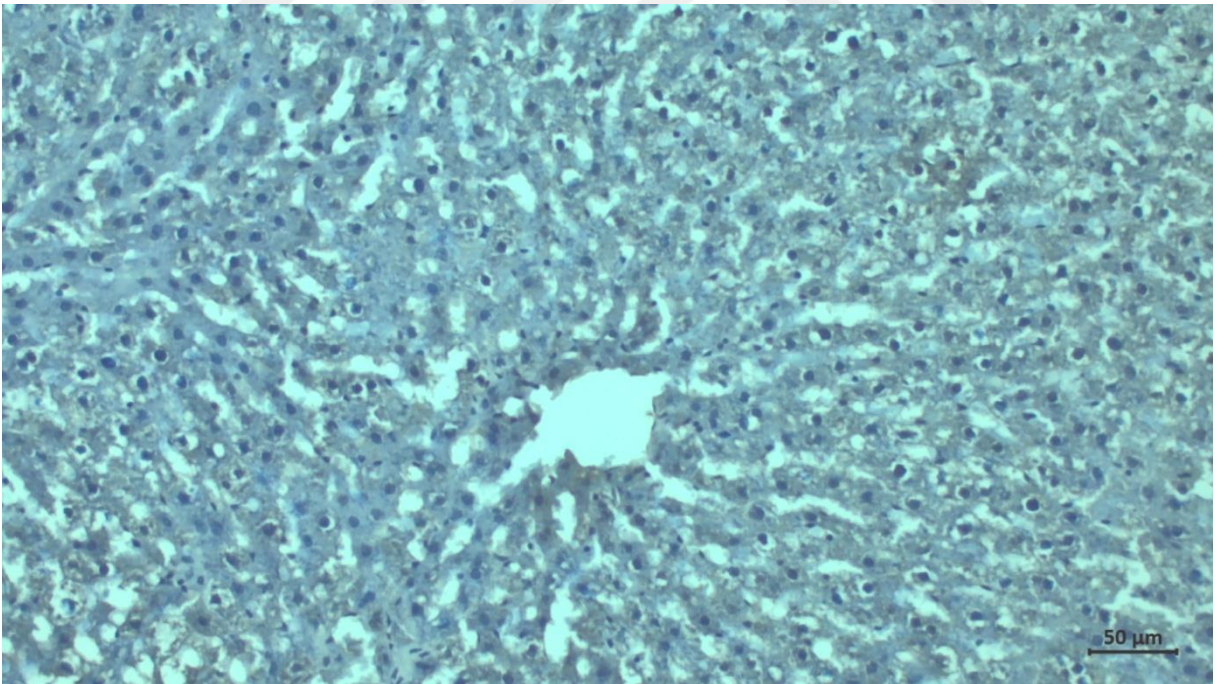
Şekil 24. Tetrasiklin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Apaf-1, Bar 50 µm).



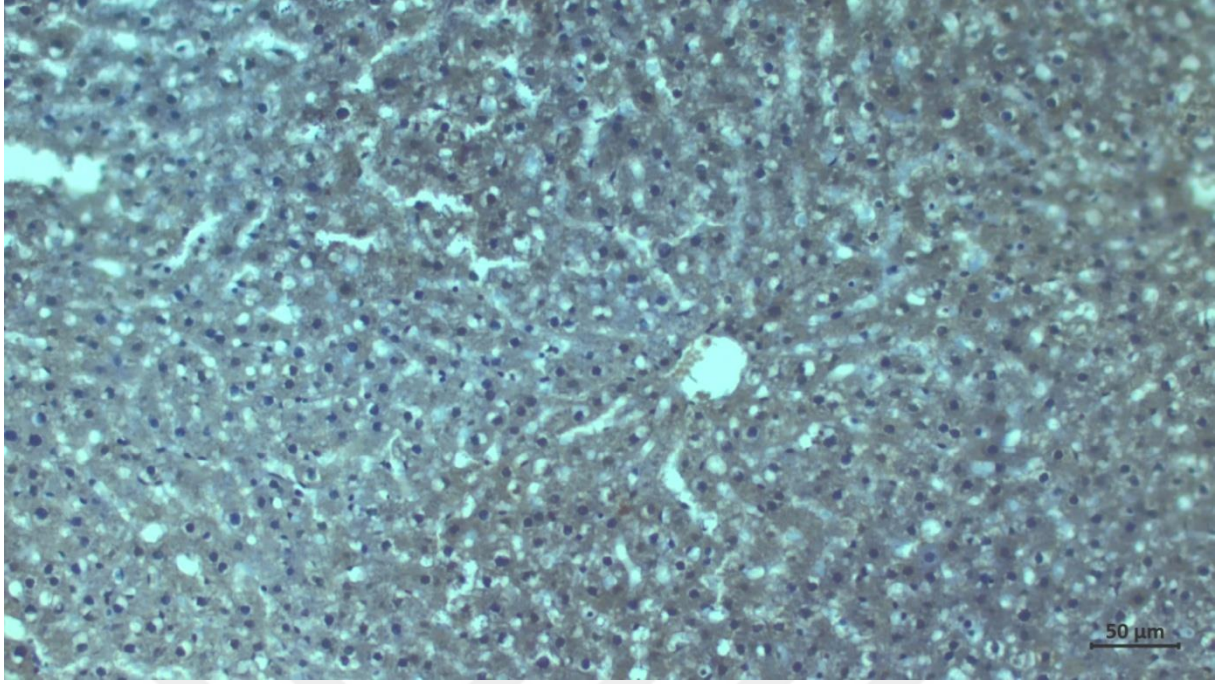
Şekil 25. Tetrasiklin+ Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Il-6, Bar 50 µm).



Şekil 26. Tetrasiklin+ Amlodipin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Apaf-1, Bar 50 µm).



Şekil 27. Tetrasiklin+ Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Il-6, Bar 50 µm).



Şekil 28. Tetrasiklin+ Mangiferin grubuna ait karaciğer dokusunun mikrografı (Apaf-1, Bar 50 μm).

5.TARTIŞMA

Tetrasiklin kullanımı sonucu oluşan ilk karaciğer hasarına vakası 1960 yılında rastlanmıştır. Karaciğer hasarına bağlı gelişen bulgular arasında kolestazis ve duktopeni ilk sırada bildirilmiştir (67). Ratlarda yapılan bir çalışmada tetrasiklin kullanımı sonucu trigliserid salgılanmasının durdurduğu ve karaciğer yağlanması geliştiği gözlenmiştir (68). Vial ve ark. yaptıkları çalışmalarında TTC'nin 10 günü aşkın sürede kullanılması durumunda akut hepatit gelişebilme riskinin artabileceğini bildirilmişlerdir (67). Tetrasiklin gibi ilaçların vücuttan atılımı öncelikle böbreklerde gerçekleşirken, TTC kullanımına bağlı böbrek yetmezliği gelişmesi durumunda karaciğerde toksik etkilerinin artabileceğileceği bildirilmiştir (69). TTC'nin yüksek dozlarda kullanımı sonucu karaciğer, böbrek ve pankreas yetmezliği ile sonuçlanıp, serum ALP düzeyinde artışa, protrombin zamanının uzamasına ve sonuçta lökositoz gibi bulguların gelişmesine neden olabilir (70). Biz de yapmış olduğumuz çalışmada tetrasiklinin AST (aspartate aminotransferase) ve ALT (alanine aminotransferase) değerlerinde kontrol grubuna kıyasla oldukça yükselme gözlemledik. Karaciğer enzimleri olan AST ve ALT birer Transaminaz olup, karaciğer hasarı ve nekroz gelişmesi durumlarında normallik

düzeyinde sapma olan en güvenilir kriterlerdir (71). Tetrasiklin grubunun karaciğer dokuları incelendiğinde karaciğer hasarında, inflamasyonda ve proapoptotik sinyallerde bir artış olduğu görülmüştür. Çalışmamız bu noktada artan AST ve ALT oranlarını hem biyokimyasal hem histolojik hem de immünolojik açıdan desteklemiştir.

Hücrelerde bazal membran geçirgenliğine bağlı olarak tetrasiklin toksisitesine bağlı enzimler hepatosit sitozolünden dolaşıma sızarak, bu toksisiteye bağlı nekroz ve antiinflamatuvar reaksiyonları başlatır (72). Bu bulgular bulgularıyla da uyumluluk göstermiştir (73,74). Benzer şekilde bizim çalışmamız da tetrasiklin toksisitesine bağlı serum total antioksidan düzeylerinde azalma gözlenirken, total oksidan düzeylerinde artış izlendi. Aynı zamanda dokuda bakılan inflamatuvar belirteci olan IL-6 ile proapoptotik sinyal belirteci olan APAF-1 immunohistokimya boyama grademelesinin Tetrasiklin grubunda yüksek skorlamaya sahip olduğu görüldü. H&E boyama sonucu karaciğer dokusunda hemoraji, sinüzoidal kordon yapısında dilatasyon, hepatositlerin sıralı ışınal diziliminde bozulma, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve sentrolobüler nekroz ve çok sayıda piknotik hücreler izlendi. PAS boyama sonucu; hepatositlerin glikojen yoğunluğunda belirgin bir azalma görüldü. Bu bulgular Shabana ve ark. yaptıkları çalışmalarındaki bulgular ile de paralellik göstermiştir (73).

Yapılan çalışmalar neticesinde Ca^{++} kanal blokerinin hücre dışında biriken Ca^{++} inhibe ettiği bildirilmiştir (75-77). Kimyasal kullanımına bağlı gelişen inflamasyon durumlarında hücrelerdeki histamin, serotonin, bradikinin, nitrik oksit ve sitokinler gibi serbest oksijen radikallerinde (ROS) artış meydana gelmektedir (78-81). Ca^{++} iyonları ise mast hücrelerinde çoğalarak bir inflamatuvar mediyatör olan histaminin salgılanmasına sebep olurlar. Bunun sonucunda ise ROS düzeyinin azalmasına etki ederler (82).

Kataoka C ve ark. ile Nunez Selles AJ ve ark. yaptıkları çalışmalarda Amlodipinin TNF- α ve IL-6 inflamatuvar sitokin düzeylerini azalttığını bildirmişlerdir (83,84). Biz de bu çalışmada amlodipinin tetrasiklin uygulamasına bağlı gelişen IL-6 ve APAF-1 gibi sitokin düzeylerini olumlu yönde etkilediğini gözlemledik. Ayrıca karaciğer fonksiyon testlerini de olumlu yönde düşürdüğünü izledik. Bu sonuçlar amlodipinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde tetrasikline bağlı karaciğer hasarını enzimatik olarak düzelttiğini göstermiştir.

Mangiferin içeriğindeki fenolik asitler, fenolik esterler, flavan-3-ols bileşenlerinden dolayı, in vitro ve in vivo çalışmalarda antioksidan özellikte olduğu görülmüştür (85). Yapılan çalışmalarda mangiferinin antidiyabetik, hipolipidemik, antiviral, immünomodülatör, antikanser, analjezik ve hepatoprotektif gibi birçok biyolojik aktivite ve farmakolojik aktiviteye

sahip olduğu görülmüştür (86-89). Jiang T ve ark. mangiferinin, kaspaz-3 ve Bax'ın protein düzeylerini azaltarak ve Bcl-2'ninkileri artırarak kardiyomiyositlerde apoptozu azalttığını göstermişlerdir (90). El-Sayyad SM ve ark. ise barsak I/R ve buna bağılı uzak organ hasarı olan karaciğer dokularını incelediklerinde Mangiferinin antiapoptotik, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikte olduğunu görmüşlerdir (91). Bizim çalışmamıza baktığımızda tetrasiklin hasarına bağılı gelişen apoptozis, inflamasyon ve karaciğer hasarı durumlarında mangiferinin koruyucu özellikte olduğunu gözlemledik. Ayrıca bozulan karaciğer fonksiyonları ile serum total antioksidan/ oksidan düzeylerini düzeltme de Ca⁺⁺ kanal blokeri olan amlodipinden daha etkin olduğunu gözlemledik.

6.SONUÇ

Çalışmamızın sonunda Tetrasiklin'e bağılı gelişen hepatotoksisite durumunda karşılaştırmış olduğumuz Amlodipin ve Mangiferinin koruyucu etkileri olduğu gözlemlendi. Biyokimyasal, İmmunohistokimyasal ve Histopatolojik değerlendirmeler sonucu Mangiferin'in daha fazla koruyucu etkinliğe sahip olduğu izlendi. Fakat bakmış olduğumuz parametrelerin genişletilmesi ve farklı doz ve sürelerde denenerek yeni çalışmalar yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

7.KAYNAKLAR

- 1.Broulac-Sage P, Balabaud C. Toxic and drug induced disorders of the liver. In Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI tract, Liver, Biliary tract and Pancreas. Philadelphia: Saunders; 2004; 833–61.
- 2.Bell LN, Chalasani N. Epidemiology of idiosyncratic drug induced liver injury. Semin Liver Dis. 2009; 29:337.
3. Björnsson ES, Bergmann OM, Björnsson HK, et al. Incidence, presentation, and outcomes in patients with drug-induced liver injury in the general population of Iceland. Gastroenterology. 2013; 144:1419.
- 4.Idilman R, Bektas M, Cinar K, et al. The characteristics and clinical outcome of drug induced liver injury: A single center experience. J Clin Gastroenterol. 2010; 44:128-132.
5. Griffin MO, Fricovsky E, Ceballos G, et al. Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature. Am J Physiol Cell Physiol. 2010;299:C539 48.
- 6.National Ambulatory Care Survey Database. Available at: <http://www.cdc.gov/nchs/about/major/ahcd/ahcd1.htm> (accessed 2 May 2007).
7. Zink MC, Uhrlaub J, DeWitt J, et al. Neuroprotective and anti human immunodeficiency virus activity of minocycline. JAMA 2005;293:2003-11.
8. Forloni G, Iussich S, Awan T, et al. Tetracyclines affect prion infectivity. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99:10849-54.
9. Westphal JF, Vetter D, Brogard JM. Hepatic side effects of antibiotics. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1994; 33: 387–401.
10. Abdel-Daim, M M, Ghazy, EW. Effects of Nigella sativa oil and ascorbic acid against oxytetracycline induced hepato-renal toxicity in rabbits. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2015; 18, 221
11. Yin HQ, Kim M, Kim JH, Kong G, Lee MO, Kang KS, Lee BH. Hepatic gene expression profiling and lipid homeostasis in mice exposed to steatogenic drug, tetracycline. Toxicological Sciences. 2006; 94, 206–216. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfl078>.

12. Asha K, Sankar T, Nair PV. Effect of tetracycline on pancreas and liver function of adult male albino rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2007;59:1241–1248. <https://doi.org/10.1211/jpp.59.9.0008>
13. George DK, Crawford DH. Antibacterial induced hepatotoxicity. Incidence, prevention and management. *Drug Safety*. 1996; 15: 79–85.
14. Burnham T. (2001) *Drug Facts and Comparisons*. St. Louis, MO: Wolter Kluwer Co, 1332
15. Amacher DE, Martin BA. Tetracycline-induced steatosis in primary canine hepatocyte cultures. *Fundam. Appl. Toxicol*. 1997; 40: 256–263.
16. Xu JJ, Henstock PV, Dunn MC, Smith AR, Chabot JR, de Graaf, D. Cellular imaging predictions of clinical drug induced liver injury. *Toxicol. Sci*. 2008; 105: 97–105.
17. Yamamoto T, Kikkawa R, Yamada H, Horii I. Identification of oxidative stress related proteins for predictive screening of hepatotoxicity using a proteomic approach. *J. Toxicol. Sci*. 2005;30: 213–227
18. De Longueville F, Atienzar FA, Marcq L, Dufrane S, Evrard S, Wouters L, Leroux F, Bertholet V, Gerin B, Whomsley R, Arnould T, Remacle J, Canning M. Use of a low density microarray for studying gene expression patterns induced by hepatotoxicants on primary cultures of rat hepatocytes. *Toxicol. Sci*. 2003; 75: 378–392
19. Ishimitsu T, Honda T, Ohno E, Furukata S, Sudo Y, Nakano N, Takahashi T, Ono H, Matsuoka H. Year long antihypertensive therapy with candesartan completely prevents development of cardiovascular organ injuries in spontaneously hypertensive rats, *Int. Heart J*. 2010; 50: 359–364.
20. Fuhrmann S, Koppen A, Seeling A, Knoth H, Schroder J. Analysis of secondary care data to evaluate the clinical relevance of the drug drug interaction between amlodipine and simvastatin. *Z Evid Fortbild Qual Gesundhwes*. 2019;146: 21–27.
21. Pronobesh C, Dagagi AV, Pallab C, Kumar WA. Protective role of the calcium channel blocker amlodipine against mitochondrial injury in ischemia and reperfusion injury of rat liver. *Acta Pharm*. 2008; 58 (4): 421-428.
22. Nehra S, Bhardwaj V, Singh M, Singh K, Saraswat D. Cardioprotective role of amlodipine under acute hypobaric hypoxia: role of AKT-1 in redox balance. *Int J Pharm Sci Res*. 2015; 6 (1): 190-199.

23. Abdel Rahman MN, Kandeel M. Effect of amlodipine and trimetazidine on gentamicin induced nephrotoxicity in rats, *J. Am. Sci.* 2012; 8.
24. Wang AL, Iadecola C, Wang G. New generations of dihydropyridines for treatment of hypertension. *J Geriatr Cardiol.* 2017;14 (1): 67-72.
25. Han X, Zhang H, Hao H, Li H, Guo X, Zhang D. Effect of epigallocatechin-3-gallate on the pharmacokinetics of amlodipine in rats. *Xenobiotica.* 2019; 49 (8): 970–974.
26. Chae S, Piao MJ, Kang KA, Zhang R, Kim KC, Youn UJ.. Inhibition of matrix metalloproteinase 1 induced by oxidative stress in human keratinocytes by mangiferin isolated from *Anemarrhena asphodeloides*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2011; 75: 2321-2325.
27. Das, J, Ghosh J, Roy A, Sil PC. Mangiferin exerts hepatoprotective activity against Dgalactosamine induced acute toxicity and oxidative/nitrosative stress via Nrf2-NFkappaB pathways. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 260: 35-47.
28. Garcia Rivera D, Delgado R, Bougarne N, Haegeman G, Berghe WV. Gallic acid indanone and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in MDA-MB231 breast cancer cells. *Cancer Lett.* 2011; 305: 21-31
29. Garrido G, Delgado R, Lemus Y, Rodriguez J, Garcia D, Nunez Selles AJ. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophages and microglia by a standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG). Role of mangiferin isolated from the extract. *Pharmacol. Res.* 2004; 50: 165-172.
30. Li X, Cui X, Sun X, Zhu Q, Li W. Mangiferin prevents diabetic Nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother. Res.* 2010; 24: 893-899.
31. Leiro JM, Alvarez E, Arranz JA, Siso IG, Orallo F. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor alpha and transforming growth factor-beta genes. *Biochem. Pharmacol.* 2003; 65: 1361-1371
32. Marquez L, Garcia BB, Madrigal JL, Leza JC. Mangiferin decreases inflammation and oxidative damage in rat brain after stress. *Eur J. Nutr.* 2012; 51: 729-739.
33. Tang YH, Sun ZL, Fan MS, Li ZX, Huang CG. Anti diabetic effects of Tong Guan Wan, a Chinese traditional herbal formula, in C57BL/KsJ-db/db mice. *Planta. Med.* 2012; 78: 18-23.

34. Wang RR, Gao YD, Ma CH, Zhang XJ, Huang CG, Huang JF. Mangiferin, an anti HIV-1 agent targeting protease and effective against resistant strains. *Molecules*.2011; 16: 4264-77.
35. Sánchez GM, Re L, Giuliani A, Núñez-Sellés AJ, Davison GP, León-Fernández OS. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. *Pharmacol Res*. 2000; 42: 565–573.
36. Garrido G, Delgado R, Lemus Y, Rodríguez J, García D, Núñez-Sellés AJ. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophages and microglia by a standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG®): Role of mangiferin isolated from the extract. *Pharmacol Res*. 2004; 50: 165–172.
37. Pardo Andreu GL, Philip SJ, Riaño A, et al. *Mangifera indica* L. (Vimang) protection against serum oxidative stress in elderly humans. *Arch Med Res*. 2006; 37: 158–164.
38. Panda SS, Chand M, Sakhuja R, Jain SC. Xanthones as potential antioxidants. *Curr Med Chem*. 2013; 20: 4481–4507.
39. Na L, Zhang Q, Jiang S, et al. Mangiferin supplementation improves serum lipid profiles in overweight patients with hyperlipidemia: A double-blind randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2015; 5: 10344
40. Hansel, M. C., Gramignoli, R., Skvorak, K. J., Dorko, K., Marongiu, F., Blake, W., Strom, S. C. (2014). The history and Use of Human Hepatocytes for the Treatment of Liver Diseases: the first 100 patients. *Current Protocols in Toxicology*, 62(1), 14-12.
41. D'Angelica M, Fong Y. The liver. Ed. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Sabiston Textbook of Surgery*. 17. edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004; 1513-69.
42. Kara A. Doğu anadolu bölgesindeki canlı karaciğer vericilerinde hepatik arterin anatomik varyasyonları. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2013.
43. Biolac- sage, P. Lafon, M.E. Saric, J. (1990). Nerves and perisinusoidal Cells in Human Liver. *J. Hepatol*, 10, 105

44. Williams, P., Bannister, L.H., Berry, M.M., Collins, P., Dyson, M., Dussek, J. E., Ferguson M.W.J. (1995). Gray's Anatomy. 38. Baskı . Churchill Livingstone, Norwich.
45. Kuyucu Y. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Ders Notları. Sindirim Sistemi Anatomisi.
46. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Çeviri: Seven R, Yaltı T, Erbil Y, Değerli Ü. Cerrahi anatomi ve teknik. Karaciğer. 2. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000: 531-72.
47. Houssaint E. Differentiation of the Mouse Hepatic Primordium. I. An analysis of Tissue Interactions in Hepatocyte Differentiation. Cell Differ 1980; 9: 269-79.
48. Şeftalioğlu, A. Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı, Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık Ltd. Şti, 1998.
49. Lee, W. M. (2003). Drug-induced Hepatotoxicity. New England Journal of Medicine, 349(5), 474-485.
50. Russmann, S., Kullak-Ublick, G. A., Grattagliano, I. (2009). Current Concepts of Mechanisms in Drug Induced hepatotoxicity. Current Medicinal Chemistry, 16(23), 3041-3053.
51. Bozkurt S. Hepatik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Adrenomedullin ve Adrenomedullin Bağlayıcı Protein-1 Kombinasyonunun Akut Akciğer ve Karaciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Genel Cerrahi uzmanlık Tezi ,Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,2009.
52. Kuran O: Sistemik anatomi. Filiz Kitabevi, 1983.429-438
53. Goldsmith N A .Woodburne R T .Surgical anatomy pertaining to liver resection.Surg Gynecol Obstet . 1987 ;195:310-318.
54. Malarkey, D.E. Johnson, K. Ryan, L.(2005). New Insights Into Functional Aspects of Liver Morphology. Toxicol Pathol. 33, 27-34
55. Bloom and Fawcett. A Text book of Histology (12 th ed.). Chapman and Hall New York, 1994: 652-677.
56. Junqueira LC, Carneiro JB, Kelley RO. Basic Histology (8 th ed.). Appleton and Lang, USA, 1995: 306-319.
57. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. W.B. Saunders Company. Philadelphia 1997: 369-372.
58. Kalaycı Ş. Histoloji Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 1986: 361-372.

59. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. Fourth Edition. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2003; 532-548.
60. Shabana M, Ibrahim HM, Khadre SE & Elemam MG. Influence of rifampicin and tetracycline administration on some biochemical and histological parameters in albino rats. The Journal of Basic & Applied Zoology. 2012; 65: 299–308.
61. Zhang C, Gao Z, Niu L, Chen X. Effects of triptolide on pharmacokinetics of amlodipine in rats by using LC-MS/MS. *Pharm Biol.* 2018; 56: 132–7.
62. Zhang L, Huang C, Fan S. Magniferin and Organ Fibrosis: Amino review. *Biofactors.* 2021; 47 (1): 59-68.
63. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004; 37 (2): 112-9.
64. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005; 38: 1103–11.
65. Camargo Jr CA, Madden JF, Gao W et al. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/ reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. *Hepatology,* 1997; 26 (6): 1513–20
66. Erdogan MA, Yalcin A. Protective effects of benfotiamine on irisin activity in methotrexate-induced liver injury in rats. *Archives of medical science AMS.* 2020; 16 (1): 205.
67. Vial T, Biour M, Descotes J, Trepo C. Antibiotic-associated hepatitis: Update 1990. *The Annals of Pharmacotherapy.* 1997; 31: 204-220.
68. Gabriel LP. Toxic Response of liver in Caserett and Doull's Toxicology. Ed; Klassen CD, Amdur MO and Doull J, Third edition, Macmillan Publishing Company, New York, 1986, p: 286-309.
69. Bouderaux JP, Hayes DH, Mizrahi S, Hussey S, Rengenstein F, Balart L. Fulminant hepatic failure, hepatorenal syndrome, and necrotizing Pancreatitis after minocycline hepatotoxicity. *Transplantation proceedings.* 1993; 25 (2): 1873.
70. Ulutan F. Karaciğer hastalarında antimikrobiyal ilaçların kullanımı, Antimikrobiyal Kemoterapi Klinik Uygulamalar ve Yenilikler, Ed; Meço O, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları, Ankara. 1992. pp.27.
71. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *Am Fam Physician,* 2005, 71: 1105-10.

72. Paul S, Islam M, Tanvir E, Ahmed R, Das S, Rumpa NE, Khalil M. Satkara (Citrus macroptera) fruit protects against acetaminophen induced hepatorenal toxicity in rats. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine. 2016; 11
73. Asha K, Sankar T & Nair PV. Effect of tetracycline on pancreas and liver function of adult male albino rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2007;59: 1241–1248.
74. Abdollahi M, Nikfar S, Abdoli N. Potentiation by nitric oxide synthase inhibitor and calcium channel blocker of aspartame-induced antinociception in the mouse formalin test. Fundam Clin Pharmacol. 2001; 15: 117-23.
75. Ishikawa J, Ohga K, Yoshino T, Takezawa R, Ichikawa A, Kubota H, Yamada T. A pyrazole derivative, YM-58483, potently inhibits store-operated sustained Ca^{2+} influx and IL-2 production in T lymphocytes. J Immunol. 2003; 170: 4441-9.
76. Gurdal H, Sara Y, Tulunay FC. Effects of calcium channel blockers on formalin-induced nociception and inflammation in rats. Pharmacology, 1992; 44: 290-6.
77. Ben Sreti MM, Gonzalez JP, Sewell RD. Effects of elevated calcium and calcium antagonists on 6,7-benzomorphan-induced analgesia. Eur J Pharmacol. 1983; 90: 385-91.
78. Takeuchi A, Kobayashi K, Yukiya Y, Chihara T, Matsuta K, Hashimoto A. Role of protease--protease-inhibitor complexes in inflammation. Int J Tissue React. 1984; 6: 1-8.
79. Serhan CN. Novel omega 3 derived local mediators in antiinflammation and resolution. Pharmacol Ther. 2005;105: 7-21.
80. Habashy RR, Abdel Naim AB, Khalifa AE, Al Azizi MM. Anti inflammatory effects of jojoba liquid wax in experimental models. Pharmacol Res. 2005; 51: 95-105.
81. Chand N, Pillar J, Diamantis W, Sofia RD. In vitro inhibition of allergic histamine release by calcium antagonists. Eur J Pharmacol. 1985; 107: 353-8.
82. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. Cancer Res. 1994; 54: 1969-1975.
83. Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, Inoue S, Ni W, Hiasa K, Kitamoto S, Usui M, Takeshita A. Novel anti inflammatory actions of amlodipine in a rat model of 81 arterio sclerosis induced by long term inhibition of nitric oxide synthesis. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004; 286 (2): 768-774.
84. Nunez Selles AJ, Velez Castro HT, Agüero Agüero J, Gonzalez Gonzalez J, Naddeo F, De Simone F, Rastrelli L. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars,

and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. *Agr Food Chem.* 2002; 50: 762–6.

85. Marquez L, et al. Mangiferin decreases inflammation and oxidative damage in rat brain after stress. *Eur J Nutr.* 2012; 51 (6): 729–739.

86. Li HW, et al. Protective effects of mangiferin in subchronic developmental lead exposed rats. *Biol Trace Elem Res.* 2013; 152 (2): 233–242.

87. Liu YW, et al. Suppression of methylglyoxal hyperactivity by mangiferin can prevent diabetes associated cognitive decline in rats. *Psychopharmacology.* 2013; 228 (4): 585–594.

88. Du S, et al. Mangiferin: an effective therapeutic agent against several disorders (review) *Mol Med Rep.* 2018; 18 (6): 4775–4786.

89. Szandruk M, Merwid Lad A, Szelag A. The impact of mangiferin from *Belamcanda chinensis* on experimental colitis in rats. *Inflammopharmacology.* 2018; 26 (2): 571–581.

90. Jiang T, Han F, Gao G, Liu M. Mangiferin exert cardioprotective and anti apoptotic effects in heart failure induced rats. *Life Sci.* 2020; 15: 249

91. El-Sayyad SM, Soubh AA, Awad AS, El Abhar HS. Mangiferin protects against intestinal ischemia/ reperfusion induced liver injury: Involvement of PPAR- γ , GSK-3 β and Wnt/ β -catenin pathway. *European Journal of Pharmacology.* 2017; 809: 80-86.

