

**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER DOKUSUNDA KARBON TETRAKLORÜR İLE  
OLUŞTURULAN HASARA KARŞI BETA GLUKAN'IN  
ETKİSİ**

**Hazırlayan**  
**Sunay ÜNALMIŞ**

**Danışman**  
**Doç. Dr. Arzu Hanım YAY**

**Doktora Tezi**

**Ocak 2019**  
**KAYSERİ**

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER DOKUSUNDA KARBON TETRAKLORÜR İLE  
OLUŞTURULAN HASARA KARŞI BETA GLUKAN'IN  
ETKİSİ**

**(Doktora Tezi)**

**Hazırlayan  
Sunay ÜNALMIŞ**

**Danışman  
Doç. Dr. Arzu Hanım YAY**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından FDK-2015-5821 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2019  
KAYSERİ**

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Sunay ÜNALMIŞ

İmza:

**“Karaciğer Dokusunda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Hasara Karşı Beta Glukan’ın Etkisi”** adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Sunay ÜNALMIŞ

Danışman

Doç. Dr. Arzu Hanım YAY

Histoloji Embriyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Birkan YAKAN

**Doç. Dr. Arzu Hanım YAY** danışmanlığında **Sunay ÜNALMIŞ** tarafından hazırlanan “**Karaciğer Dokusunda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Hasara Karşı Beta Glukan’ın Etkisi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

...../...../.....

### JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Arzu Hanım YAY  
(Erciyes Üni. Histoloji-Embriyoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Birkan YAKAN  
(Erciyes Üni. Histoloji-Embriyoloji AD)

Üye : Doç. Dr. Mehtap NİSARİ  
(Erciyes Üni. Anatomi AD)

Üye : Dr.Öğr.Üyesi Tülay MORTAŞ  
(Kırıkkale Üni. Histoloji-Embriyoloji AD)

Üye :Dr.Öğr.Üyesi Halime TOZAK YILDIZ  
(Ahi Evran Üni. Histoloji Embriyoloji AD)

  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....

### ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Aykut DARENDELİ

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında yol gösteren, tezin yapılmasında büyük katkıları olan ve desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Arzu Hanım YAY'a

Bölüm hocalarımız Prof. Dr. Birkan YAKAN, Dr. Öğr. Üyesi Derya KARABULUT ve Uzm. Dr. Esra BALCIOĞLU'na

Bu çalışmayı yaparken deneysel bölümünde benden katkısını esirgemeyen hayatımda daima çok önemli yer tutacak sevgili arkadaşlarım Arş. Grv. Emin KAYMAK, Arş. Grv. Betül YALÇIN, Arş. Grv. Gözde Özge KORKMAZ, bölüm arkadaşlarımdan Hande YAHŞİ ve Ayşe CEYHAN'a

Her konuda bana sınırsız sevgi, destek ve emek veren değerli aileme,

Çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan sevgili eşim Muhammed Mustafa ÜNALMIŞ'a ve hayatıma değer katan oğlum Fatih ÜNALMIŞ'a

Mali destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına,

En içten teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Sunay ÜNALMIŞ

Kayseri, Ocak 2019

# **KARACİĞER DOKUSUNDA KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN HASARA KARŞI BETA GLUKAN'IN KORUYUCU ETKİSİ**

**Sunay ÜNALMIŞ**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

**Doktora Tezi, Ocak 2019**

**Danışman: Doç. Dr. Arzu HammYAY**

## **ÖZET**

Karaciğerde birden fazla ksenobiyotik hasar oluşturabilir ve bunlardan biri de karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>)'dür. İmmün sistem modülatörüolan Beta gluklan (β-glukan) güçlü bir antioksidandır. Bu çalışmada CCl<sub>4</sub> ile karaciğer dokusunda oluşturulan hasar üzerine β-glukan'ın olası etkilerininin histopatolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlandı.

Çalışmada, 48 adet 2 aylık Wistar albino türü erkek sıçan kullanıldı. Deney grupları şu şekilde belirlendi: Grup I (n=10): kontrol grubu, Grup II (n=12): 0,2 ml/kg/gün CCl<sub>4</sub> intraperitoneal (ip) uygulanan grup, Grup III (n=14): 0,2 ml/kg/gün CCl<sub>4</sub> (ip) + 50 mg/kg/gün β-glukan oral gavaj yoluyla uygulanan grup, Grup IV (n=12): 50 mg/kg/gün β-glukan oral gavaj yoluyla uygulanan grup. Deneyin 11. günü denekler dekapite edilerek kanları ve karaciğer dokuları alındı. Karaciğer doku örneklerinde histopatolojik incelemeler için Hematoksilen&Eozin, Masson Trikrom ve Periodik Asit Schiff boyama metodları kullanılırken, PCNA, iNOS, HIF-1α ve İrisin immünreaktivitelerini belirlemek için ise immunohistokimya boyama metodu kullanıldı. Apoptotik hücre sayılarını belirlemek için TUNEL boyama yöntemi kullanıldı. Ayrıca serumda biyokimyasal parametreler incelendi.

Çalışma bulgularına göre, kontrol ve β-glukan gruplarında karaciğerler normal doku yapısında gözlenirken, CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruplarında mikro ve makro veziküler yağlanma, portal bölgede çoğunluğunu lenfosit mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi. PCNA, iNOS, HIF-1α ve İrisin ekspresyonu, CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan grupta kontrole göre artış gösterdi. İrisin, MPO, IL6, IL1, AST ve ALT seviyelerinin CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubunda diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak

anlamalı bir fark olduğu gözlendi. Apoptotik indeks  $CCl_4+\beta$ -glukan ve  $CCl_4$  uygulanan gruplarda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamalı bir fark olduğu gözlendi.

Sonuç olarak  $CCl_4$  uygulamasının karaciğer dokusunda çok ciddi histopatolojik değişiklikler oluşturduğu,  $\beta$ -glukan'ın ise bu hasar üzerine koruyucu bir role sahip olmadığı hatta bu hasarı artırıcı yönde aracılık ettiği gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Karbon Tetraklorür; Beta Glukan; Karaciğer; Sıçan.





**A RESEARCH ON EFFECTS OF BETA GLUCAN ON CARBON  
TETRACHLORIDE-INDUCED HEPATIC DAMAGE**

**Sunay ÜNALMIŞ**

**Erciyes University, Department of Histology and Embryology**

**PhD Thesis January 2018**

**Supervisor: Asc. Prof. Arzu Hanım YAY**

**ABSTRACT**

More than one xenobiotic damage can occur in the liver and one of them is carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>). Beta glucan (B-glucan) is an immune system modulator and a powerful antioxidant. The aim of this study was to investigate the possible effects of β-glucan on liver tissue damage with CCl<sub>4</sub> by using histopathological and biochemical methods.

In this study, 48 male Wistar albino rats were used for 2 months. Group I (n=10): control group, Group II (n=12): 0,2 ml/kg/day of carbon tetrachloride injected intraperitoneally (ip), Group III (n=14): 0,2 ml/kg/day of carbon tetrachloride + 50 mg/kg/day of β-glucan oral gavaje, Group IV (n=12): 50 mg/kg/day of β-glucan oral gavaje. Animals xylazine and ketamine were decapitated under anesthesia and taken their blood and livers on 11th day of study. Paraffin-embedded liver sections were stained with Hematoxylin&Eosin, Masson Trikrom and Periodik Asit Schiff. Immunohistochemistry staining method was used to determine PCNA, iNOS, HIF-1α and Irisin immunoreactivity. TUNEL method was used to evaluate apoptosis. All liver tissues were examined serum biochemical parameters.

According to the study findings showed that, in the control and β-glucan groups livers that were observed in normal tissue structure, micro and macro vesicular lubrication in CCl<sub>4</sub> and CCl<sub>4</sub> + β-glucan applied groups, the majority of the portal area was observed lymphocyte mononuclear cell infiltrations. PCNA, iNOS, HIF-1α and Irisin expression showed that in CCl<sub>4</sub> + β-glucan treated group increased compared to control. Irisin, MPO, IL6, IL1, AST and ALT levels showed that were significantly different in statistics CCl<sub>4</sub> + β-glucan group compared to the other experimental groups. There was showed a statistically significant difference in apoptotic index CCl<sub>4</sub> + β-glucan and CCl<sub>4</sub> groups compared to other groups.

As a result, it was observed that CCl<sub>4</sub> administration caused very serious histopathological changes in liver tissue and β-glucan did not have a protective role on this damage and enhancing even mediated this damage.

**Keywords:** Carbon Tetrachloride; Beta Glucan; Liver; Rat.



## İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK .....	ii
KABUL ve ONAY SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT .....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR .....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xv
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1 Karaciğer Embriyolojisi.....	4
2.2 Karaciğer Anatomisi .....	6
2.3 Karaciğerin Yapısal Organizasyonu .....	7
2.3.1 Stroma: .....	7
2.3.2 Disse Aralığı (Perisinüzoidal Bölge).....	16
2.3.3 İntrahepatik Safra Kanalları (Safra Kanalikülleri) .....	17
2.3.4 Ekstrahepatik Safra Kanalları.....	18
2.4 Karaciğerin kan dolaşımı.....	19
2.5 Karaciğerde Lenfatik Dolaşım .....	21
2.6 Karaciğer Rejenerasyonu.....	21
2.7 Karaciğerin Görevleri .....	21
2.8 Karbon Tetraklorür (CCl <sub>4</sub> ) .....	24
2.8.1 Karbon Tetraklorür (CCl <sub>4</sub> )'ün Etki Mekanizması.....	25
2.8.2 CCl <sub>4</sub> 'ün Karaciğer Üzerine Etkisi .....	26
2.9 Beta-glukan (β-glukan).....	27
2.9.1 β-glukan'ın Etki Mekanizması .....	28

2.10	İrisin .....	30
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1	Uygulamada Kullanılan Maddeler .....	34
3.2	Deney Hayvanları ve Grupları .....	34
3.3	Histopatolojik Analizler.....	35
3.3.1	Doku Takibi ve Gömme.....	35
3.3.2	İmmünohistokimya Uygulama .....	38
3.3.3	Tunel Metodu.....	40
3.4	Biyokimyasal İnceleme.....	40
3.4.1	Elisa Metodu .....	40
3.5.	İstatistiksel Analiz.....	41
4.	BULGULAR .....	42
4.1	Sıçan Ağırlıkları .....	42
4.2	Işık Mikroskopik Bulgular.....	42
4.3	İmmünohistokimyasal Bulgular .....	50
4.3.1	İrisin .....	50
4.3.2	Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1 $\alpha$ ) .....	53
4.3.3	Prolifere Hücre Nükleer Antijeni (PCNA) .....	57
4.3.4	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) .....	60
4.4	Apoptotik Bulgular .....	63
4.5	Biyokimyasal Bulgular .....	65
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ .....	68
6.	KAYNAKLAR .....	79

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

## KISALTMALAR

DEKAM :	Deneysel ve Klinik Arastırma Merkezi
CCl <sub>4</sub> :	Karbon tetraklorür
$\beta$ -glukan:	Beta glukan
ml :	Mililitre
mg :	Miligram
gr :	Gram
kg :	Kilogram
L :	Litre
dk :	Dakika
$\mu$ m :	Mikrometre
kDa :	kiloDalton
ip :	intraperitenoel
DNA :	Deoksiribonükleik asit
ATP:	Adenozin trifosfat
NK:	Natural killer
PRR:	Patern tanıma reseptörleri
NH <sub>3</sub> :	Amonyak
CFCS :	Floroklorokarbon
CCl <sub>3</sub> :	Triklorometil radikali
CCl <sub>3</sub> OO :	Triklorometilperoksit
NAPQI :	N-asetil-p-benzokinonelin
PGC-1 $\alpha$ :	Peroksizom proliferator-aktive edici reseptör gama koaktivatör 1-alfa
FNDC5 :	Fibronektin tip III domain içeren 5 transmembran reseptörü

NF-kB :	Nükleer faktör kappa-B
TLR-2 :	Toll benzeri reseptör-2
CR3 :	Kompleman reseptör 3
TNF- $\alpha$ :	Tümör nekroz faktör
IL-1 :	İnterlökin-1
IL-1 $\beta$ :	İnterlökin-1 beta
IL-6 :	İnterlökin-6
IL-12 :	İnterlökin-12
UCP-1 :	Uncoupling Protein-1
PGC-1 $\alpha$ :	PPAR gama koaktivatör 1 alfa
MDA :	Malondialdehit
MPO :	Myeloperoksidaz
SOD :	Süperoksit Dismutaz
ALT :	Alanin amino transferaz
AST :	Aspartat amino transferaz
PBS :	Fosfat tampon solüsyonu
DAB :	Diaminobenzidin
DAPI :	4',6-diamidino-2-phenylindole
Ca <sup>+2</sup> :	Kalsiyum
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Hidrojen Peroksit
H&E :	Hemotoksilen-Eozin
PAS :	Periodik Asit Schiff
MT :	Masson Trikrom
PCNA :	Prolifere olan hücre nükleer antijeni
iNOS :	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

HIF-1 $\alpha$ :	Hipoksiyle indüklenen faktör-1 alfa
TGF- $\beta$ :	Transforme edici büyüme faktör- $\beta$
$\alpha$ -SMA :	$\alpha$ - düz kas aktini
ECM :	Ekstraselüler matriks protein
TBARS :	Tiyobarbutirik asit reaktif maddeler
HOMA-IR :	Homeostaz Modeli Değerlendirmesi-İnsülin Direnci



## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1	Çalışmada Hazırlanan Deney Grupları .....	35
Tablo 3.2.	Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği.....	36
Tablo 3.3 .	Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi .....	36
Tablo 3.4.	Periodik Asit Schiff Boyama Tekniği.....	37
Tablo 3.5.	Masson'un Üçlü Boyama Tekniği .....	37
Tablo 3.6.	İmmünohistokimya Boyama Tekniği. ....	39
Tablo 4.1.	Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Sıçan Ağırlıkları (g).....	42
Tablo 4.2.	Yağlanma Skorlaması Sonuçları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. ....	46
Tablo 4.3.	Deney Gruplarına Ait HIF-1 $\alpha$ , iNOS, PCNA ve İrisin İmmunreaktivite Yoğunluğunun İstatistiksel Analizi.....	63
Tablo 4.4.	Apoptotik İndeks Sonuçları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.....	64
Tablo 4.5.	Kontrol ve Deney Gruplarına Ait Serum ALT ve AST Enzim Aktiviteleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir .....	66
Tablo 4.6.	Tüm Gruplara Ait Karaciğer Dokusundaki SOD, İrisin, MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 Düzeyleri Sonuçları. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir .....	67



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Karaciğerin embriyolojik gelişim evreleri A, 4. Hafta B ve C, 5. Hafta D, 6. Hafta .....	5
Şekil 2.2.	Karaciğer anatomisi .....	7
Şekil 2.3.	Bir karaciğer lopçuğunun hücresel yapılanmasını gösteren şematik çizim .....	9
Şekil 2.4.	Klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsünün karşılaştırılması .....	11
Şekil 2.5.	Hepatositlerle karaciğer sinüzoidleri arasındaki ilişkiyi gösteren şematik çizim .....	13
Şekil 2.6.	Karaciğer sinüzoidlerinin elektron mikroskopunda görünüşleri. K.H.; Kupffer hücresi, İ.H.: İto hücresi, E: Eritrosit .....	15
Şekil 2.7.	Safra kanalikülü ve hepatositin kutuplaşması .....	18
Şekil 2.8.	Karaciğerden safra kanallarının çıkışı ve ekstrahepatik safra yolları .....	19
Şekil 2.9.	Karaciğerin: Kan damarları ve kanalları .....	20
Şekil 2.10.	Karbon tetraklorür'ün genel yapısı .....	24
Şekil 2.11.	Karbondit tetraklorür metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu .....	26
Şekil 2.12.	$\beta$ -glukan tipleri ve yapısı .....	28
Şekil 2.13.	$\beta$ -glukanların etki mekanizması .....	29
Şekil 2.14.	FNDC5 proteinin proteolitik parçalanması ile irisinin oluşumu .....	31
Şekil 2.15.	Egzersiz ile beyaz adipoz dokunun kahverengileşmesi .....	33
Şekil 4.1.	A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (H&E) Vc: Vena centralis s: Sinüzoidler B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 s: Sinüzoidler .....	44
Şekil 4.2.	A: $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (H&E) B: $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (H&E) Vc: Vena centralis s: Sinüzoidler .....	44
Şekil 4.3.	A: CCl <sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (H&E) yıldız: Yağlanma alanları B: CCl <sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (H&E) ok başı: Mononükleer hücre infiltrasyonu siyah ok: Mikroveziküler yağlanma .....	45

- Şekil 4.4. A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (H&E) Vc: Vena centralis yıldız: Yağlanma alanları B: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (H&E) siyah ok: Hidropik dejenerasyon..... 45
- Şekil 4.5. A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (PAS) s: Sinüzoidler sarı ok: Hepatositlerin glikojen içeriği..... 46
- Şekil 4.6. A: β-glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: β-glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (PAS) s: Sinüzoidler pv: Portal ven hp: Hepatik arter sk: Safra kanalı sarı ok: Hepatositlerin glikojen içeriği ..... 47
- Şekil 4.7. A: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (PAS) Pv: Portal ven sarı ok: Az sayıda glikojen içeren hepatositler..... 47
- Şekil 4.8. A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (PAS) yıldız: Hepatositlerin glikojen içeriğinin boşaldığı ve makroveziküler yağlanma ..... 48
- Şekil 4.9. A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (MT) B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (MT) Vc: Vena centralis siyah ok: Vc duvarında tek sıra, ince kollajen lifler ..... 48
- Şekil 4.10. A: β-glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (MT) B: β-glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (MT) pv: Portal ven siyah ok: Pv ve ona komşu damarların duvarındaki tek sıra kollajen lifler ..... 49
- Şekil 4.11. A: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (MT) B: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (MT) siyah ok: Mononükleer hücre infiltrasyon alanlarında kollajen lifler..... 49
- Şekil 4.12. A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (MT) siyah ok: Karaciğerdeki anatomik yapıları birbirine

	bağlayan konfluent nekroz (köprüleşen nekroz) B: CCl <sub>4</sub> +β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (MT).....	50
Şekil 4.13.	Negatif kontrolde herhangi bir İrisin immunoreaktivitesi ayırt edilememektedir (X40).....	51
Şekil 4.14.	Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinin sitoplazması irisinle zayıf boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	51
Şekil 4.15.	β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada hepatositlerin sitoplazması irisinle kuvvetli boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	52
Şekil 4.16.	CCl <sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada irisin Vena centralis (Vc) çevresinde, yağlanmanın fazla olduğu hücrelerde (ok) kuvvetli olarak boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	52
Şekil 4.17.	CCl <sub>4</sub> +β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada irisin yağlanmanın fazla olduğu alanlarda (ok) kuvvetli olarak boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	53
Şekil 4.18.	Negatif kontrolde herhangi bir HIF-1α immunoreaktivitesi ayırt edilememektedir (X40).....	54
Şekil 4.19.	Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	55
Şekil 4.20.	β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde zayıf HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	55
Şekil 4.21	CCl <sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	56
Şekil 4.22.	CCl <sub>4</sub> +β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	56
Şekil 4.23.	Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	58

Şekil 4.24 .	$\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	58
Şekil 4.25.	CCl <sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA pozitif hücre yoğunluğu görülmektedir Pv: Portal ven Sk: Safra kanalı siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40) .....	59
Şekil 4.26.	CCl <sub>4</sub> + $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA pozitif hücre yoğunluğu görülmektedir siyah ok: PCNA pozitif hücreler) (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	59
Şekil 4.27.	Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40) .....	61
Şekil 4.28.	$\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: Vc çevresindeki hepatositlerde iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	61
Şekil 4.29.	CCl <sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu siyah ok: yağlanmanın olduğu alanlarda iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	62
Şekil 4.30 .	CCl <sub>4</sub> + $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu yıldız: yağlanma alanları (İmmunoperoksidaz boyası X40).....	62
Şekil 4.31.	Apoptotik hücreler (yeşil ok): Kontrol grubu (X40) (A-C): $\beta$ -glukan grubu (X40) (D-F): CCl <sub>4</sub> grubu (X20) (G-I): CCl <sub>4</sub> + $\beta$ -glukan grubu (J-L) (X40).....	65

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücutun en büyük organlarından biri olan karaciğer, endokrin ve ekzokrin salgılama yapan bir bezdir (1). Sentez, salgılama, depolama, biyotransformasyon, fagositoz, detoksifikasyon, konjugasyon, esterleştirme, hemopoez ve ekspresyon gibi pek çok önemli fizyolojik ve metabolik işlevlere sahiptir (2).

Karaciğerin işlevinde meydana gelen bozukluk organizmadaki tüm sistemleri olumsuz etkilemektedir. Kimyasal maddelerin yaygın kullanımı, ilaçlar, alkol, sigara, yanlış beslenme alışkanlıkları, viral kökenli karaciğer hastalıkları, karaciğer tümörleri, kazalar, karaciğerle doğrudan etkili organların hasarları ve cerrahi girişimler gibi birçok etken karaciğer dokusunda hasar oluşturabilmektedir (3). Karaciğerde meydana gelen hasarlanma etkin bir rejenerasyon ve proliferasyonla cevaplanmazsa organın yapısı bozulur ve fonksiyon göremez hale gelir (4).

Karaciğerde patolojik tablolara yol açan en önemli etkenlerden biri de karbon tetraklorür ( $CCl_4$ )'dür.  $CCl_4$  karaciğer harabiyeti oluşturmak amacıyla deneysel çalışmalarda en çok tercih edilen ve yaygın kullanılan bir ksenobiyotiktir (5-7).

$CCl_4$ ; renksiz, saydam, kolayca buharlaşabilen, yanıcı olmayan ve hoş kokulu yoğun bir sıvıdır (8).  $CCl_4$  geçmiş yıllardan bu yana, endüstriyel bir çözücü olarak özellikle kuru temizleme sanayi olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (9).  $CCl_4$  düşük dozlarda kullanıldığında karaciğer hücrelerinde yağ dejenerasyonuna yol açarken, yüksek dozlarda kullanıldığında hücrelerde nekroz oluşturmakta hatta siroza neden olabilmektedir (10).

CCl<sub>4</sub> karaciğerde sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından, toksik olan triklorometil (CCl<sub>3</sub>) ve triklorometil peroksit (Cl<sub>3</sub> COO) veya N-asetil-p-benzokinonelinin (NAPQI) serbest radikallerine dönüştürülür. Oluşan serbest radikaller lipid peroksidasyonunu başlatarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açarak oksidatif hasara neden olmaktadır (11). Bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreçte yağlanma, fibrozis, hepatit hatta siroz veya tümör oluşabildiği bilinmektedir (12).

Beta (β)-glukanlar; doğal ekmek maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücre duvarından elde edilen çok dallı glukoz polimerleridir ve temel besin maddesi olan tahılların ana yapısını oluşturur. Ayrıca β-glukanlar; bitki, fungus ve bakteri hücre duvarını oluşturan glukoz polimerlerinin heterojen bir grubudur (13).

β-glukanlar hem doğal immüneyi hem de adaptif immüneyi etkileyen güçlü immün stimülatörler olarak kabul edilmektedirler (14). Makrofajların proliferasyonunu, adhezyon yeteneğini, fagositik kapasitesini ve sitotoksitesini artırır (15). Literatürde, β-glukanların antioksidan özelliğinin yanı sıra tümör gelişiminin inhibisyonu (16), antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antiparazitik etki (17, 18), sitokin üretiminin tetiklenmesi, makrofaj aktivasyonu (19), lipid düşürücü özelliği (20), radyasyona karşı koruyucu etki, yara iyileşmesini hızlandırıcı ve hematopoetik etkileri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (21, 22).

İrisin, beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirerek enerjinin ısı olarak ortaya çıkmasını teşvik eden termojenik bir proteindir (23). İrisin hormonunun adı Yunan tanrıçası İris'den esin alınarak, 2012 yılında Boström ve arkadaşları tarafından verilmiştir (24).

İrisin; keşfi ile birlikte araştırmacıların ilgisini üzerinde toplamayı başaran bir hormondur. Araştırmacılar; bu hormonun; kardiovasküler hastalıklar, tip 2 diabetes mellitus, yağlı karaciğer hastalığı, obezite, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, polikistik over sendromu ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için umut verici bir aday haline geldiğini düşünmektedirler (24). Yapılan araştırmalar ile irisinin bu hastalıklar ile ilişkisi aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Çalışmamızda, CCl<sub>4</sub> ile karaciğerde oluşturulan hasar üzerine β-glukan'ın olası etkilerini hem histopatolojik hem de biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılmasının yanı sıra mevcut etkilerinde irisinin rolünün belirlenmesi amaçlandı.

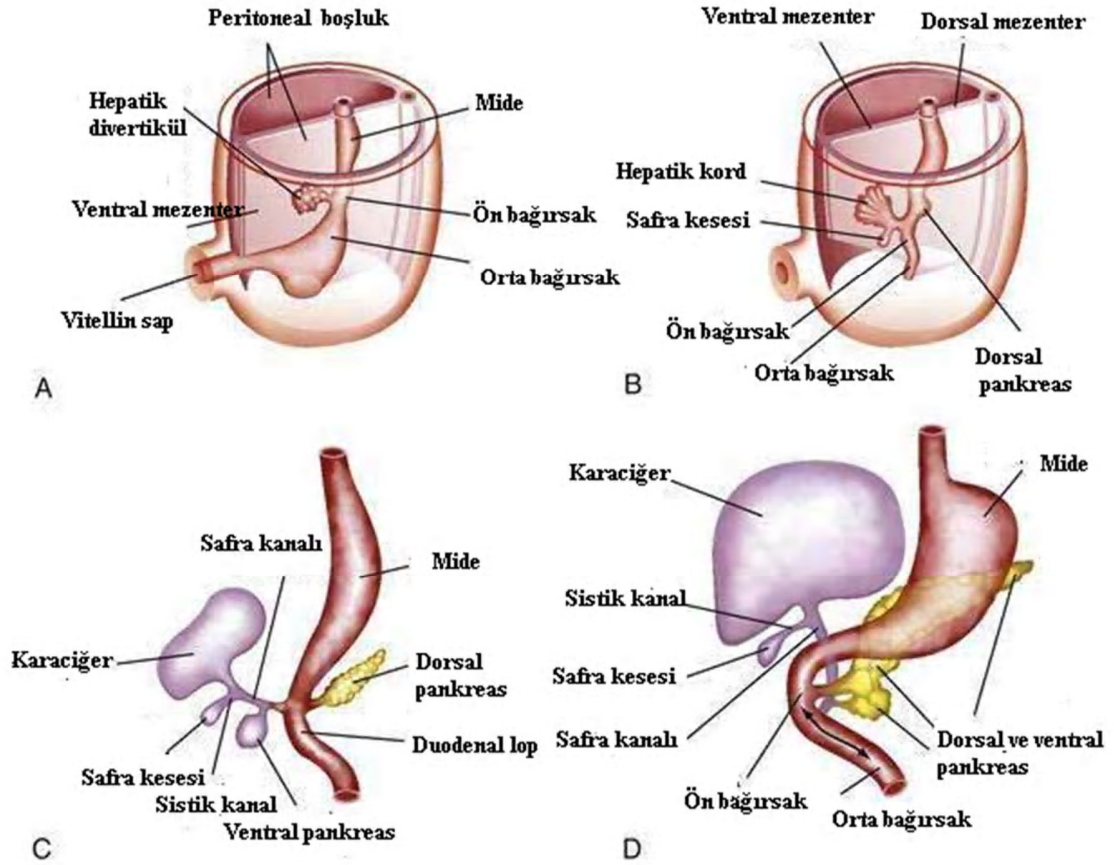


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Karaciğer Embriyolojisi

Karaciğer taslağı, safra kesesi ve safra kanalları embriyolojik hayatın 3. haftasının ortası ile 4. haftasının başında, ön barsağın kaudal kısmında öne doğru bir çıkıntı şeklinde belirir (Şekil 2.1). Karaciğer tomurcuğu veya hepatik divertikül olarak adlandırılan bu çıkıntı, hızla büyüyen hücre kordonlarından meydana gelir. Bu hücre kordonları, perikard boşluğu ve vitellus sapı arasında yer alan septum transversum yani mezodermal plağı penetre etmektedir (25). Septum transversum mesenteron ve kalp taslağı arasında bulunan splanknik mezodermal bir kitledir. Septum transversum bu kısımda diafragmanın centrum tendineum ile birlikte bu ventral mezenteri oluşturur. Hepatik divertikül ventral mezenterin iki yaprağı arasında hızla büyüyerek iki kısma ayrılır. Hepatik divertikülün daha büyük olan kraniyal kısmına primordium hepaticum (ilkel karaciğer), kaudal kısmı ise pars sistika adını alır. Endodermal hücreler çoğalarak hepatik hücre kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epiteli meydana getirir. Hepatik hücre kordonları, endotelle döşeli olan boşlukların çevresinde ağ oluşturarak karaciğer sinüzoidlerinin taslaklarını oluşturur. Karaciğerin fibröz dokusu, hemopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversumdaki mezenşimden köken alır. Hızla gelişen karaciğer karın boşluğunun büyük bir kısmını 5.-10. haftalar arasında kaplar. Karaciğer loblarının başlangıç büyüklükleri aynı iken, kısa bir süre sonra sağ lob sol loba kıyasla daha fazla büyümektedir (26).





Şekil 2.1 Karaciğerin embriyolojik gelişim evreleri A, 4. Hafta B ve C, 5. Hafta D, 6. Hafta (27)

İnsanda 1, 5 - 7. aylarda devam eden hematopoezis karaciğere parlak kırmızı bir renk verir. Karaciğerin 7. ve 9. haftalar arasındaki büyüklüğü bu hemopoetik aktiviteden dolayıdır. Fetusun toplam ağırlığının yaklaşık %10'unu 9. haftada meydana getirir. Hemopoetik aktivite gebeliğin son iki ayına kadar azalır, doğumda birkaç hemopoietik hücre adası kalır. Karaciğer hücrelerinin bir başka işlevi de, 12. haftadan itibaren safra yapımına başlamasıdır (28). Karaciğer tomurcuğunun küçük olan kaudal parçası safra kesesini oluştururken, tomurcuğun sapı da duktus sistikusunu oluşturmaktadır. Başlangıçta ekstrahepatik safra yolları epitel hücreleri ile tıkalı iken, bu hücrelerin dejenerasyonu ile vakuolizasyon oluşur ve kanallar açılır. Duktus hepaticus ve duktus sistikusunu duodenuma bağlayan kordon, duktus koledokusa dönüşür. Başlangıçta duodenum kavsinin ön yüzüne bağlı olan duktus koledokus, duodenumun büyümesi ve rotasyonu ile duodenumun arka yüzüne taşınır. 13.

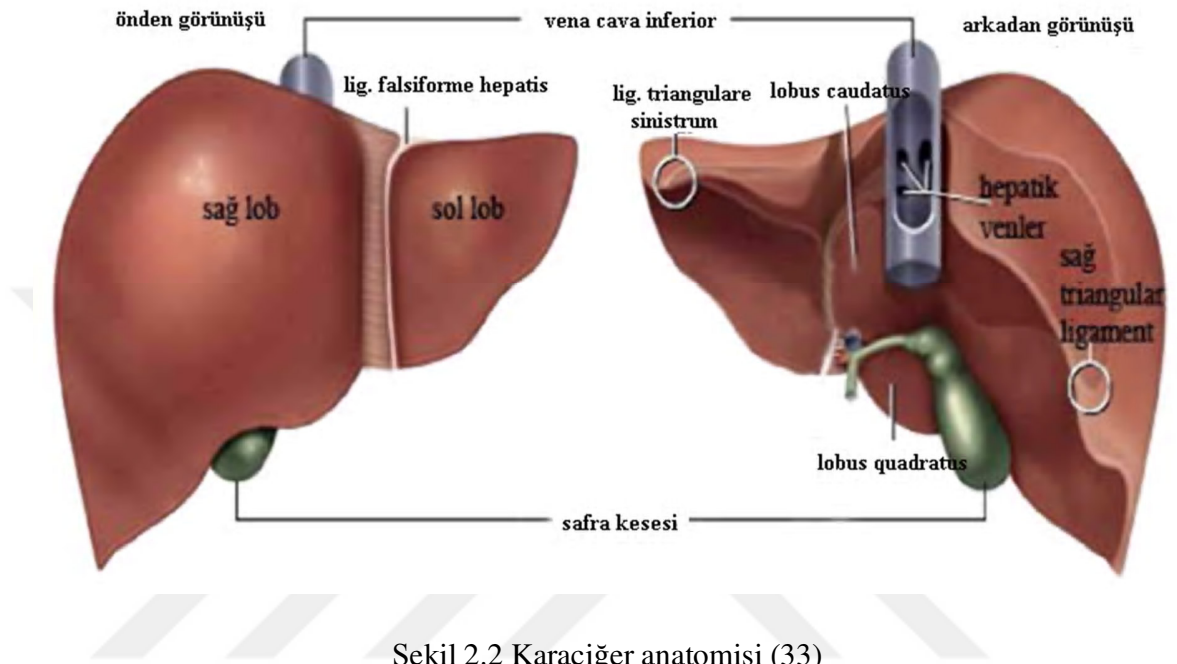
haftadan sonra duktus koledokustan geçerek duodenuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil rengini verir (26).

## 2.2 Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, karın boşluğunun sağ üst bölümünde, diafragmanın altında, mide ve barsakların üstünde yerleşim gösteren en geniş hacimli ve en ağır iç organdır. Yaklaşık 1200-1600 gr ağırlığında olup, yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %2 sini oluşturmaktadır (29). Sağ hipokondriumun hemen hemen tamamını, epigastriumun büyük bir bölümünü ve sol hipokondriumun da az bir bölümünü doldurur. Kaburgaların arkasında korunmuş pozisyonda bulunan karaciğerin az bir kısmı karın ön duvarı ile doğrudan temasta bulunmaktadır. Karaciğerin diafragmaya bakan yüzüne facies diaphragmatica ve karın içi organlarla komşuluk yapan yüze ise facies visceralis denir. Karaciğer sağ ve sol olmak üzere iki ana lobdan oluşmaktadır. Bunlardan başka visseral yüzünde lobus caudatus ve lobus quadratus adında iki küçük lob daha bulunmaktadır (Şekil 2.2). Karaciğer, erişkin ağırlığının yaklaşık 1/50'sini oluşturmasına karşın, fetal yaşamda aktif olarak kan yapımına da katıldığından dolayı daha büyüktür ve fetus ağırlığının yaklaşık 1/20 oluşturur. Karaciğer oldukça sıkı kıvamda ve sert bir organ olmasına karşın, esnekliği az ve gevrek olduğundan karın darbelerinde kolayca yırtılabilmektedir (30).

Karaciğer kesitinde; lobülü hepatis adı verilen 1-2,5 mm çapında kabartılar görülmektedir. Bu lobcuklar 5-6 köşeli prizmatik şeklinde ve birbirinden bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmıştır (31). Karaciğeri örten visseral peritonun altında sıkı bağ dokusundan meydana gelen capsula fibrosa perivascularis (Glisson kapsülü) bulunur (30). Bu kapsül iki yaprak halinde ayrılarak diafragmaya yapışır, bu iki yaprağa lig. coronarium anterior ve posterior denir. Bu bağlar sağda ve solda triangüler ligamentleri oluşturur ve ayrıca önde birleşerek lig. falciforme hepatisi meydana getirir. Falsiform ligament içinde, sol umblikal venin oluşturduğu ligamentum teres hepatis yer alır. Ligamentum teres hepatis ve lig. falciforme hepatis karaciğeri yüzeysel olarak sağ ve sol iki loba ayırır. Bu iki lob arasında ve porta hepatisin önünde kalan kısma lobus arasında quadratus denir. Gastrohepatik ligament ile karaciğer pedikülü ya da hepatoduodenal ligament (içinde karaciğere kan getiren portal ven

ve hepatic arterin ve biliyer elemanların olduğu yapı) karaciğeri yerinde tutan diğer anatomik oluşumlardır (32).



Şekil 2.2 Karaciğer anatomisi (33)

### 2.3 Karaciğerin Yapısal Organizasyonu

Karaciğer, diğer pek çok organ gibi parankima ve stromadan oluşur. Karaciğerin kendine özgü fonksiyonlarını yerine getiren hücre ve yapıların oluşturduğu organ içindeki küçük organizasyonların tümüne **parankima** adı verilir. Bunun yanı sıra, parankimayı oluşturan hücre ve diğer yapılara lojistik desteklik sağlayan ve çoğu kez organın çatı ve iskeletini oluşturan; kapsül ve trabekül gibi bağ dokusundan oluşan yapılar ve bu yapılar içerisinde organın içerisine girip dağılan damar ve sinirlerin oluşturduğu destek yapılarının tümüne de **stroma** adı verilir (34).

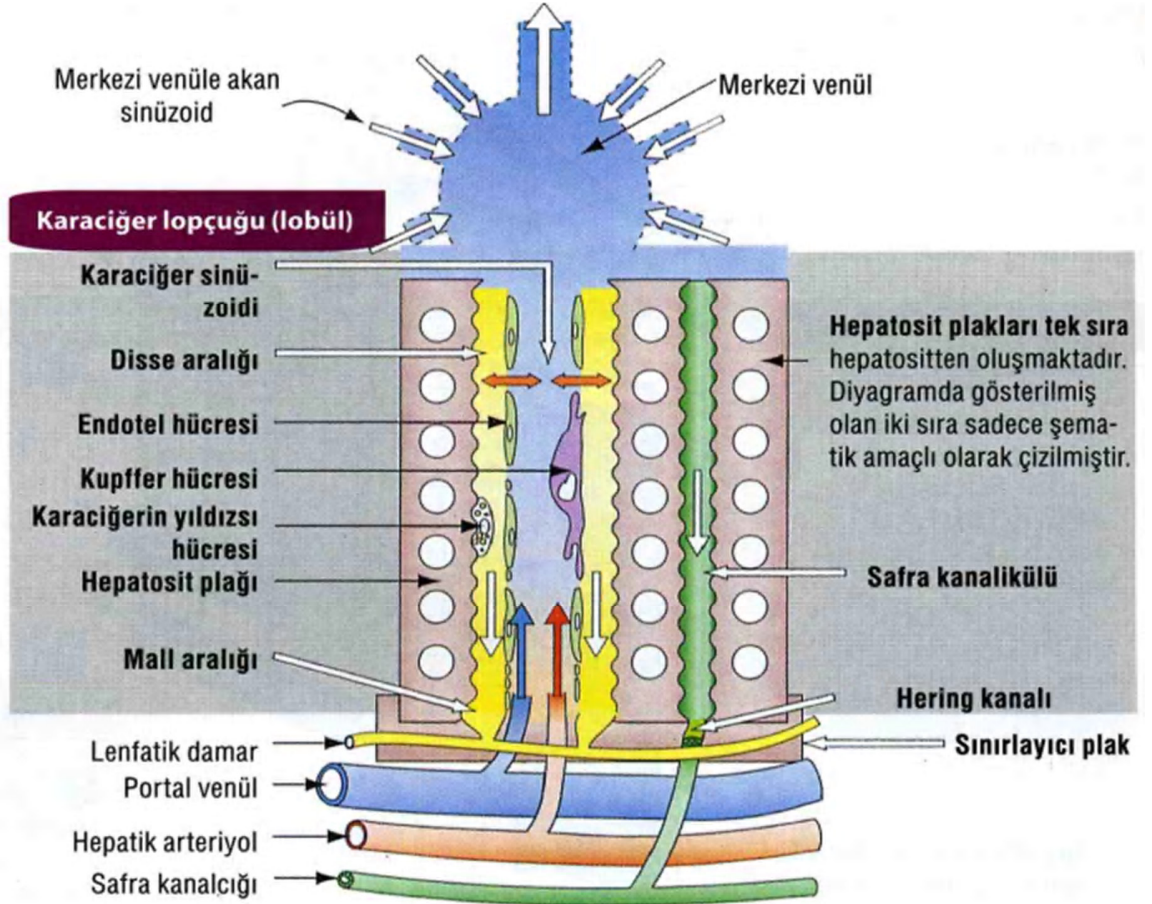
#### 2.3.1 Stroma:

Karaciğeri en dıştan saran seröz zara, **visseral periton** adı verilir. Karaciğer, diafragmatik yüzündeki area nuda adı verilen bölgesi dışında tümüyle visseral peritonla örtülmüştür. Visseral peritonun hemen altında sıkı bağ dokusundan yapılmış, bol kollajen lif ve az oranda elastik lif içeren özel bir kapsül vardır, bu kapsüle, **Glisson kapsülü** ya da **capsula**

**fibrosa** adı verilir. Glisson kapsülü'sü karaciğerin ön yüzünün (visseral yüz) orta kısımlarında kalınlaşır, burası organın hilumu veya porta hepatis adını alır. Porta hepatis'ten organa; arteria hepatica propria, vena porta hepatis ve sinir lifleri girer, ductus hepaticus ve lenf damarı çıkar. Hilumdan organın içerisine giren bağ dokusu bölmeleri, gittikçe incelerek içerisindeki damar ve sinirlerle beraber karaciğeri, **loblara** ve **lobüllere** ayırır. Glisson kapsülü terimi lobüller arasındaki bu bağ dokuyu da kapsar. Organa giren çıkan damar, sinir ve kanallar bu bağ dokusu içinde seyrederek (30, 34). Sonuçta karaciğer, bu ince bağ dokusu bölmeleri ile, sayıları yaklaşık 1 milyonu bulan **karaciğer lobüllerine** (~ 0.7 X 2 mm) ayrılmış olur. Hazırlanan histolojik kesitlerde lobüller, bal peteği gibi yan yana dizilmiş düzensiz altıgenler biçiminde gözlenir. Karaciğer lobüllerini birbirinden ayıran ince bağ dokusu bölmeleri, insanlarda çok iyi gelişmediğinden mikroskopik incelemelerde birbirlerinden ayırmak oldukça zordur. Oysa, deve, domuz ve kutup ayısı gibi hayvanlarda, bu bölmeler çok iyi gelişmiştir ve lobüller düzensiz altıgenler biçiminde kolayca birbirlerinden ayrılabilir. Bir karaciğer lobülünün komşu lobüllerle birleştiği köşelerde, ince bağ dokusu bölmeleri daha da genişler ve kabaca üçgen ya da dörtgen biçiminde izlenir. Lobüllerin kesiştiği bölgelerdeki bu genişlemiş bağ dokusu alanlarına, "**Portal alan**" (**portal aralık** veya **kiernan aralığı**) adı verilir. Portal alan ya da Glisson üçgeni adı verilen bu bölgelerde bir **venül** (portal venin bir dalı), bir **hepatik arter**, bir **safra kanalı** (ductuli biliferi) ) ve birçok lenf damarı ile sinir dalları bulunur (Şekil 2.3) (35). Bu yapıların tanınmasında şu özelliklere dikkat edilir:

- Venül kesitleri; genellikle en büyük olanıdır, duvarı ince ve lümeni düzensizdir.
- Hepatik arteriol kesitleri; venüle göre en küçük çaplıdır, duvarı kalındır, kas tabakası (media) belirgindir ve daha düzgün lümenlidir.
- Safra kanalı kesitleri; çapları orta boydur, duvarları tek katlı kübik, açık boyalı hücrelerle sınırlanmıştır (34). Portal kanal, lobülün dış hepatositleri ile çevrelenmiştir. Bağ dokusu stroması ve hepatositler arasındaki portal kanal sınırı dar bir bölge oluşturur, buraya **Mall bölgesi** adı verilir ve karaciğerdeki lenf yapım bölgeleri olduğu düşünülmektedir. Bu üçlü yapının yanı sıra, portal alanda lenfatik damarlara ait kesitler de izlenebilir. Düzensiz altıgen biçimindeki lobüllerin portal alanlar dışında kalan sınırlarını döşeyen ince bağ

dokusu, sadece çok ince retiküler liflerden oluşur. Gümüşleme tekniği ile karaciğer stromasındaki lobülleri çevreleyen ince retiküler telcikler gösterilebilir (30, 34).



Şekil 2.3 Bir karaciğer lopçuğunun hüresel yapılanmasını gösteren şematik çizim (36)

### 2.3.2 Parankima:

Karaciğer, parankim hücreleri olan hepatositlerden meydana gelir. Hepatositlerin karaciğer parankiması içerisinde nasıl organize oldukları ve bu organizasyonun anatomik ve fonksiyonel geçerliliği günümüzde de tartışma konusudur. Karaciğer parankiminin organizasyonu ile ilgili kabul edilen üç önemli model vardır:

**Klasik lobül:** Ortasında vena centralis bulunan, periferde portal alanlarla sınırlı altıgen şekilli yapıdır. Vena centralisten başlayarak perifere ışınal tarzda birbirleri ile

anastomozlaşarak ilerleyen hepatosit kordonlarını ve aralarında sinüzoid kapilleri içerir (37). Bu lobulasyonda kan akışı, hepatik arter ve portal venden lobül merkezindeki vena centralise, safra akışı ise merkezden periferdeki safra duktusuna doğrudur.

Bu model karaciğerin mikroskopik tanımlanmasında bir kolaylık sağlarken karaciğer parankimasının tam bir organizasyonunu veremediği düşünülmüştür. Özellikle bazı hastalıkların, parankimanın spesifik bölgelerinde dejenerasyona yol açması birçok araştırmacıyı başka yapı modellerini tasarlamaya yöneltmiştir (30).

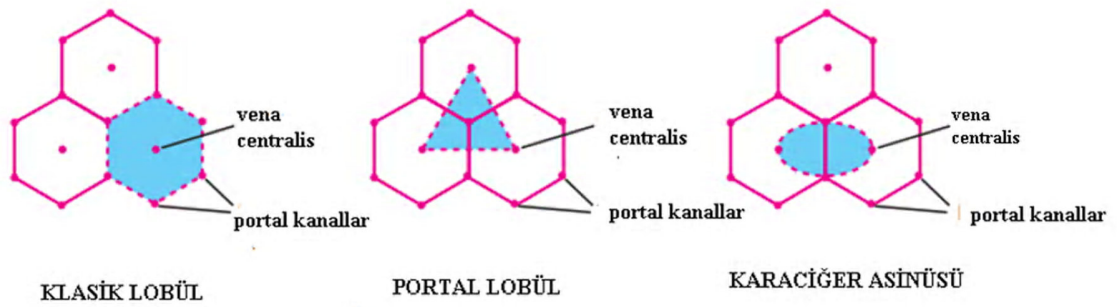
**Portal Lobül:** Diğer ekzokrin bezlerin tipik lobuler organizasyonu ile uyumadığından dolayı, karaciğer lobülünün klasik tanımlaması yeterli görülmemiş, hepatositler tarafından salgılanan safranin salgılanışı göz önünde bulundurularak portal lobül tasarlanmıştır. Bu lobülde, portal kanal lobülün merkezi olarak düşünülmüş ve üçgen yapıdaki lobülün köşelerini komşu üç klasik lobülün vena centralisleri oluşturmuştur. Böyle bir lobülde safra salgısının akışı periferden merkezdeki safra duktusuna, kan akışı ise merkezden periferdeki vena centralislere doğrudur. Portal lobül modeli, klasik karaciğer lobülüne göre daha fonksiyonel bir model olmasına karşın, bazı patolojileri açıklamada yetersiz kalmaktadır (30).

**Karaciğer asinusu (Portal asinus):** Diğer iki modele göre daha fonksiyonel ve daha fazla kabul görmüş bir modeldir. Portal ven, safra duktusu ve hepatik arter ile bağlantılı olan parankimal dokunun, dikdörtgen prizma şeklindeki lobülün karşı iki köşesinde vena centralisler, diğer iki köşesinde ise portal kanallar bulunur. Bu yapı **karaciğer asinusu** adını alır. Bu lobül, hepatositlerin buldukları yere, dağıtıcı damarlardan aldıkları farklı içerik ve miktardaki kanlanmaya göre 3 zona ayrılırlar.

**Periferik Zon (Zon 1):** Kan akışı asinusun periferinden merkezine doğru olduğundan, oksijenden ve besin maddelerinden en zengin kanla karşılaşan hücrelerden oluşur. Fonksiyonel olarak lobüldeki en aktif hücrelerdir. Glikojen en çok bu hücrelerde depolanır ve açlık durumunda, glikozu ilk olarak kana salan yine bu hücrelerdir. Kandan gelen toksik maddelerle de ilk önce bu zondaki hücreler karşılaşır. Bu zondaki hücrelerde GER ve kristal mitokondrionlar özellikle boldur.

**Ara Zon (Zon 2):** Orta bölgedeki hücrelerdir. Orta düzeyde aktivite gösterirler.

**Santral Zon (Zon 3):** Vena centralise komşu en içte kalan hücre gruplarından oluşur. Periferik zondaki hücrelere göre daha az aktiftirler. Organelleri daha az gelişmiştir. Karaciğerde patolojik ve fizyolojik yağ birikimi bu zondaki hücrelerde daha çok görülmektedir. Bu zondaki hücreler özellikle agranuler endoplazmik retikulumdan zengindir. Karaciğerde, klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü tanımlamalarının yapılması, bir görüş ayrılığını değil aksine birbirini tamamlayıcı unsurlar olarak kabul edilmelidir. Karaciğerin fonksiyonel yapısı göz önünde tutulduğunda, bu farklı lobulasyonların olayı kavramada daha yararlı olduğu düşünülmektedir (30).



Şekil 2.4 Klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsünün karşılaştırılması (34)

## 2.4 Hepatositin Sitolojik Özellikleri

Hepatositler, ortalama 20-30 µm çapındadırlar ve vena centralisten lobülün periferine doğru radyer tarzda uzanan tek ya da iki hücre kalınlığında hücre kordonları oluştururlar. Bu kordonlar, lobül içerisinde birbirleriyle anastomozlaşmıştır. Karaciğerdeki tüm lobüllerdeki hepatositler adeta birbirlerine zincirleme olarak karmaşık bir labirent şeklinde bağlanmış durumdadır. Hepatositlerin yaptığı komplike labirentik kordonların arasında kalan boşluklarda da sinüzoidal kapillerler bulunmaktadır. Ortalama yaşam süreleri yaklaşık olarak 5 aydır (38,39).

Hepatositler ışık mikroskopik olarak poligonal veya kübik şekilli olup, nukleusları yuvarlak ve merkezdedir. Nukleusları heterokromatin yapıda olup bir veya iki nukleolus içerir. Sitoplazmaları asidofiliktir ve organel bakımından zengindirler. Hepatositlerde bol

miktarda endoplazmik retikulum bulunur. Ayrıca karaciğer metabolik aktivitesi yoğun bir organ olduğundan, peroksizom, lizozom, mitokondri gibi organellerde yoğun olarak bulunur. Sitoplazmada yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahip çok sayıda mitokondri çeşitli hücre işlevlerinde kullanılmak üzere ATP sentezler. Yüksek miktarda enerji gereksinimi duyan hepatositlerde vital ve enzim boyamalarıyla yaklaşık 800-2000 mitokondri olduğu gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin ile boyanmış karaciğer preparatlarında sitoplazma, mitokondrilerin çok olması nedeniyle asidofilik boyanır. Hepatosit lizozomları hücre içi organellerin yıkım ve dönüşümü için önemlidir. Lizozomlar yağlanmış plazma glikoproteinlerini, bazolateral bölgede hepatik lektin membran reseptörü ile asialoglikoprotein reseptörü içine alarak yıkıma uğratar. Lizozomlar ferritinin yıkım ürünü olan eriyebilir ferritin ile erimeyen formdaki hemosiderin şeklinde bulunan demiri depolarlar (40,41).

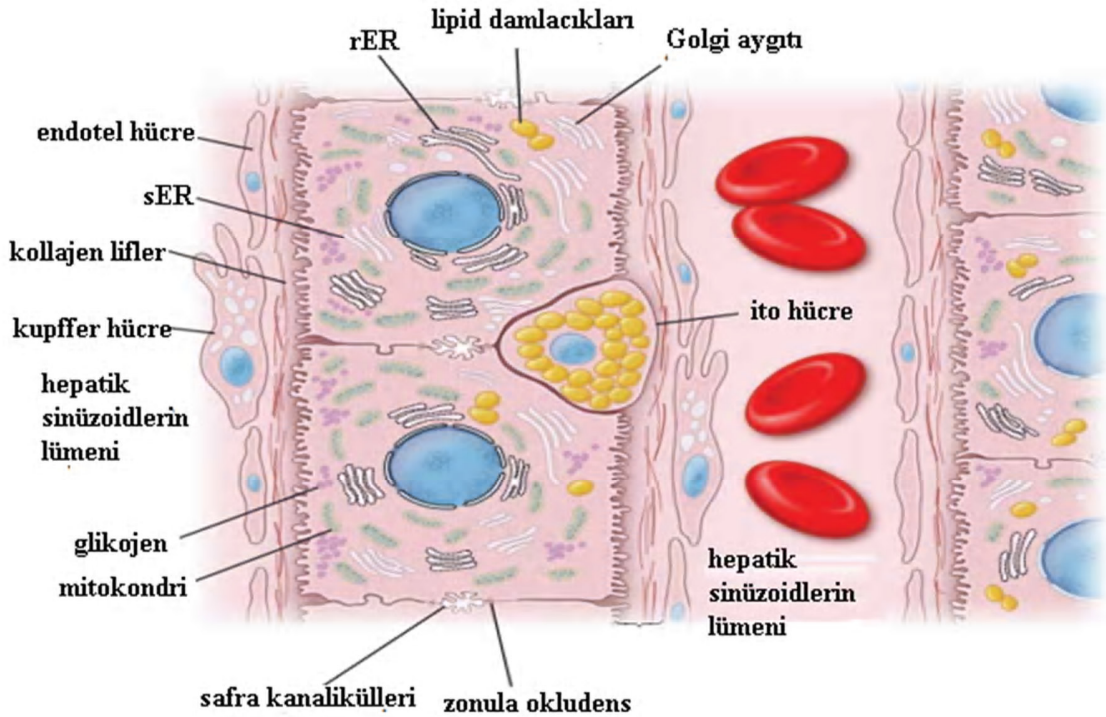
Hepatositler, çapları 0,2-1µm arasında değişen yaklaşık 200-300 adet peroksizom içerirler. Daha önceden var olan peroksizomlardan tomurcuklanma ile meydana gelen peroksizomlar, değişik metabolik olaylarda kullanılan birçok enzim içerir. Membran ile çevrili bu peroksizomlar hidrojen peroksit açığa çıkaran yüksek miktarda oksidazlar içermektedir. Hidrojen peroksit toksik bir metabolit olduğu için katalaz tarafından yıkıma uğrattılır (42,43).

Bir hepatositin bazolateral bölge ve apikal bölge olmak üzere iki hücresel bölgesi bulunur. Bazolateral bölge disse aralığına bakar ve mikrovilluslarla kaplı yüzeydir. Komşu hepatositlerin yan yüzeylerinde bulunan bağlantı birimleri fonksiyonel olarak hücreler arası iş birliği sağlar. Bazolateral bölgeden kandan bazı maddeler emilir ve hepatositlerce sentezlenen maddeler salgılanır. Bu yapılar hücrenin sekresyon ve absorpsiyon alanını yaklaşık 6 kez artırır. Apikal yüz ise; safranin ilk salgılandığı bölümün duvarlarını oluşturur. Komşu hücre ile sıkı temasta olan bu yüzde, özellikle safra kanalikülünün hemen altında ve üstünde kalan bölgelerde, hücreler arasında zonula okludens tipi sıkı bağlantı birimleri bulunur (Şekil 2.5). Böylece safranin bu kanalikül dışına sızması önlenmiş olur ve bir tür kan-safra bariyeri oluşturur. Yani bu bölge safranin geri kaçışını önler (44,45,46). Genelde merkezi yerleşim gösteren tek çekirdeğe sahiptirler fakat iki ve çok çekirdekli hücrelere de rastlanır. Hepatositlerin yaklaşık %20'si iki çekirdeklidir. Bu binükleer



hepatositler, nükleus volümü ve DNA içeriğinin artmasıyla gerçekleşen endomitozis sonucu meydana gelir (42,47).

Hepatik hücre plakaları karaciğer lobulünün periferinden merkeze doğru yönelmişlerdir. Labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı oluşturacak şekilde serbestçe anastomozlaşırlar. Bu plaklar arasındaki boşlukta kapillerler bulunur ve bu özel tipteki kapillere karaciğer sinüzoidleri denir (46). Normal kapillerlere göre daha geniş ve düzensiz olan sinüzoidlerin çapları 9-12  $\mu\text{m}$  arasında değişir (Şekil 2.5). Portal kanalda bulunan vena portanın ve arteria hepaticanın dallarından gelen kan, sinüzoidler ile vena centralise taşınır. Bu şekilde sinüzoid içerisinde hem arteriyel hem de venöz kan karışarak bir arada seyrederek (30).



Şekil 2.5 Hepatositlerle karaciğer sinüzoidleri arasındaki ilişkiyi gösteren şematik çizim (34)

### 2.4.1 Sinüzoidler

Geçirgen endotelyal bariyerine, sinüzoidlerin girişinde koruma sağlayan yerleşik makrofajlara (Kupffer hücreleri), bazıları büyük granüler lenfositler olmak üzere karaciğere birleşik lenfositlere ve vitamin A depolayan stellat hücrelerine (ito hücreleri) sahiptir (48)

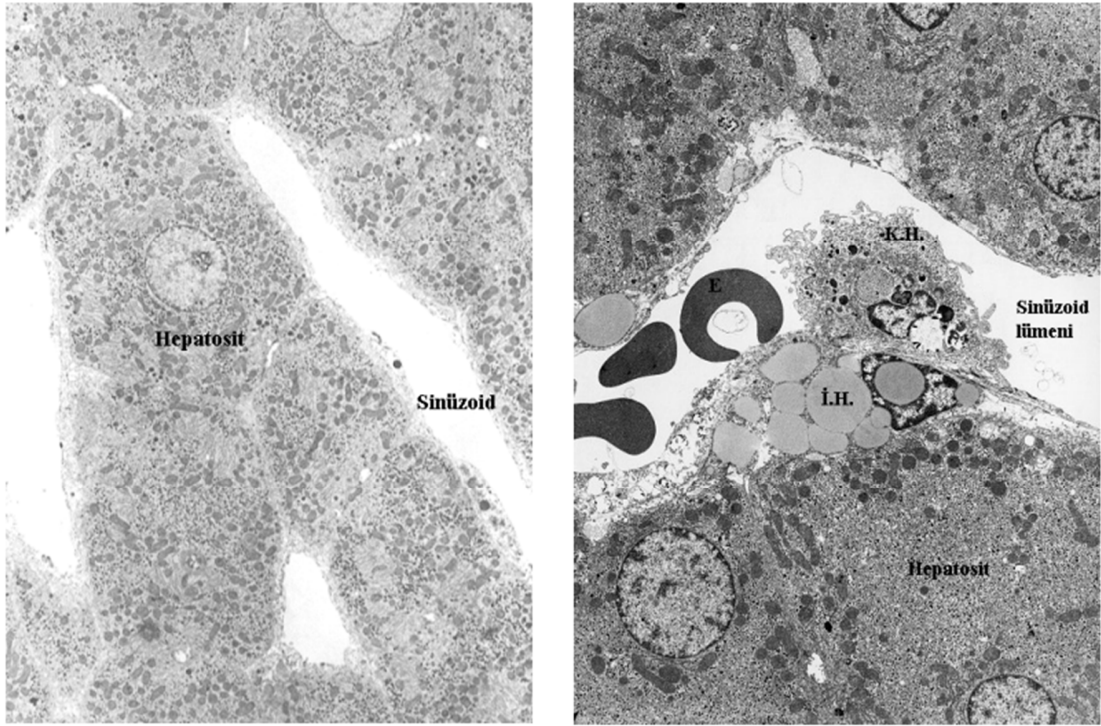
Endotel hücreleri altında bulunan hepatositler sinuzoid duvarından “Disse aralığı” adı verilen subendotelyal bir boşlukla ayrılmıştır. Bu aralıkta hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Böylece sinuzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında makromoleküllerin alışverişi kolaylıkla sağlanır. Bu geçiş, sadece çok sayıda makromoleküllerin (örn: lipoproteinlerin, albumin, fibrinojen v.b.) hepatositler tarafından kana verilmesi nedeniyle değil; aynı zamanda bu makromoleküllerin çoğunun hepatositlerce alınıp katabolize edilmesiyle fizyolojik bir önem taşır (46). Sinüzoidler, böylelikle gerçek taban membranlarına sahip olmaması vasıtasıyla disse aralığı boyunca hepatositlerle giren kan arasındaki alışverişi ve immünolojik savunma mekanizmalarını kolaylaştırır (49).

#### 2.3.1.1 Kupffer Hücreleri (Yıldız Hücreler)

Kupffer hücreleri karaciğerde bulunan ve endotelyal sistemin bir bölümünü oluşturan özelleşmiş makrofajlardır. İlk kez Karl Wilhelm von Kupffer tarafından 1976 yılında gözlemlenmiştir (50). Kupffer hücreleri mononükleer fagositik sistemine ait makrofajlardır. Bu hücrelerin gelişimi kemik iliğinde sırası ile promonosit, monoblast ve monosit farklılaşması ile başlar. Monositler kanda Kupffer hücrelerine dönüşerek karaciğerde yerleşir. Uzantılı yıldız şekilli bu hücrelerin gövdelerinin büyük bölümü lümeninde izlenir. Sitoplazmik uzantıları ile sinüzoid duvarına tutunur. Bu hücreler kan yolu ile gelen antijenleri ve hasarlanmış eritrositlerden kaynaklanan sitoplazmik parçaları ve demiri fagosite eder. Ferritin hemosiderin granülleri şeklinde bu hücrelerde depolanabilir (37).

Kupffer hücrelerinin sitoplazmaları organelden zengindir, lizozomlara benzeyen yoğun cisimler, farklı büyüklükte vakuoller ve Golgi kompleksi ile sitoplazmanın her tarafına dağılmış GER sistemaları bulunur (Şekil 2.6) (30). Sinüzoidal lümen içerisinde bulunan Kupffer hücreleri, endotelyal duvarın geniş alanını kaplar ve bu hücreler, lateks partikülleri gibi çoğu maddeyi, denatüre albüminleri, bakteri ve immün kompleksleri fagositoza uğratar

(51). Bu hücrelerin fagositoz yeteneğini asit-viral boyalar ile (örneğin: Trypan blue) gösterilebilme olasılığı vardır. Bundan başka Kupffer hücrelerinin antikor yapımında da rolleri vardır (52).



Şekil 2.6 Karaciğer sinüzoidlerinin elektron mikroskopunda görünüşleri. K.H.; Kupffer hücresi, İ.H.: İto hücresi, E: Eritrosit (30)

Bu hücreler dışında karaciğerde pit hücreleri olarak isimlendirilen bir lenfosit subpopulasyonu bulunur. Parankimal olmayan hücrelerin yaklaşık %1'ni oluşturan bu büyük granüler lenfositler diğer organlarda yerleşen Natural killer (NK) hücrelerin karşılığıdır. Bu hücrelerde Kupffer hücreleri gibi kemik iliği kökenlidir. Karaciğerde kalma süreleri yaklaşık iki hafta kadardır. Hayatta kalmaları Kupffer hücrelerine bağımlıdır (37).

### 2.3.1.2 İto Hücreleri

Perisinüzoidal alanda yerleşen bir başka hücre tipi liposit veya İto hücresi olarak (yağ depolayıcı hücreler, stellat hücreler veya perisinüzoidal hücre) isimlendirilen hücrelerdir.

Mezenkimal orijinli olan bu hücreler sitoplazmik lipid damlalarında retinil esterleri şeklinde A vitamini depolar. Altın kloridle de belirlenen bu hücreler rutin yöntemlerle sitoplazmalarında yer alan lipid damlaları nedeniyle kolay tanınır (Şekil 2.6). Bu hücrelerden retinol olarak salınan A vitamini proteinlere bağlanarak retinaya ulaşır. Burada içerde 11-cis retinal opsin proteini ile bağlanarak rodopsini oluşturur. Rodopsin görmeyi sağlayan bir retina pigmentidir. Bu hücrelerin ekstrasellüler matris proteinlerini ve proteoglikanları, büyüme faktörleri ve sitokinleri salgılayabildikleri ve prostoglandin ve tromboksan A<sub>2</sub> gibi regülatuar maddelere cevap olarak sinüzoid lümenin ayarlayabildiği bilinmektedir. Normal şartlarda karaciğer hücrelerinin yaklaşık %5-8'ni oluşturan İto hücrelerinin lipid depolamaları yanı sıra lipid yapısındaki antijenleri NK hücrelere sunarak onların proliferasyonunu stimüle eden antijen sunan hücreler olabilecekleri öne sürülmüştür. Karaciğer hasarını takiben İto hücreleri aktive olur, sitoplazmalarında lipid miktarı zamanla azalır. Hücrelerde proliferasyon, kontraktilite ve kemotaksis görülür. İçerdikleri desmin ve  $\alpha$  aktin sayesinde kasılarak sinüzoidin vasküler rezistansını artırır. Bu durum portal hipertansiyonla sonuçlanır. İto hücreleri kronik inflamasyon veya sirozda myofibroblastlara dönüşerek tip I ve tip III kollajen sentezler. Myofibroblastlardan farklı olarak reelin içermeleri iki hücrenin ayrılmasını sağlar. Reelin ekspresyonu karaciğer hasarını takiben artar. Parankima yerine bağ dokusunun yapımı, fonksiyonel olmayan bir dokunun alması anlamına gelir. Bu durum sirozun en önemli histopatolojik özelliğidir (37).

### 2.3.1.3 Endotel Hücreleri

Endotel hücreleri; çok ince ve yassı, nukleus bölgesinde hafif kabartı yapan, yassı nukleuslu hücrelerdir (Şekil 2.5). Nispeten az organelle sahip olan sitoplazmalarında pinositotik veziküller bulunur. Komşu endotel hücreleri arasında düzenli aralıklar bulunur. Hücreler bir diyafram olmaksızın büyük fenestrasyonlar gösterir ve bir bazal lamina üzerine oturmazlar. (30).

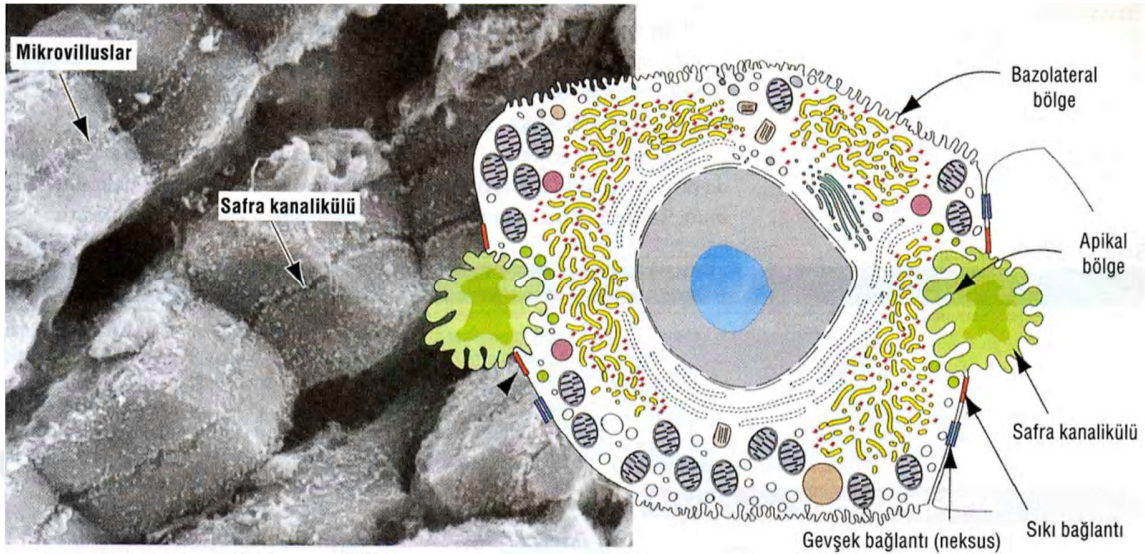
### 2.3.2 Disse Aralığı (Perisinüzoidal Bölge)

Hepatosit ile sinüzoidleri döşeyen endotel hücreleri arasındaki potansiyel boşluğa "Disse Aralığı" adı verilir. Bu aralığa subendotelyal boşluk da denilebilir. Burada karaciğer

hücrelerinden uzanan bol mikrovillus, retiküler lifler ve az miktarda kollagen lifler bulunur ancak bağ dokusu ara maddesi bulunmaz. Disse aralığında kanın şekilli elemanları yoktur fakat kan plazması buraya serbest olarak girip çıkabilir. Plazmanın disse aralığına serbestçe girip çıkışı, kan ile karaciğer hücreleri arasında metabolitlerin aktif değişiminin kolayca yapılmasını sağlar. Karaciğer hücre yüzeyinin mikrovilluslar ile genişlemiş olması bu değişimi artırır. Fetal karaciğerde, bu bölge kan yapıcı hücre adacıklarını içerir, erişkinlerde ise kronik anemi durumunda bu bölgede kan yapıcı hücreler tekrar görülebilir (30). Disse aralığı içinde hem endotel hem Kupffer hücrelerinden türeyen perisinuzoidal hücreler bulunur. Retiküler ve kollajen fibril sentezi, fetal karaciğerde hemotopoezi sağlayan kök hücre olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Daha çok ara ve periferik zonda bulunur (38).

### **2.3.3 İntrahepatik Safra Kanalları (Safra Kanalikülleri)**

Hepatositlerin birbirine komşu yüzlerinde yer alan intersellüler mesafe safra kanaliküllerini oluşturur. Safra kanalikülleri, karşılıklı plazma membranlarının periferden bağlantı kompleksleri ile birbirine bağlanması ile oluşan, ışık mikroskopik düzeyde izlenmeyen intersellüler alanlardır. Hücrelerin arasında zonula okludens, adherens ve desmozomlar bulunur. Hepatosit yüzeyinden kanaliküle doğru mikrovilluslar uzanır (Şekil 2.7). Mikrovilluslar ATPaz gibi enzimleri taşıyan membran alanını artırır. Safra kanalikülleri lobülün periferinde yer alan tek katlı kübik epitel ile döşeli Herring kanalları ile devam eder (37). Vena centralis çevresinde kör uçlar şeklinde başlayan bu kanaliküller (Herring kanalı) küçük safra kanallarına açılır. Her lobulde 12-15 tane Herring kanalı bulunmaktadır. Herring kanalları lobüllerin periferinde yerleşmiş, 20 µm çapında dar ve kısa kanalcıklardır. Hücreler arasındaki safra salgısının kanalcık dışına sızmasını önler (52). Bu kanalların bir yüzünü parankimal hücreler, diğer yüzünü boşaltım kanalı epiteline benzer hücreler döşer. Bu kısa geçit bölgesinden sonra küçük tubuluslar yer alır. Safra duktuli ya da Cholangiole adı verilen bu yapılar tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Bunlar portal kanallardaki safra kanalı ile devamlılık gösterir (30).

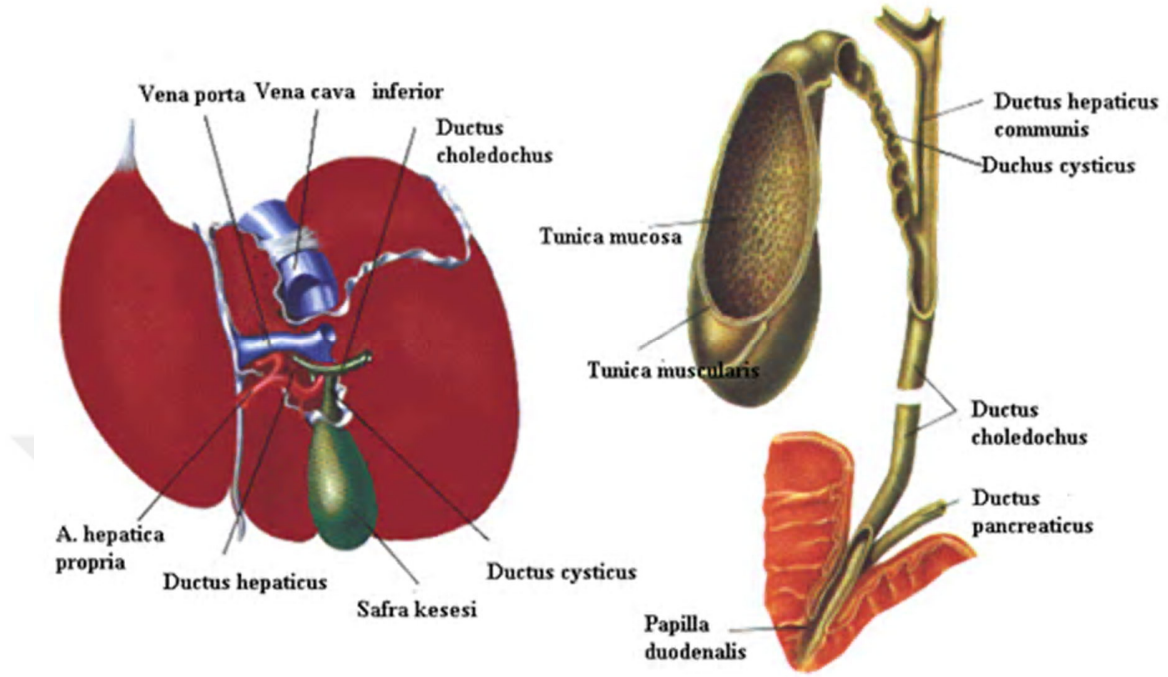


Şekil 2.7 Safra kanalikülü ve hepatositin kutuplaşması (37)

Kanalıklar içerisinde bulunan safra, lobülden çıktıktan sonra lobul arasında yer alan lobüller arası safra kanalları aracılığı ile lobüller arasından toplanarak karaciğerden ayrılır (52).

### 2.3.4 Ekstrahepatik Safra Kanalları

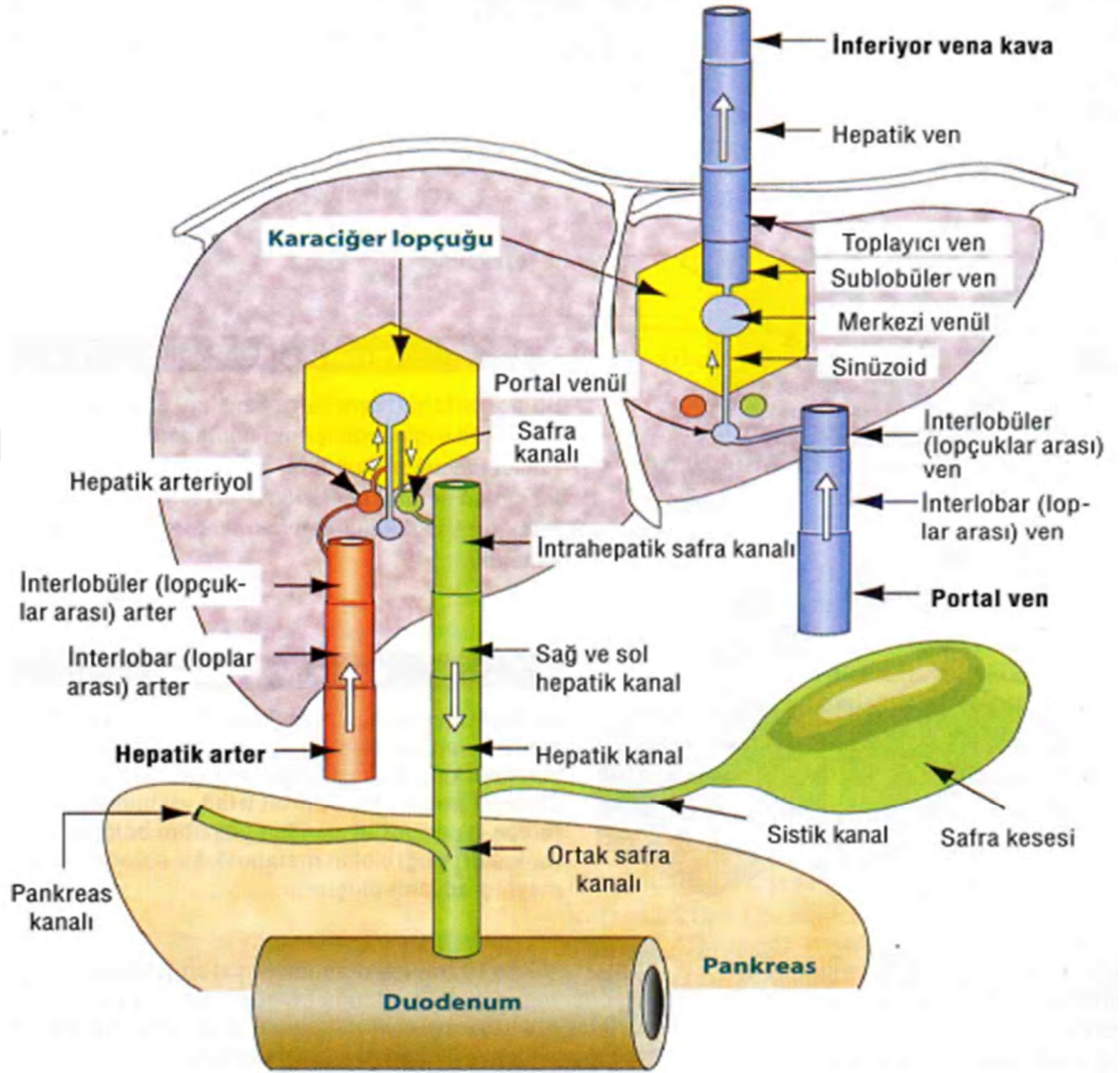
Karaciğerin iki lobundan gelen iki büyük safra kanalı porta hepatiste tek bir kanala dönüşür. Buna ductus hepaticus denir. Ductus hepaticus, ductus sistikus ile safra kesesine, ductus koledokus ile duodenuma açılır. Bu üç duktusa **ekstrahepatik safra duktusu** denir. Duktus choledochus duodenuma açılmadan hemen önce ductus pancreaticus ile birleşir. Birleşen iki kanal hafifçe genişleyerek Vater ampullası'nı şekillendirir (30). Safra kanalının duvarı sindirim kanalı organlarının duvarında bulunan histolojik tabakaları içerir (muskularis mukoza hariç). Pankreas kanalının da açıldığı bu bölgede duodenumun tunika muskularisi kalınlaşarak akışı kontrol eden bir sfinkter görevi yapan Oddi sfinkterini oluşturur (37). Ampulla ve Oddi sfinkteri birlikte safranın bağırsak içine akışını kontrol ederler (Şekil 2.8) (30).



Şekil 2.8 Karaciğerden safra kanallarının çıkışı ve ekstrahepatik safra yolları (30).

## 2.4 Karaciğerin kan dolaşımı

Karaciğerin görevlerinin iyi anlaşılabilmesi için kan dolaşımındaki yerinin ve organ içi kan dolaşımının iyi bilinmesi gerekir çünkü karaciğerin kan dolaşımı diğer organlardan oldukça farklıdır. Diğer organlarda, oksijenden ve besinlerden zengin yüksek basınçlı arter kanı gelir, organ içinde dağılır ve ven kanı halinde organı terk eder. Karaciğerde ise durum oldukça farklıdır. Karaciğer vücutta dolaşan toplam kanın %15'ini içerir (53). Karaciğer bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek üzere vücudun dolaşım sistemi içinde yerleşmiştir. Karaciğer portal ven ve hepatik arter olmak üzere iki kan damarından beslenir (39). Karaciğere kan vena porta'dan ve arteria hepatica propria'dan gelir (Şekil 2.9). Vücutta arteriyel ve venöz kanın birbirine karıştığı tek organ karaciğerdir. Vena porta ile gelen kan, karaciğere gelen kanın yaklaşık %75'ini oluşturur. Bağırsaklarda emilen sindirim ürünlerinden (lipidler hariç; bunlar lenfatik damarlar yolu ile taşınır) zengin, oksijenden fakirdir ve düşük basınçlıdır. Bu yolla karaciğer genel dolaşım sistemi ile sindirim sistemi arasında yer alır. Arteria hepatica propria ile gelen kan toplam kanın %25'ini oluşturur. Oksijenden zengindir ve yüksek basınca sahiptir (30).



Şekil 2.9 Karaciğerin: Kan damarları ve kanalları (37)

Karaciğerin hilumundan bir bağ dokusu kılıfıyla sarılı olarak organın içerisine beraber giren v. porta hepatis ve a. hepatica propria sağ ve sol loba giden a.v. interlobarisler'e dallanır. Gittikçe incelen dallar, lobüllerin kesiştikleri portal alanlarda A.V. interlobularis adlarını alır. Lobüllerin retiküler liflerle çevrili olan sınırlarında dağıtıcı arteriol ve venül olarak daha da inceliyor ve lobülün sınırlarında dolaşır. Dağıtıcı damarlardan ayrılan hem arteryel hem venöz kan birbiri ile karışarak özelleşmiş bir kapiller türü olan sinüzoidlere akar. Böylece sinüzoidler, hem arteryel hem de venöz kan içerir. Bu ilginç ve sıra dışı dolaşıma "pleksus mirabilis" (hayret verici pleksus) adı verilir. Sinüzoidlerdeki kan



karaciğer lobülünün ortasında yerleşen vena centralis'e akar. Sentral venler birleşerek vena sublobularisleri, onlar da Vena hepatica'yı oluşturur. V. hepatica karaciğeri terk ettikten sonra v. cava inferior'a açılır (32).

## **2.5 Karaciğerde Lenfatik Dolaşım**

Karaciğerdeki lenf diğer lenf sıvılarından daha fazla protein içerir. Albümin/globülin oranı plazmadan daha yüksektir. Torasik duktusa gelen lenfin büyük bir bölümü karaciğerden, az bir bölümü mezenterik lenfatikler yoluyla barsaklardan gelir. Lobül içinde lenfatik damar yoktur. Disse aralığı lenfin oluştuğu aralıktır. Plazma disse aralığına geçer. Lenf sıvısı lobülün periferine ilerler, "Kiernan aralığı"nda lenfatik damarlara boşalır. Septumlarda ve Glisson kapsülünde zengin bir pleksus oluşturur çapı büyür, hilusa yakın en büyük hacime ulaşır (35).

## **2.6 Karaciğer Rejenerasyonu**

Karaciğer hücreleri yavaş yenilenmesine karşın rejenerasyon için uygun bir organdır. Cerrahi yollarla karaciğerin bir kısmının alınması veya toksik maddelerin etkisiyle kaybı, rejenerasyonu başlatır. Hücre proliferasyonu periportal alanda başlar ve lobülün ortasına doğru hücre dizileri yeniden şekillenir. Hücreler bölünmeye devam ederken metabolik fonksiyonlarını devam ettirir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, karaciğerin 2/3'ü cerrahi yolla alındığında, kalan hücrelerin mitozla bölünmesiyle, kaybolan kitlenin onarılıp yerinin doldurulduğu gözlenmiştir. Ancak bu şekildeki büyük kayıpların olduğu durumlarda mitozla çoğalan hücreler normal lobulasyonu oluşturamaz ve düzensiz adacıklar halinde gruplaşır (53).

## **2.7 Karaciğerin Görevleri**

Karaciğer, bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek ve depolamak üzere vücudun dolaşım sistemi içinde oluşmuş bir organdır (54). Karaciğerin birçok metabolik ve yaşamsal fonksiyonu vardır. Bunlar; sindirilen proteinlerin, karbonhidratların ve lipidlerin metabolize edilmesidir.

**Karbonhidrat Metabolizması:** Birçok değişik işlemi kapsayan karbonhidrat metabolizması;

- a) Glikojen depolama,
- b) Galaktoz ve fruktozun glikoza dönüştürülmesi,
- c) Glikojenez
- d) Karbonhidrat metabolizması ara ürünlerinden birçok ara ürünün oluşmasıdır.

Karaciğer kandaki fazla glikozu glikojen şeklinde depo eder. Kandaki glikoz seviyesi düştüğünde ise tekrar glikojeni glikoza çevirerek kana verir. Buna karaciğerin glikoz tamponlama fonksiyonu adı verilir (55,56,57).

**Yağ Metabolizması:** Yağ metabolizması kısmen vücudun tüm hücrelerinde yapılsa da, bu metabolizmanın başlıca işlemleri karaciğerde yapılır. Bu özgün fonksiyonlar şöyle özetlenebilir;

- a) Yağ asitlerinin oksidasyonu,
- b) Kolesterol, fosfolipit ve lipoprotein sentezi,
- c) Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi (57).

**Protein Metabolizması:** Karaciğer hücresi, öncelikle kendi varlığı için gerekli proteinlerin senteziyle beraber çeşitli plazma proteinlerinin de sentezine katılır. Karaciğerin protein metabolizmasındaki görevleri; plazma proteinlerinin sentezi, vücut sıvılarından amonyağın temizlenerek üre oluşumu, aminoasitlerin deaminasyonu ve değişik aminoasitlerin sentez ve birbirine dönüşümüdür. Karaciğerin sentezlediği plazma proteinleri arasında ise bağlayıcı ve taşıyıcı proteinler (transferrin, seruloplazmin, albümin, haptoglobulin), hemostaz elemanları (protrombin, fibrinojen vb.), proteaz inhibitörleri (anti-trombin-3, alfa-1 antitripsin) ve doku inflamasyonunda rol oynayan immünglobülinler ve C-reaktif protein bulunmaktadır. Bu fonksiyonların sadece karaciğer tarafından yürütülmesi ve başka organların bu fonksiyonları geçici veya kalıcı olarak yerine getirememesi, karaciğeri protein metabolizması açısından alternatifsiz tek seçenek olarak yapar (32,57).

**Demir Metabolizması:** Vücudumuzdaki demirin yaklaşık % 25 i ferritin proteinine bağlanarak bir demir-protein kompleksi olarak hemosiderin halinde depolanır. Ferritin karaciğer, dalak ve kemik iliğinde bulunur. Ayrıca karaciğer hücrelerinde bulunan ve demir ile birleşebilen apoferritin adlı protein kan demirinin tampon işlevini yürütür (57).

**Detoksifikasyon Fonksiyonu:** Karaciğer başta kalsiyum olmak üzere elektrolitlerin, vücutta salgılanan birçok hormonun (örneğin; östrojen, kortizol, tiroksin) yıkım ve atılım fonksiyonunu yürütür. Elektrolitlerin, hormonların yanı sıra sefalosporinler ve eritromisin gibi antibiyotikler dâhil çeşitli ilaç grupları da safra yoluyla karaciğerden atılır (51). Karaciğer bu detoksifikasyon fonksiyonunu, oksidasyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle yapar (57).

**İmmunolojik Fonksiyonu:** Karaciğer, retiküloendotelial sistemdeki Kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin, boya maddelerinin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlendikleri büyük bir filtre görevi görür. Karaciğerdeki Kupffer hücreleri, RES hücrelerinin % 60'ını oluşturur (32).

**Hematolojik Fonksiyonlar:** Karaciğer embriyolojik yaşamda hematopoetik sistemin temel hücreleri olan miyelositlerin, megakaryositlerin, eritrosit ve eritroblastların üretim yeridir. Normal şartlarda doğumdan sonra duran bu fonksiyon, kemik iliğinin görevini yapamadığı durumlarda tekrar aktif hale gelir (58).

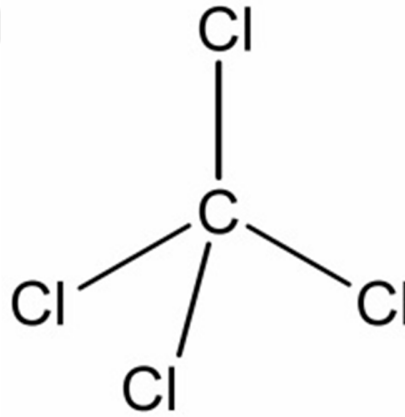
**Safra Salınımı:** Safra üretimi hepatositlerin kan komponentlerini alıp, dönüştürerek safra kanaliküllerine salgılamaları nedeniyle bir anlamda ekzokrin bir fonksiyondur. Safra, yağların sindirim ve emilimde önemli rol oynar (57).

**Pıhtılaşma Faktörlerinin Metabolizması:** Karaciğer öncelikle kan pıhtılaşmasında rol oynayan proteinlerin çoğunun sentezinde görev alır. Bu arada fibrinojen, protrombin ve V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII. faktörlerin sentezi karaciğerde yapılır. Protrombin ile VII, IX ve X'uncu faktörlerin yapımı için K vitamini gereklidir. Karaciğer kandaki plazminojen aktivatörlerini uzaklaştırarak kontrolsüz fibrinolizis olayına da engel olur. Karaciğer bu fibrinolitik faktörlerin yapım ve yıkımından sorumludur. Karaciğerde başta vitamin A olmak üzere karaciğerde vitamin D ve B<sub>12</sub> de depo edilir (57).

## 2.8 Karbon Tetraklorür (CCl<sub>4</sub>)

CCl<sub>4</sub> ilk kez 1839 yılında klor ile kloroform reaksiyonu sonucu Fransız kimyager Henri Viktor Regnault tarafından sentez edilmiştir. Fakat günümüzde esas olarak metandan sentezlenir. CCl<sub>4</sub>, ozon tabakasına zarar veren bir sera gazıdır (59). Endüstriyel bir çözücü olarak kullanılan CCl<sub>4</sub>; saydam, akıcı, yanıcı olmayan, çabuk buharlaşabilen, yoğun, hoş kokulu, renksiz ve iletken olmayan sıvı bir maddedir. Bu maddenin güçlü bir stabilitesi vardır. Doğal olarak bulunabildiği gibi birçok kimyasal reaksiyonun sonucu olarak da ortaya çıkabilir (60, 61, 62).

Kaynama sıcaklığı 77°C olup -23°C'de katılaşır. Yoğunluğu 1,585 g/cm<sup>3</sup> olan CCl<sub>4</sub>'ün moleküler yapısı düzgün tetrahedron molekül yapısı olup merkezinde karbon atomu bulunur (**Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**). Apolar yapıdadır. Suda çözünmez; ancak alkol gibi apolar çözücülerde çözünür (63). CCl<sub>4</sub>, stabilitesi oldukça güçlü olan bir madde olup, yaklaşık olarak 50 yıla yakın bir yarılanma ömrüne sahiptir (64).



Şekil 2.10 Karbon tetraklorür'ün genel yapısı (71)

Tahıl dezenfeksiyonu, böceklerle mücadelede, sanayi çözücüsü ve yağ giderici başka bazı maddelerin elde edilmesinde ara madde olarak kullanılan bu kimyasal bileşik; günümüzde petrol ürünleri, çeşitli yağlar, vernik, cila, reçine çözücüsü ve organik bileşiklerin imalatında, müzelerde sergilenen eşyaların dış ortamın zararlı etkilerinden korunmasında kullanılmaktadır (64, 65).

$CCl_4$ , yüksek oranda toksik bir madde olarak insan ve hayvanlarda potansiyel kanserojenik bir etkiye sahiptir. Kolay buharlaştığı için kullanımı ve üretimi esnasında çevreye yayılabilir. Ayrıca kimyasal atık olarak havaya, toprağa ve suya geçişini kontrol etmek mümkün değildir.  $CCl_4$ 'ün kullanıldığı veya üretildiği tesislerde çalışan işçiler ve tesis çevresinde yaşayan insanlar ile kuru temizleme sektöründe çalışan ve böcek ilaçlaması yapan kişilerin  $CCl_4$ 'e maruz kaldıkları ve büyük bir risk altında oldukları söylenebilir (66).

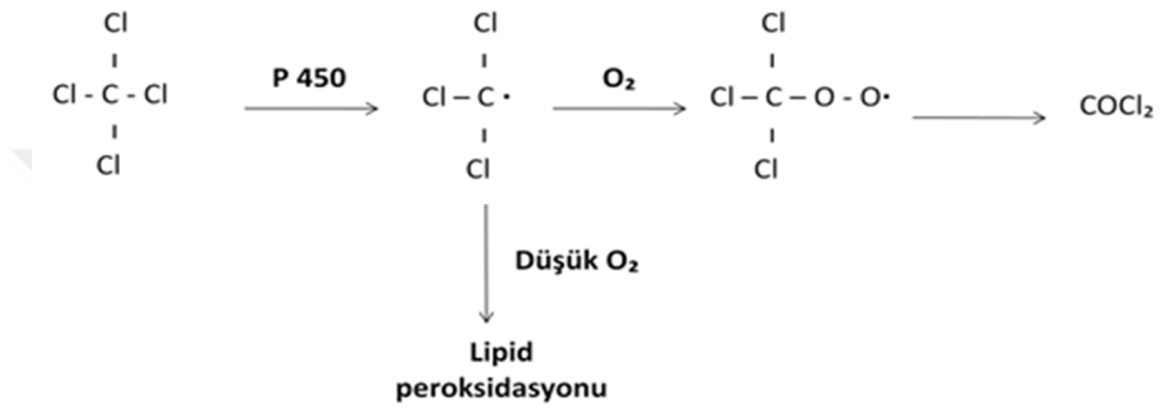
$CCl_4$  oral olarak, solunum ve dermal absorpsiyon ile vücuda kolayca alınabilir. Gastrointestinal kanaldan oldukça hızlı emilir. İnsanlarda  $CCl_4$ 'ün önemli bir kısmı yağ dokusuna yerleşir. Vücutta biriken  $CCl_4$ 'ün % 4'ü akciğere ulaşır ve solunum yoluyla dışarı atılır. Vücutta hücre içi moleküller ve proteinler ile etkileşimi sonucu meydana gelen ürünler ise idrar ve dışkı yoluyla atılır. Yapılan bazı araştırmalarda, bu maddenin fazla solunmasının kanser riskini artırdığı gösterilmiştir (64).

### 2.8.1 Karbon Tetraklorür ( $CCl_4$ )'ün Etki Mekanizması

$CCl_4$  deneysel olarak hayvanlarda ve insanlarda hepatotoksositeye neden olan bir ksenobiyotiktir. Serbest radikal üretimi ile hücrel hasar oluşturabilme özelliğine sahiptir ve toksisite modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılır.  $CCl_4$  ile oluşan hücre hasarı lipit peroksidasyonundaki artışa bağlıdır.  $CCl_4$  metabolizmasının ilk basamağı sitokrom P-450 enzim sistemi aracılığı ile  $CCl_3$  serbest radikalinin meydana gelmesi deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (67,68).

Granülsüz endoplazmik retikulum içerisinde yer alan sitokrom P-450; kolesterol, yağ asitleri, steroid biyosentezi ve detoksifasyonu için gereken hidroksilasyon mekanizmasını gerçekleştiren birçok enzimin yer aldığı bir elektron taşıma sistemidir. Sitokrom P-450 sistemi akciğer, bağırsak ve böbrek gibi organlara kıyasla en çok karaciğerde bulunur. Sitokrom P-450 tarafından gerçekleştirilen hidroksilasyon mekanizması, yabancı maddeleri ara metabolitler haline dönüştürerek, vücuttan uzaklaştırılmasını sağlayan bir reaksiyondur (69).  $CCl_4$ , sitokrom P-450 vasıtasıyla metabolize edildikten sonra oksijenle birleşerek  $CCl_3OO$  serbest radikalini meydana getirir (Şekil 2.11). Bu radikal,  $CCl_3$  radikalinden daha reaktiftir ve yarı ömrü daha kısadır. Bu serbest radikaller hücre membranında bulunan

çoklu doymamış yağ asitlerine bağlanarak, lipid peroksidasyonu oluşturur, enzim aktivitesini değiştirir ve son olarak hepatik hasar veya nekrozisi indükler (70).  $\text{CCl}_3$ , mikrozomal lipitlere ve diğer hücresel makromoleküllere doğrudan tutunarak, membran yapısının bozulmasına, hücre enerji kaynaklarının azalmasına ve protein sentezinin inhibisyonuna yol açmaktadır (71,72).



Şekil 2.11 Karbontetraklorür metabolizması ve reaktif metabolitlerin oluşumu (73)

### 2.8.2 $\text{CCl}_4$ 'ün Karaciğer Üzerine Etkisi

Karaciğer hücre hasarı, hem dış ortamdan, hem de hücre içinden çok çeşitli kimyasal etkenlerle oluşabilir. Hepatotoksik kimyasallar genellikle, karaciğerde metabolik aktivasyon gerektirenler ve gerektirmeyenler olarak iki gruba ayrılır.  $\text{CCl}_4$ , ilk grup hepatotoksinlerdendir, karma fonksiyonlu oksijenazlar ile metabolize olarak daha alt moleküllere ayrılır ve bu moleküller de başka enzim sistemleri için substrattır (74).

$\text{CCl}_4$ 'ün reaktif serbest radikal metabolitleri çoklu yağ asitleriyle reaksiyona girdiği zaman ya lipid peroksidasyonunu başlatır ya da kovalent olarak lipid, karbonhidrat ve proteinlere bağlanarak hücre zarının bozulmasına yol açmakta ve böylece karaciğer hasarına neden olmaktadır (74).

$\text{CCl}_4$ , lipid peroksidasyonu oluşturarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif hasarda, stellat hücreleri ve fibroblastları uyararak ekstrasellüler matriks ve kollajen sentezini gerçekleştirmeleri sağlanır (75,76). Ayrıca bu hasarlarla uyarılmış olan Kupffer hücreleri; proinflamatör sitokinler, tüm tümör nekroz faktör ( $\text{TNF-}\alpha$ ) ve interlökin ( $\text{IL-1}$ )

üretimini uyarırlar. Bundan dolayı, oksidatif stresin inhibe edilmesinin yararlı sonuçları olacaktır (4). Bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda karaciğer fibrozu ve siroz oluşabilmektedir. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde belirteç olarak kullanılan malondialdehit (MDA) seviyesini yükseltmesi yanında, mast hücrelerinde de hasara sebep olur (70,77).

Lipit peroksidasyonu sonucu meydana gelen lipit dekompozisyonuna bağlı olarak mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membranlarının permeabilitesinin bozulması sonucunda hücresel kalsiyum dengesi kaybolur. Hücre iskeleti yapılarının yıkılmasına ve hücre içi enzimleri hızlıca kan dolaşımına girer. Bu olaylar apoptozis veya nekrozis yoluyla hücre ölümü ile sonuçlanır (71)

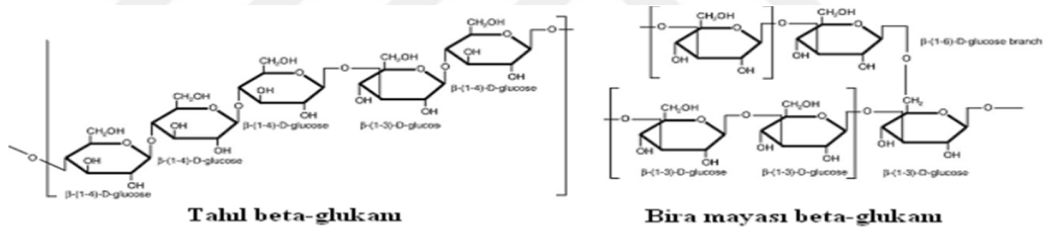
$\text{CCl}_4$  ile oluşan karaciğer hasarının gelişim basamakları şöyledir: (1) Reduktif dehalojenasyon, (2) radikallerin kovalent bağlanması, (3) protein sentezinin inhibisyonu, (4) yağ birikimi, (5) kalsiyum sekestrasyonunda kayıp, (6) apoptoz ve fibrozdur (78).

$\text{CCl}_4$ 'ün düşük dozlarda  $\text{Ca}^{+2}$  dengesinin kaybı, hepatositlerde lipid peroksidasyonu, zararlı veya faydalı sitotoksinlerin salınması ve regenerasyon ile devam eden apoptotik olaylar gibi geçici etkiler gözlenir. Yüksek doz ve uzun süreli  $\text{CCl}_4$  uygulamalarında, steatohepatizis (yağlı karaciğer dejenerasyonu), fibroz, siroz ve hatta kanser gibi daha ciddi ve kalıcı etkiler ortaya çıkar .  $\text{CCl}_4$ , tek enjeksiyonun ardından bile yağ dejenerasyonu oluşturabilmektedir (74).

## 2.9 Beta-glukan ( $\beta$ -glukan)

$\beta$ -Glukoz polimerinin kimyasal ismi olan  $\beta$ -glukan, birbirine bağlı D-glukoz ünitelerinden doğal olarak oluşan bir polisakkarittir.  $\beta$ -glukanlar; arpa, yulaf, mantar, alg, maya, bakteri gibi değişik doğal kaynaklardan ekstrakte edilebilir (79). Ticari olarak kullanılan  $\beta$ -glukan ekstresi genellikle *Saccharomyces cerevisiae* (ekmek mayası) elde edilir. Besin kaynaklarından turp, havuç ve kerevizin total karbonhidrat miktarının nerdeyse % 20'si ve soyanın kuru ağırlığının % 0,8'inin  $\beta$ -glukan olduğu belirlenmiştir (80).

$\beta$ -glukanlar fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı yıllardır yapılan çalışmalara konu olmuştur. Farklı kaynaklardan elde edilen  $\beta$ -glukan, yapısal olarak çeşitlilik gösterir ve bu durum biyolojik aktivitelerinde farklılıkların oluşmasına yol açar. Mayaların ve fungusların hücre duvarındaki  $\beta$ -glukan  $\beta$ -(1/3) zincirli glikopirozil birimleriyle, az sayıda olan dallanmış  $\beta$ -(1/6) zincirli glikopirozil birimlerinden oluşur. Yulaf ve arpada dallanmamış  $\beta$ -(1/3) ve  $\beta$ -(1/4) zincirli glikopirozil birimlerinden oluşur, bakterilerde ise sadece dallanmamış  $\beta$ -(1/3) zincirli glikopirozil birimleri bulunur (Şekil 2.12). Molekül ağırlığı, dallanma derecesi, uyumluluk ve moleküller arası birleşim şekillerindeki farklılıklar  $\beta$ -glukanın biyolojik aktivitesini etkileyebilen faktörlerdir. Fungal  $\beta$ -glukan tarafından sağlanan immünositümlasyonun kanser hücre büyümesini ve metastazı engellediği ve immün sistemini güçlendirdiği görülmüştür (20). Yapılan çalışmalar;  $\beta$ -glukan alımının, kan kolesterolünü düşürdüğünü ve vücut hücreleri tarafından glikoz kullanımını arttırdığını göstermiştir (21).



Dallanmamış 1,3/1,4 zincirli glikopirozil birimi

1,3 düz zincirli glikopirozil birimiyle  
kısaca 1,6 dallanmış zincirli

Beta-Glucan tipleri	Yapısı	Taunı
Bakteri	—————	dallanmamış 1,3 zincirli beta-glucan
Fungi	┆┆┆┆┆┆┆┆	1,3 düz zincirli, 1,6 dallanmış zincirli
Maya	┆┆┆┆┆┆┆┆	1,3 düz zincirli, 1,6 dallanmış zincirli
Tahul	—————	1,3/1,4 dallanmamış zincirli

Şekil 2.12  $\beta$ -glukan tipleri ve yapısı (20)

### 2.9.1 $\beta$ -glukan'ın Etki Mekanizması

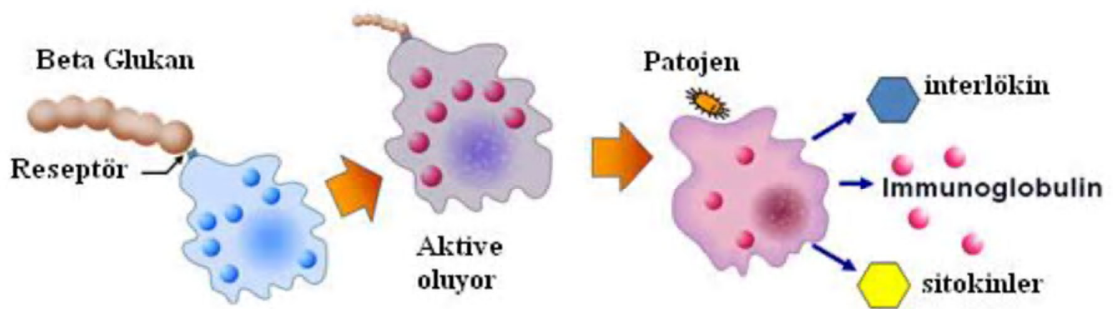
$\beta$ -glukan vücuda dışarıdan daha çok oral yolla alınan bir madde olup mide asidine dirençlidir. Bu nedenle mideden formasyona uğramadan geçer. Oral uygulanım sonrası  $\beta$ -glukan 5 dk içerisinde mide ve duodenumdan geçişini tamamlar ve 30 dk içerisinde ise,



barsak duvarında bulunan makrofajlar  $\beta$ -glukan partiküllerini özgün reseptörleriyle tutarlar ve hücreler hemen aktive olur (81).

$\beta$ -glukanlar; makrofajlar, nötrofiller, dentritik hücreler, NK hücreler, B hücreler ve T hücreler üzerindeki patern tanıma reseptörlerini (PRR) tanır ve bağlanırlar (Şekil 2.13). Şimdiye kadar dektin-1, sınıf A süpürücü reseptörler (83), komplement reseptör 3 (CR3; CD11b/CD18), Toll benzeri reseptör-2 (TLR-2) ve laktosilseramid reseptörleri belirlenmiştir (79).

$\beta$ -glukanların etkisinin başlaması için gerekli olan ilk basamak hücre membranı üzerinde bulunan reseptörler tarafından  $\beta$ -glukan polimerlerinin tanınmasıdır. Bazı (1,3)  $\beta$ -glukan polimerlerinin nötrofil hücreleri üzerindeki kompleman reseptör 3 (CR3)'e bağlanmakta olduğu yapılan çalışmada ortaya konulmuştur. CR3 fagositoz ve sitotoksisite için bir reseptör olmasının yanı sıra lökosit diyapedizinden sorumlu adezyon molekülü olarak da görev yapmaktadır (84). Bu reseptör,  $\beta$ -glukan polimerlerinin kandan temizlenmesi için de görev yapmaktadır. Küçük molekül ağırlıklı  $\beta$ -glukan bağlandığı CR3 ile birlikte kandan glomerular filtrasyon ile hızlı bir şekilde temizlenir. Daha büyük moleküler ağırlıklı  $\beta$ -glukan polimerlerinin ise karaciğerde metabolize olduğu bilinmektedir ve bunun  $\beta$ -glukanın etkinliğinde önemli olduğu düşünülmektedir (85).



Şekil 2.13  $\beta$ -glukanların etki mekanizması (86)

Yapılan çalışmalar  $\beta$ -glukanların; hem doğal hem de adaptif immün sistemi etkileyen güçlü immüno-modülatörler olduğunu ileri sürmektedirler. Doğal immün sistemin enfeksiyonu

kontrol altına alabilmesi için patojeni hızlı bir şekilde tanıması ve buna tepki vermesi gerekmektedir.  $\beta$ -1,3 ve  $\beta$ -1,6 glukanlara bağlanan ve tip II transmembran protein reseptörü olan Dektin-1; doğal immün yanıtı başlatabilir ve regüle edebilir. Dektin-1 reseptörünün özellikle makrofaj, nötrofiller ve dentritik hücreler üzerinde bulunduğu gösterilmiştir. Dektin-1'e  $\beta$ -glukan bağlandığında, intrasellüler sinyal dizisi başlayarak ve nükleer faktör kapp-B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonuna yol açar . Bu aktivasyon IL-6, IL-12 ve TNF- $\alpha$  içeren sitokinlerin üretimini başlatır (Şekil 2.13). Bu sitokinlerin bazıları kanser terapisinde önemli rol oynayabilir. Dektin-1 reseptörünün yanı sıra; süpürücü reseptörler TLR-2/6 'nın da görev yaptığı düşünülmektedir (86).

## 2.10 İrisin

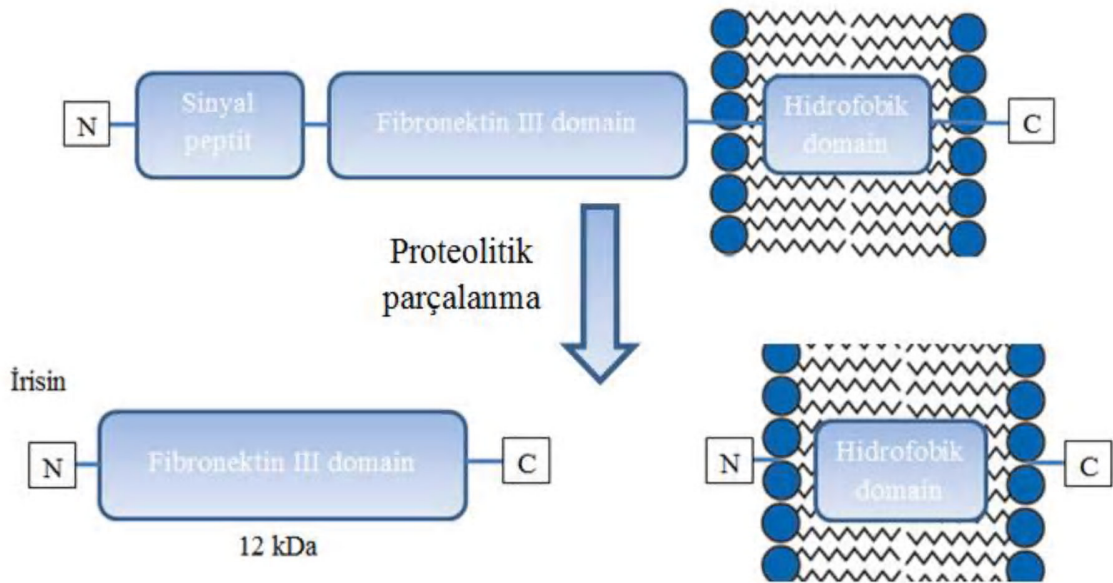
İrisin, beyaz adipoz dokusunu kahverengi adipoz dokuya dönüştürerek enerji harcanmasını sağlayan termojenik bir proteindir Boström ve arkadaşları tarafından 2012 yılında ilk kez kas dokusundan izole edilmiş olan irisin; 12 kDa molekül ağırlığına sahip ve 112 aminoasitten oluşan glikoprotein yapılı bir hormondur (24).

İrisin hormonunun adlandırılması yapılırken Yunan mitolojisinden yararlanılmıştır. Mitolojik kahraman olan İris, Thamus ve Electranın kızları olup, tanrıların habercisidir. İrisin hormonu da haberci olarak görüldüğünden dolayı bu isim verilmiştir (87).

İrisinin, ilk önce iskelet kas dokusunda keşfedilmiş bir miyokindir. Yapılan araştırmalarda irisinin; karaciğer, böbrekler, ovaryum, testis, rektum, kalp, intrakranial arterler, dil, optik sinir, mide, sinir hücreleri, beyin-omurilik sıvısı, insan anne sütü, cildin yağ bezleri, ter bezleri ve tükürük bezlerinde de olduğu saptanmıştır. İrisin adipoz dokulardan da salgılandığından dolayı adipokin ailesinin bir üyesidir (88, 89, 90). Aydın ve ark. (89) yaptığı bir çalışmada, erkek ratların beyin (nöron ve nöroglia hücrelerinden), iskelet, kas (fibrillerinden) ve deride (yağ bezlerinden) örnekler alarak immunhistokimyasal çalışmalar yapmışlardır. İrisin ekspresyonun en yoğun bu bölgeler; kas dokusunun perimisyum ve endomisyumu, sinir liflerinin sarkoplazma ve epinöriyumu yapılan immunhistokimyasal boyamalarda gözlenmiştir. Testiste seminifer tübüllerde ve bazı Leydig hücrelerinde; pankreasta langerhans ve asini hücrelerinde, interlobüler ve intralobüler duktus

hücrelerinde; karaciğerde hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde ve sinuzoidal endotel hücrelerde; dalakta subkapsüller alanda ve periarteryal lenfatik yaprakta; midede ise gastrik parietal hücrelerde ve Tunica muskularis hücrelerinde irisin olduğu bildirilmiştir.

İrisin proteininde bulunan fibronektin tip III alanı, fibronektin tip III domain içeren 5 transmembran reseptör (FNDC5) geni tarafından kodlanmaktadır. FNDC5; signal peptit, fibronektin ve hidrofobik C-terminal kısım olmak üzere 3 parçadan oluşmaktadır. Akut veya uzun dönem egzersiz, iskelet ve kalp kasında enerji harcamasında artışa neden olan peroksizom proliferator-activated reseptör gamma koaktivatör-1-alfa (PGC-1 $\alpha$ )'yı stimüle etmektedir. PGC-1 $\alpha$ , birincil olarak FNDC5'i upregüle eder. FNDC5'ten bir sinyal peptidi ve bir hidrofobik bölgenin proteolitik işlemler sonucu ayrılıp sekrete edildikten sonra, 112 aminoasit peptidi olan irisin oluşmaktadır (Şekil 2.14) (91).



Şekil 2.14 FNDC5 proteinin proteolitik parçalanması ile irisinin oluşumu (91)

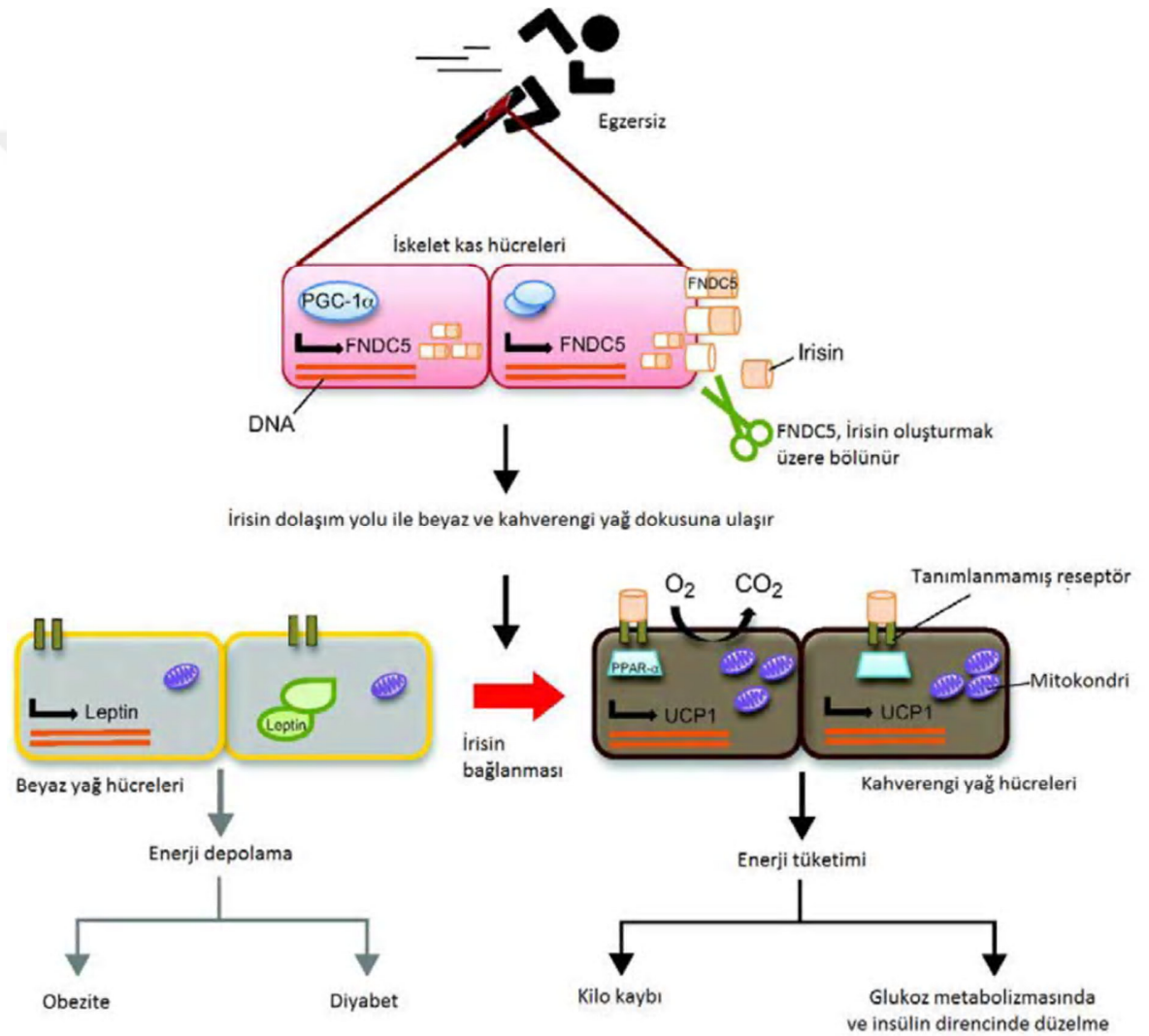
İrisinin bilinen en önemli fizyolojik rolü, beyaz adipoz dokuyu kahverengi adipoz dokuya dönüştürerek enerji harcamasında artışa neden olmaktadır. Beyaz adipoz dokusunun kahverengileşmesinde etkili faktörlerden biri egzersizdir. Adipoz doku beyaz ve kahverengi olmak üzere 2 çeşittir. Beyaz adipoz doku trigliseridleri ve yağ asitlerinin temel depo

yeridir ve çok az sayıda mitokondri içerirken, kahverengi adipoz doku enerji harcaması konusunda uzmanlaşmıştır ve çok sayıda mitokondri içerir (92). Kahverengi adipoz dokudaki mitokondri zarlarının iç kısmında mitokondrial biyogenez ve oksidatif metabolizmayı düzenleyen uncoupling protein 1 (UCP-1), PPAR gama koaktivatör 1 alfa (PGC-1 $\alpha$ ) uyarısı ile salınmaktadır. Beyaz adipoz dokularda UCP-1 pompalarının artışı ATP sentezini durdururken termogenesisi artırarak enerji harcamasına neden olmaktadır. Enerji harcanması artınca insülin duyarlılığı ve kilo kaybı artar. UCP-1 artışı beyaz adipoz hücrelerinin kahverengi adipoz hücresi gibi davranmasına neden olmaktadır. Bu sürece “kahverengileşme” denilmektedir (Şekil 2.15) (93).

Yapılan bir çalışmada egzersiz sonrasında fare ve insanların iskelet kaslarında FNDC5 mRNA'sının 15 kat artmış olduğu bildirilmektedir. FNDC5'i tam eksprese edebilen adenovirüsler kullanılarak karaciğere enjekte edilmiş ve bu işlem sonrasında farelerin kahverengi adipoz dokusunda FNDC5 ekspresyon düzeyindeki artışa paralel olarak dolaşımdaki irisin düzeyinin de arttığı tespit edilmiştir (94). Aydın ve ark. (89) 12 aylık ve 24 aylık ratlarda egzersiz sonrası kalp kası, iskelet kası, karaciğer, böbrek, periferel sinir kılıfı, deri dokusu ve serumda irisin varlığını araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak 10 haftalık egzersiz yapmamış ratlar kullanılmıştır. Egzersiz yapmamış genç ve yaşlı ratların iskelet kasında irisin olmadığı, egzersizden sonra salındığı gözlenmiştir. Serum irisin düzeyinin egzersiz yapmış genç ratlarda egzersiz yapmış yaşlılardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. İrisinin ana kaynağının sadece iskelet kası olmadığı, incelenen diğer dokularda da varlığı rapor edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada farelere rekombinant irisin hormonu verildiğinde, vücut ağırlığı azalttığı ve glikoz homeostazını sağladığı gösterilmiştir. Bu hormonun ayrıca UCP-1 ekspresyonu ile upregüle edildiği bildirilmiştir. Bu hormonun hücre dışı sinyal ilişkili kinazı aktive ettiği ve hücre içinde ise p38 mitoz aktive edici kinazları fosforillelediği böylece tip 2 diyabeti ve obeziteyi engellediği çalışmada bildirilmiştir. İrisin, 2013 yılında tanımlanmış olan betatropinin hormonunun salgılanmasını uyararak pankreasın  $\beta$  hücrelerinin tamir edilmesini sağlamaktadır. Böylece glukoz toleransını düzenlediği ve insülin direncini azalttığı düşünülmektedir (95).

Araştırmacılar; bu hormonun; kardiovasküler hastalıklar, tip 2 diabetes mellitus, yağlı karaciğer hastalığı, obezite, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, polikistik over sendromu ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için umut verici bir aday haline geldiğini düşünmektedirler (96-99).



Şekil 2.15 Egzersiz ile beyaz adipöz dokunun kahverengileşmesi (93).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı 08/07/2015 tarih ve 15/95 nolu Etik Kurul onayı doğrultusunda Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda planlandı ve uygulandı. Çalışmanın deney aşaması Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) gerçekleştirildi. Deneysel çalışmalar için, T.C. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Komisyonu Başkanlığı'nın (Proje no: FDK-2015-5821) maddi desteği alındı.

#### 3.1 Uygulamada Kullanılan Maddeler

Çalışmada kullanılan tüm maddeler literatüre göre seçilmiştir. Deney süresince kullanılan maddelerden  $\beta$ -glukan (Imuneks 50 mg kapsül M.N. ilaç Sanayi-Türkiye),  $CCl_4$  (Carlo erba, code no: 434625) firmalarından alındı.

$\beta$ -glukan: 400 mg kapsül (8 adet) 6 ml %9 'luk serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlandı.  $CCl_4$ : 15 ml  $CCl_4$  alınıp, %9 'luk serum fizyolojik 30 ml'ye tamamlandı. 30 ml'lik solüsyonda 0.1 ml alınıp ip olarak her bir sıçana verildi.

#### 3.2 Deney Hayvanları ve Grupları

Çalışmada DEKAM'da yetiştirilen  $249.17 \pm 3.57$  gr ağırlığında ergin 2 aylık Wistar albino türü 48 adet erkek sıçan kullanıldı. Kafesler içinde tutulan sıçanlara,  $21 \pm 3^0$  C ve 12 saatlik aydınlık/karanlık ortamında özel hazırlanmış otomatik olarak klimatize edilen odalarda tutulmuştur. Deney hayvanlarına musluk suyu ve standart sıçan yemi verilerek ihtiyaçları sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan denekler rastgele 4 gruba ayrıldı.

Çalışmaya başlamadan deneyden önce ve deney süreci tamamlandığında sıçan ağırlıkları tartılarak kaydedildi. Deney sürecinin 10. gününde uygulanan enjeksiyonlardan 24 saat sonra tüm sıçanlar, ketamin+xylazin anestezisi altında kurban edilerek kan ve doku

örnekleri alındı. Alınan kan numunelerinden serumlar elde edildi. Serumlardan karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için Aspartat Amino Transferaz (AST) ve Alanin Amino Transferaz (ALT) değerleri ölçüldü.

Tablo 3.1 Çalışmada Hazırlanan Deney Grupları

Gruplar	Uygulamalar
<b>Kontrol grubu (n=10)</b>	Sıçanlara 10 gün boyunca intraperitoneal (ip) olarak 1 ml % 0,9'luk serum fizyolojik uygulandı.
<b><math>\beta</math>-glukan (n=12)</b>	Sıçanlara 10 gün boyunca sadece 50 mg/kg/gün $\beta$ -glukan grubu oral gavaj yoluyla verildi.
<b>CCl<sub>4</sub> grubu (n=12)</b>	Sıçanlara 10 gün boyunca ip olarak 0,2 ml/kg/gün CCl <sub>4</sub> uygulandı.
<b>CCl<sub>4</sub>+<math>\beta</math>-glukan grubu (n=14)</b>	Sıçanlara 10 gün boyunca 0,2 ml/kg/gün CCl <sub>4</sub> ip olarak ve CCl <sub>4</sub> uygulanmasından yarım saat önce 50mg/kg/gün $\beta$ -glukan oral gavaj yoluyla verildi.

### 3.3 Histopatolojik Analizler

#### 3.3.1 Doku Takibi ve Gömme

Karaciğer dokusu tümüyle çıkartıldı ve bir bölümü biyokimyasal incelemeler için -80° 'de saklanırken, diğer doku örnekleri histopatolojik incelemeler için %4'lük formaldehit solüsyonu ile tespit edildi. Tespit solüsyonuna alınan karaciğer dokuları 48 saat bekletildi ve bir gece akan musluk suyunda bırakıldıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarıldı, ksilol ile şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Yapılan bu işlemler Tablo 3.2'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2155) yardımıyla 5  $\mu$ m'lik kesitler alınıp, 37°C su banyosunda kesitlerin açılması sağlandı. Sırasıyla 3 düz lama, 1 polilizinli lam üzerine doku bitene kadar seri kesitler alındı. Tüm deney gruplarına ait sıçanlardan alınan karaciğerlerden aynı şekilde seri kesitler alındı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla kesitler hematoksilin-eozin (H&E) (Tablo 3.3), Periodik Asit Schiff (Tablo 3.4) ve Masson'un üçlü (Tablo 3.5) boyası ile boyanarak önce artan alkol

serilerinden daha sonra ksilenden geçirilen dokular ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japan) altında incelendi.

Tablo 3.2 Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	%10 Formaldehid	72 saat	8	Absolü Alkol	1 saat
2	Musluk suyu	1 gece	9	Absolü Alkol	1 saat
3	%50 Alkol	1 saat	10	Ksilen	20 dakika
4	%70 Alkol	1 saat	11	Ksilen	20 dakika
5	%80 Alkol	1 saat	12	Ksilen	20 dakika
6	%96 Alkol	1 saat	13	Eriyik parafin (60°C)	1 gece
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Bloklama	

Tablo 3.3 Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Ksilen-I	15 dk	12	Akarsu	10 dk
2	Ksilen-II	15 dk	13	%50 Alkol	10 dk
3	Absolü Alkol	10 dk	14	%70 Alkol	10 dk
4	%96 Alkol	10 dk	15	%80 Alkol	10 dk
5	%80 Alkol	10 dk	16	%96 Alkol	10 dk
6	%70 Alkol	10 dk	17	Absolü Alkol	10 dk
7	%50 Alkol	10 dk	18	Absolü Alkol	10 dk
8	Akarsu	10 dk	19	Ksilen-I	15 dk
9	Hematoksilen	7 dk	20	Ksilen-II	15 dk
10	Akarsu	5 dk	21	Kapatma	
11	Eozin	5 dk			



Tablo 3.4 Perodik Asit Schiff Boyama Tekniği

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Deparafinizasyon ve rehidratasyon		9	Akarsu	5 dakika
2	Periodik Asit	7 dakika	10	%96 Alkol	1 dakika
3	Distile suda yıkama (2 kez)	2 dakika	11	Absolü alkol	2 dakika
4	Shiff solüsyonu	15 dakika	12	Absolü alkol	2 dakika
5	Akarsu	10 dakika	13	Ksilen	15 dakika
6	Hematoksilen	5 dakika	14	Ksilen	15 dakika
7	Asit alkol	1-2 saniye	15	Ksilen	15 dakika
8	Akarsu	5 dakika	16	Kapatma	

Tablo 3.5 Masson'un Üçlü Boyama Tekniği

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 gece	15	Asit fuksin	Batır çıkar
2	Ksilen I	10 dakika	16	Distile Suyu	2 dakika
3	Ksilen II	10 dakika	17	Fosfomolibdik asit	5 dakika
4	Ksilen III	10 dakika	18	Kurutma	5 dakika
5	Absolü Alkol	5 dakika	19	Anilin blue	4 dakika
6	Absolü Alkol	5 dakika	20	Distile Su	2 dakika
7	%96 Alkol	5 dakika	21	%1'lik Asetik asit	2 dakika
7	%80 Alkol	5 dakika	22	%96 Alkol	2 dakika
8	%70 Alkol	5 dakika	23	Absolü Alkol	3 dakika
9	%50 Alkol	5 dakika	24	Absolü Alkol	3 dakika
10	Akarsu (2 kez)	2 dakika	25	Ksilen	15 dakika
11	Hematoksilen	8 dakika	26	Ksilen	15 dakika
12	Musluk Suyu	2 kez	27	Ksilen	15 dakika
13	Asit fuksin	Batır çıkar	28	Kapatma	
14	Musluk Suyu	2 kez	29		

Karaciğer dokusu yağlanma, inflamasyon, fibrozis ve diğer patolojik durumlar açısından değerlendirildi. Yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre 0 ile 3 arasında değerler verilerek skorlandı (0=<%5, 1= %5-33, 2=%33-66 ve 3= >%66) (100).

### 3.3.2 İmmunohistokimya Uygulama

Deneydeki sıçanlara ait karaciğer dokularında PCNA, iNOS, HIF-1 $\alpha$  ve İrisin proteinini belirlemek için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimya metodu kullanıldı. Bir gece 60°C'de tutulan kesitler önce ksilen daha sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edildi ve kesitler daha sonra fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 3 defa 5'er dakika yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için %10'luk sitrat tamponu ile mikrodalga fırında 600W'de 5 dakika bekletildikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Kesitler 3X5 defa PBS solüsyonunda yıkandı. PBS ile yıkanan kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 12 dakika %3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile muamele edildi. Bundan sonraki aşamalar için Thermo Scientific (Lab Vision™ UltraVision™ Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Ready-To-Use), TA-125-HL) boyama kiti kullanıldı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 20 dakika Ultra V Block uygulandı. Hemen ardından kesitler yıkanmadan İrisin (1:400, H-067-17; Phoenix Pharmaceuticals, INC) HIF-1 $\alpha$  (1:100, NB100-479; Novus Biologicals, Littleton, CA), PCNA (1:300, MS-106-B; Thermo LabVision, USA) ve iNOS (1:100, 94539; Labvision Fremont, CA) primer antikoru ile 1 gece +4°C'de inkübe edildi. Negatif kontrol için, birincil antikor yerine PBS kullanılarak 1 gece +4°C'de bekletildi. Lamlar ertesi sabah 1 saat oda sıcaklığında bekletilerek 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra kesitler biotinli-sekonder antikor ile 30 dakika inkübe edilerek primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra, streptavidin peroksidaz enzim ile 30 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) (DAB Plus substrate system) özelliği gösteren kitteki peroksidaz substrat ile 1-10 dakika muamele edildikten sonra 5 dakika distile su ile yıkandı. Gill hematoksilen ile zıt boyanan kesitler birkaç kez distile su ile yıkandı. Son olarak artan alkol serilerinden geçirilerek, lamlar kapatma solüsyonu (Entellan®, Merck) ile kapatıldı.

Kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Tokyo, Japan) incelendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 3.6).

Tüm deney gruplarına ait deneklerden alınan karaciğer dokularında immunoreaktivite yoğunluklarının ve pozitif hücre sayılarının hesaplanması için PCNA, iNOS, HIF-1 $\alpha$  veya İrisin primer antikoru kullanılarak yapılan immun boyama metodunu uyguladığımız kesitler kullanıldı. Karaciğer kesitlerindeki, iNOS, HIF-1 $\alpha$  ve İrisin immunoreaktivite yoğunluklarını belirlemek için her denekten X40'da 10 farklı alandan alınan ışık mikroskopik fotoğraflar kullanıldı. Image J software programı kullanılarak bu fotoğraflardan ilgili antikorun immunoreaktivite yoğunluğu hesaplandı ve sonuçlar kaydedildi. PCNA uygulanan preparatlarda ise PCNA+ hücre sayıları 10 farklı alandan olacak şekilde X40 büyütmede sayıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Tablo 3.6 İmmünohistokimya Boyama Tekniği.

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	18	PBS	3x5 dk
2	Ksilen I	5 dk	19	Avidin-Biotin Peroksidaz	10 dk
3	Ksilen II	5 dakika	20	PBS	3x5 dk
4	Ksilen III	5 dakika	21	DAB kromojen	3-5 dk
5	Absolü Alkol	5 dk	22	Distile su	Yıka
6	%96 Alkol	5 dk	23	Hematoksilen	1 dk
7	%80 Alkol	5 dk	24	Musluk suyu	5 dk
8	%70 Alkol	5 dk	25	Distile su	Yıka
9	Distile Su	2x3 dk yıka	26	%70 Alkol	3 dk
10	%10 Sitrat Buffer	5 dk	27	%80 Alkol	3 dk
11	PBS	3x5 dk	28	%96 Alkol	3 dk
12	%3 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	12 dk	29	Absolü Alkol	3 dk
13	PBS	3x5 dk	30	Ksilen I	3 dk
14	Normal Serum	20 dk	31	Ksilen II	3 dk
15	Primer Antikor	1 gece	32	Ksilen III	3 dk
16	PBS	3x5 dk	33	Kapatma	
17	Sekonder Antikor	30 dk			

### 3.3.3 Tunel Metodu

Deneklere ait tüm kesitlerde apoptotik hücreleri belirlemek için Roche marka In Situ Cell Detection Apoptosis Fluorescein Kit'i kullanıldı ve boyama işlemi kitin prosedürüne göre yapıldı. Özetle, 5 µm kalınlığında alınan karaciğer kesitleri deparafinize ve ardından rehidrate edildikten sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için %5'lik sodyum sitrat tamponunda mikrodalga fırında 350 W'de 5 dakika bekletildi ardından oda ısısında 10 dakika soğumaya bırakıldı. PBS ile 2 defa 5'er dakika yıkanan dokular daha sonra kitin içinden çıkan TUNEL reaksiyon karışımı ile 37<sup>0</sup>C'de nemli ve karanlık ortamda 60 dakika inkübe edildi. PBS ile 2 defa 5'er dakika yıkanan dokulara 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile zıt boyama yapıldı. Gliserollü kapatma solüsyonu ile kapatılan dokular Olympus BX-51 floresan mikroskopta 450-500 nm dalga boyunda görüntülendi. Apoptotik indeks için her kesitte X40 büyütmede ve on farklı alandan alınan mikroskopik fotoğraflar kullanıldı. TUNEL+ apoptotik hücrelerin tüm hücrelere oranı alınarak apoptotik indeks hesaplandı.

### 3.4 Biyokimyasal İnceleme

Deney sonunda alınan kan örnekleri 5000 devirde 10 dakika santrifuj edilerek serumları alındı. Alınan serum örnekleri biyokimyasal parametreler için Ependorf tüplerine konularak soğuk saklama kabında hızlı bir şekilde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarına ulaştırıldı. Laboratuvarda ALT ve AST değerleri çalışıldı.

#### 3.4.1 Elisa Metodu

Deney sonunda -80 °C derecede saklanan doku örnekleri oda ısısında bir süre bekletildikten sonra PBS içinde homojenize edildi. Daha sonra soğutmalı santrifüjde +4 derecede 12000 rpm de 30 dakika santrifuj edildi ve süpernatantları alındı. Elde edilen süpernatantlardan ELISA kitleri ile TNF- $\alpha$  (Katalog no:KRC3011, İnvitrogen), IL-6 (Katalog no:KRC0061, İnvitrogen), IL-1 $\beta$  (Katalog no: YHB0616Ra, Shangai Yehua Biological Technology), MPO (Katalog no: YHB0752Ra, Shangai Yehua Biological Technology), SOD (Katalog no: YHB1021Ra, Shangai Yehua Biological Technology), MDA (Katalog no: YHB0708Ra, Shangai Yehua Biological Technology), İrisin (Katalog no: YHB1218Ra,

Shangai Yehua Biological Technology) ELISA alışma kitleleri üreten firmanın önerdiği protokollere göre yapıldı.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılım programında yapıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirlendi. Verilerin normal dağılımını belirlemek için Kolmogorov-Smirnov testi yapıldı. Normal dağılım gösteren veriler ANOVA yöntemiyle değerlendirildi. Post hoc analiz için Tukey Testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler ise nonparametrik Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. İkili gruplar arasındaki anlamlılık için Mann-Whitney U-testi kullanıldı. İstatistiksel analiz  $p < 0.05$  ise anlamlı olarak değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Sıçan Ağırlıkları

Çalışmaya başlamadan önce ve çalışma sonunda sıçan ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Gruplara ait vücut ağırlıkları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Çalışma Başlangıcında ve Sonunda Elde Edilen Sıçan Ağırlıkları (g)

Gruplar	0. Gün	10. Gün	p değeri
Kontrol	244.60±9.00	265.30±9.36	p>0.05
β-glukan	247.91±5.46	258.16±4.92	p>0.05
CCl <sub>4</sub>	245.91±4.72	239.08±4.38*	p<0.033
CCl <sub>4</sub> +β-glukan	261.78±6.30	241.21±6.07*	p<0.046

\*Kontrol ile karşılaştırıldığında p<0.05

Çalışma sonunda β-glukan uygulanan grubu, kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel anlamda farklılık tespit edilmedi. CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan grupların ağırlıklarında azalış gözlemlendi. Bu grupların sıçan ağırlıklarını kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel önemde farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

### 4.2 Işık Mikroskopik Bulgular

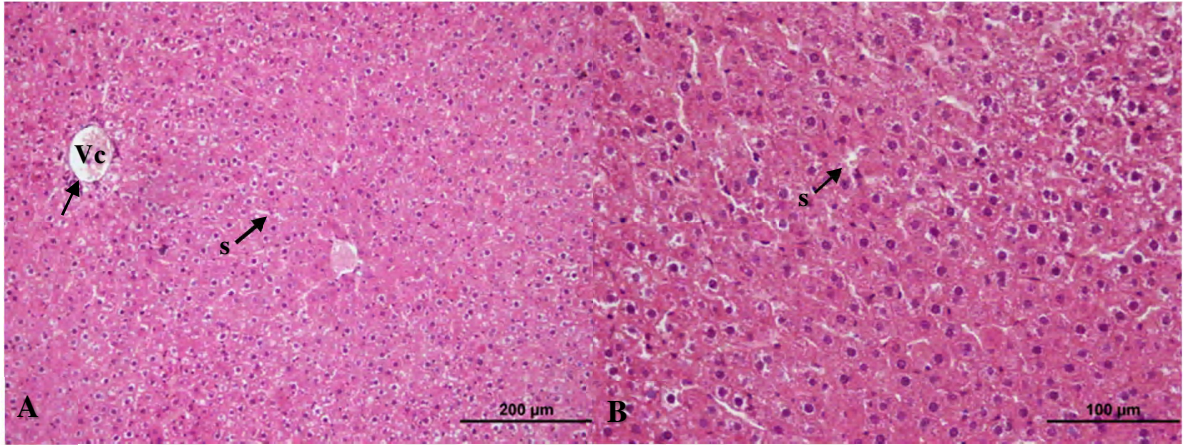
Çalışmamızda H&E ile boyanan karaciğer kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde, kontrol ve β-glukan gruplarına ait karaciğer dokularının normal histolojik görünüme sahip oldukları gözlemlendi. Bu gruplara ait karaciğer kesitlerinde, hepatositlerin dizilimi, sünizoidal boşluklar ve vena centralis normal histolojik yapıda gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğer kesitlerinde mikro ve makro veziküler yağlanma belirlendi ve bazı alanlarda lenfositten zengin mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edildi

(Şekil 4.3).  $CCl_4+\beta$ -glukan grubunda,  $CCl_4$  uygulanan gruba benzer şekilde hasar devam etmekteydi ve hatta yağlanma  $CCl_4$  uygulanan gruba kıyasla artmıştı. Hepatositlerin sitoplazmasındaki farklı büyüklükteki yağ vakuol oluşumları ile ilgili olarak genişlediği yani hidropik dejenerasyona uğradığı, çekirdeklerin perifere kaydığı ve sinüzoidlerin değişime uğradığı görüldü. Sinüzoidler içerisinde lenfositler ile birlikte, Kupffer hücrelerinde artış dikkati çekti. Yağlanmanın görüldüğü bölgelerde yer yer yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 4.4).

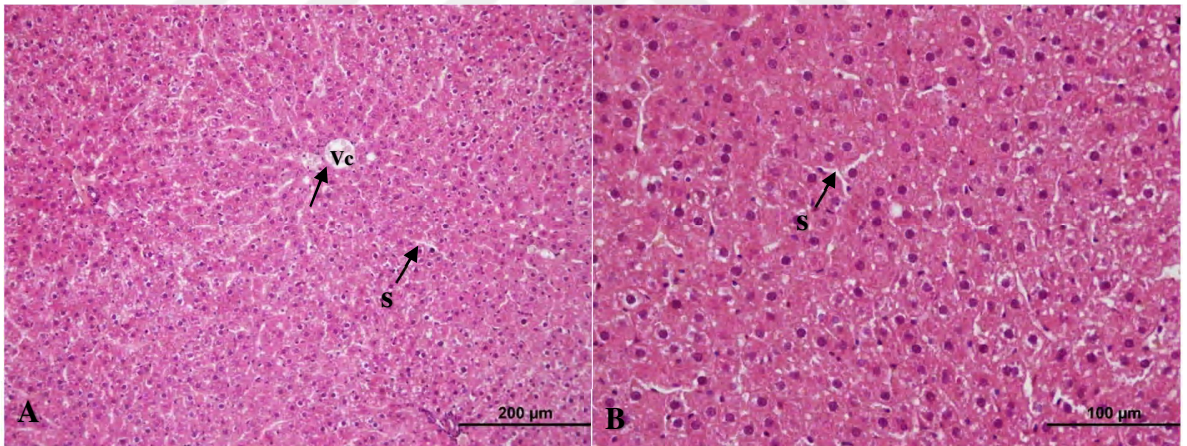
Kontrol ve  $\beta$ -glukan gruplarına ait PAS boyama kesitlerinde hepatositler, sinüzoidler portal alan ve hepatositlerin glikojen içerikleri normal olarak gözlenmiştir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).  $CCl_4$  uygulanan grupta hepatositlerin glikojen içeriği kontrol ve  $\beta$ -glukan grupları ile karşılaştırıldığında azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7).  $CCl_4+\beta$ -glukan grubunda ise belirgin makroveziküler yağlanma ve hepatositlerin glikojen içeriğinde tükenme gözlenmiş ayrıca yağlanmış hepatosit çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

Kontrol ve  $\beta$ -glukan gruplarına ait MT boyama kesitlerinde vena centralis ve ona komşu damarların duvarındaki tek sıra, ince kollagen lifler gözlenmiştir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10).  $CCl_4$  uygulanan grupta portal alan çevresinde kollagen liflerin, kontrol ve  $\beta$ -glukan gruplarıyla kıyaslandığında artmış olduğu görülmektedir (Şekil 4.11).  $CCl_4+\beta$ -glukan grubunda ise karaciğerdeki anatomik yapıları birbirine bağlayan konfluent nekroz (köprüleşen nekroz) görülmektedir (Şekil 4.12).

Kontrol ve  $\beta$ -glukan gruplarına ait karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre 0 olarak skorlandı (Tablo 4.2).  $CCl_4$  uygulanan grupta karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre 1 olarak skorlanırken,  $CCl_4+\beta$ -glukan grubunda 2 olarak skorlandı (Tablo 4.2).

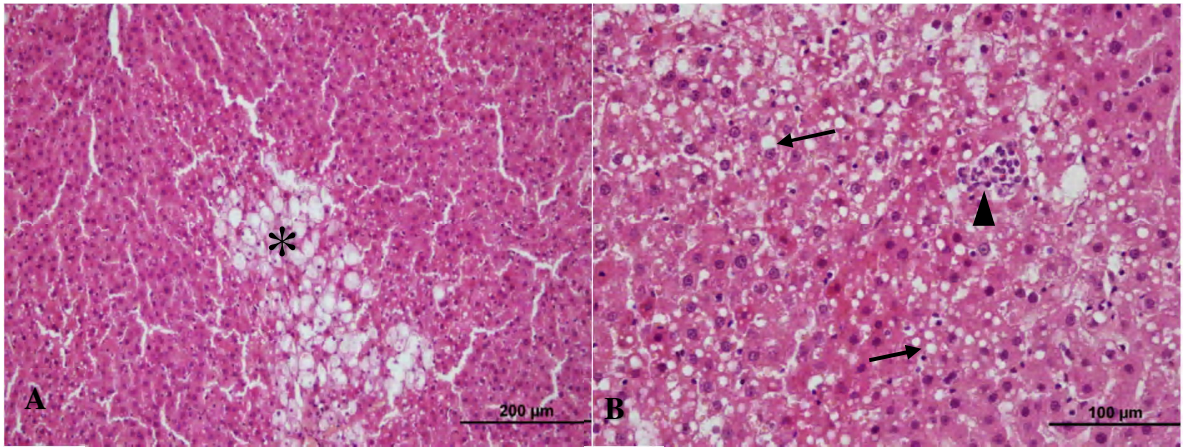


Şekil 4.1 A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (H&E) Vc: Vena centralis s: Sinüzoidler B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 s: Sinüzoidler

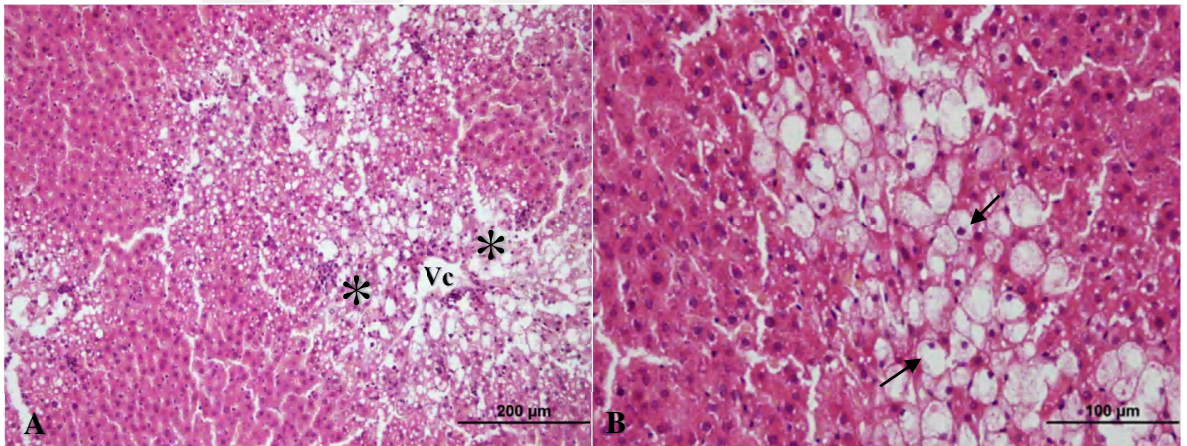


Şekil 4.2 A:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (H&E) B:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (H&E) Vc: Vena centralis s: Sinüzoidler





Şekil 4.3 A: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (H&E) yıldız: Yağlanma alanları B: CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (H&E) ok başı: Mononükleer hücre infiltrasyonu siyah ok: Mikroveziküler yağlanma

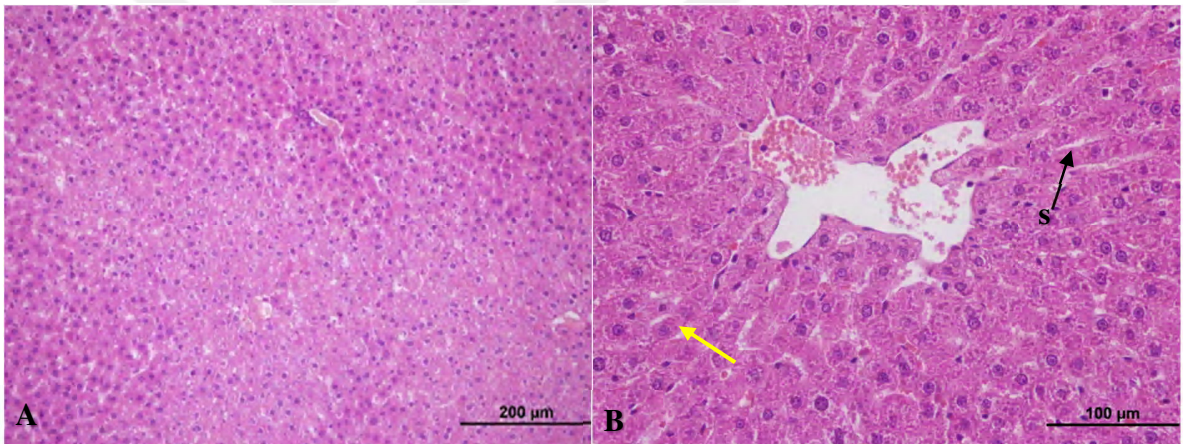


Şekil 4.4 A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (H&E) Vc: Vena centralis yıldız: Yağlanma alanları B: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (H&E) siyah ok: Hidropik dejenerasyon

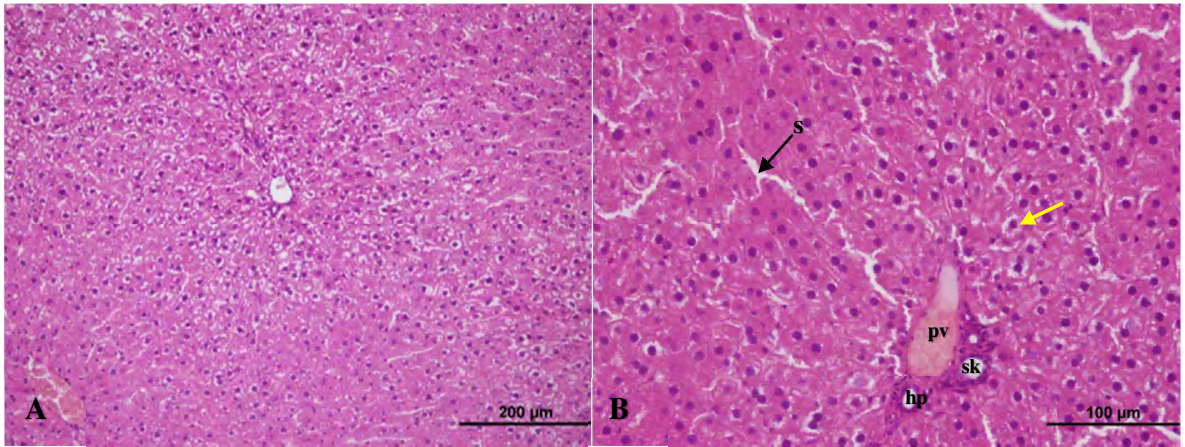
Tablo 4.2 Yağlanma Skorlaması Sonuçları. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

	Yağlanma skorlaması	p değeri
<b>Kontrol</b>	0.00 $\pm$ 0.00	p>0.05
<b><math>\beta</math>-glukan</b>	0.00 $\pm$ 0.00	p>0.05
<b>CCl<sub>4</sub></b>	1.33 $\pm$ 0.28*	p<0.05
<b>CCl<sub>4</sub>+<math>\beta</math>-glukan</b>	2.00 $\pm$ 0.19*	p<0.05

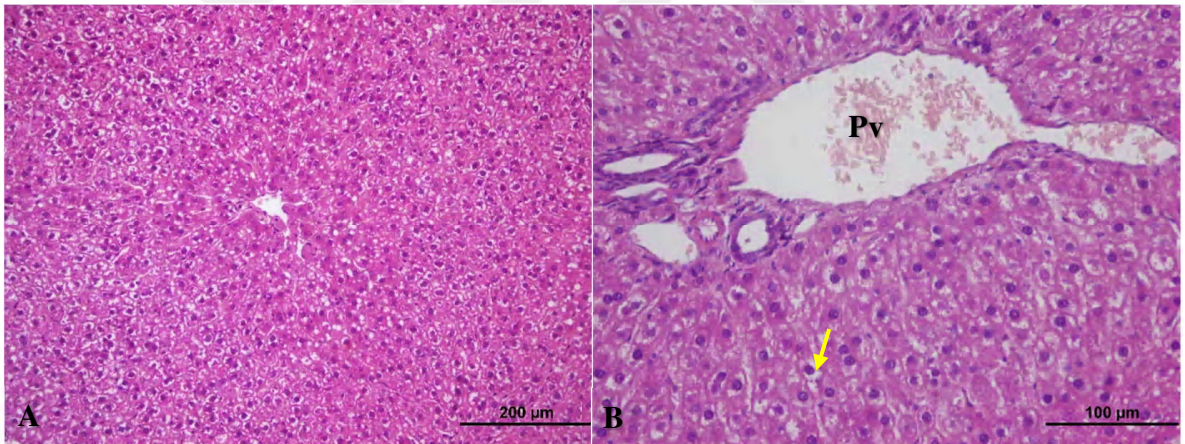
\*Kontrol ile karşılaştırıldığında p<0.05



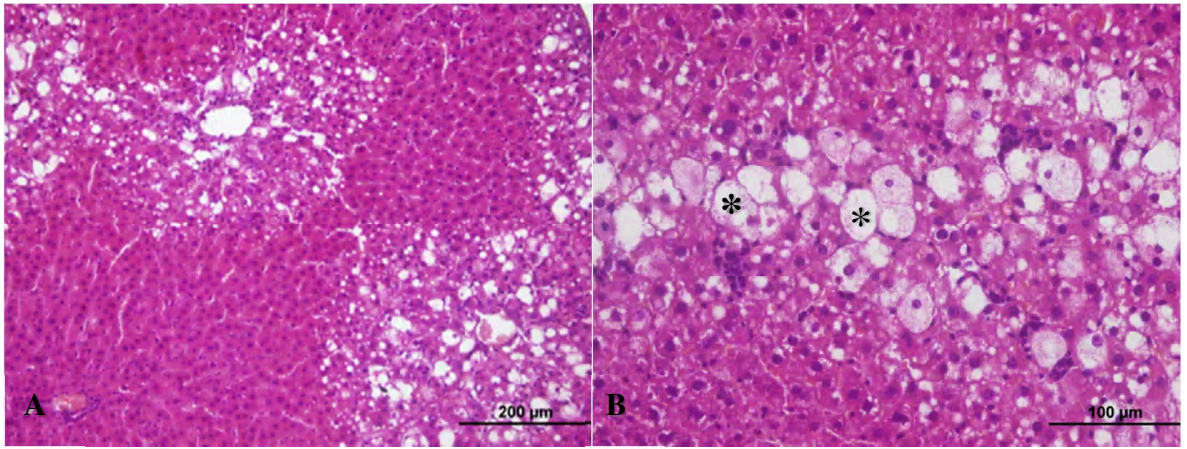
Şekil 4.5 A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (PAS) s: Sinüzoidler sarı ok: Hepatositlerin glikojen içeriği



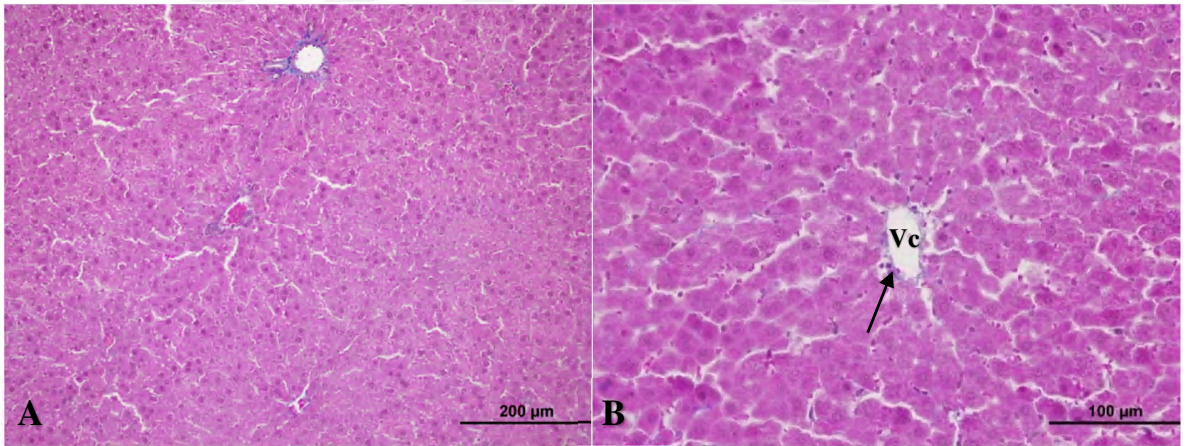
Şekil 4.6 A:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (PAS) B:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (PAS) s: Sinüzoidler pv: Portal ven hp: Hepatik arter sk: Safra kanalı sarı ok: Hepatositlerin glikojen içeriği



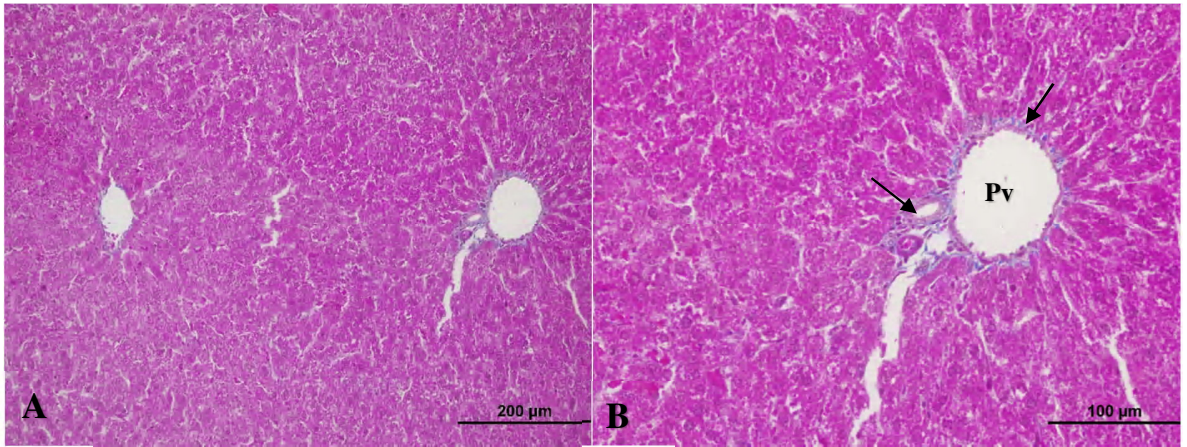
Şekil 4.7 A:  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (PAS) B:  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (PAS) Pv: Portal ven sarı ok: Az sayıda glikojen içeren hepatositler



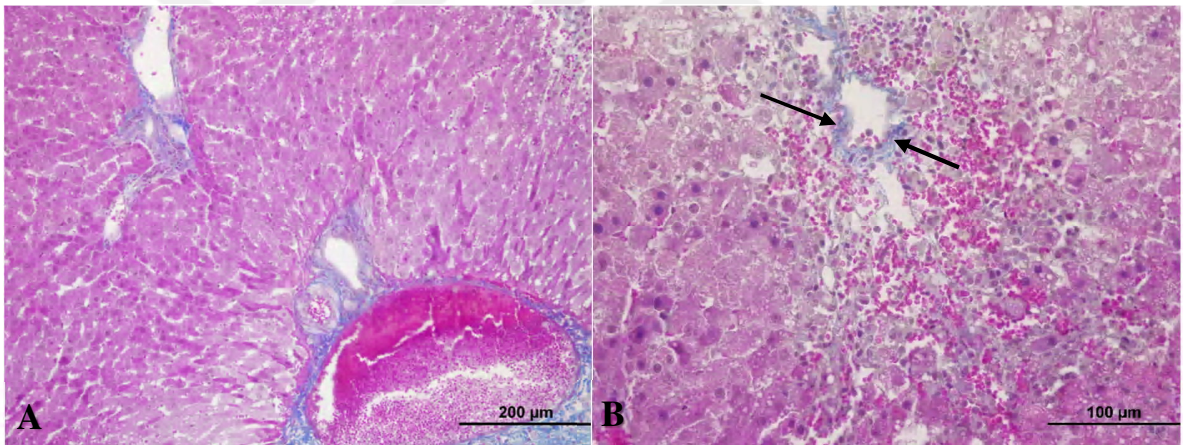
Şekil 4.8 A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (PAS) B: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (PAS) yıldız: Hepatositlerin glikojen içeriğinin boşaldığı ve makroveziküler yağlanma



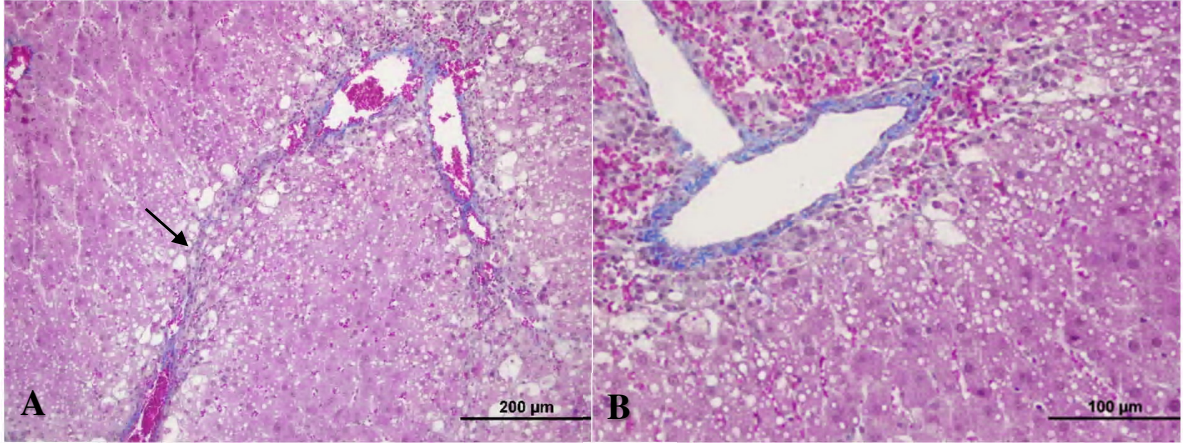
Şekil 4.9 A: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (MT) B: Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (MT) Vc: Vena centralis siyah ok: Vc duvarında tek sıra, ince kollajen lifler



Şekil 4.10 A:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı A-X20 (MT) B:  $\beta$ -glukan grubuna ait karaciğerin normal histolojik yapısı B-X40 (MT) pv: Portal ven siyah ok: Pv ve ona komşu damarların duvarındaki tek sıra kollajen lifler



Şekil 4.11 A:  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (MT) B:  $\text{CCl}_4$  uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (MT) siyah ok: Mononükleer hücre infiltrasyon alanlarında kollajen lifler

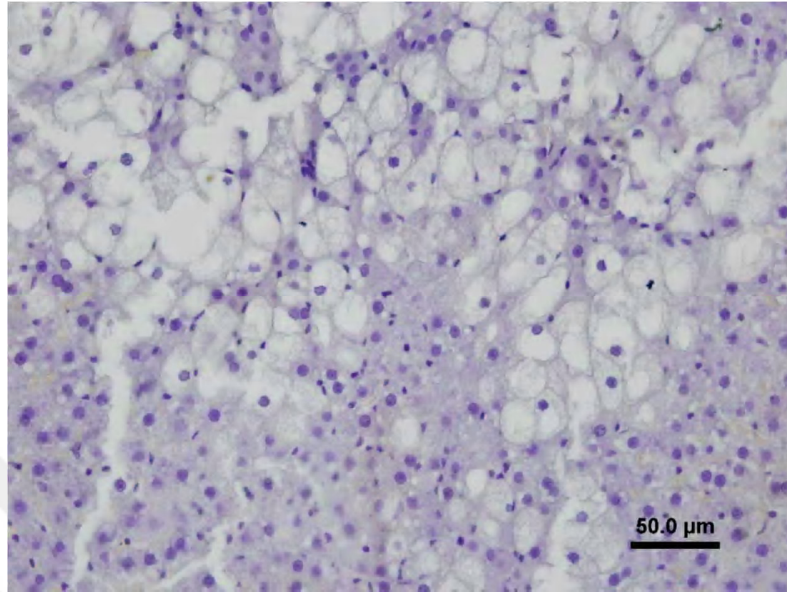


Şekil 4.12 A: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı A-X20 (MT) siyah ok: Karaciğerdeki anatomik yapıları birbirine bağlayan konfluent nekroz (köprüleşen nekroz) B: CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruba ait karaciğerin histolojik yapısı B-X40 (MT)

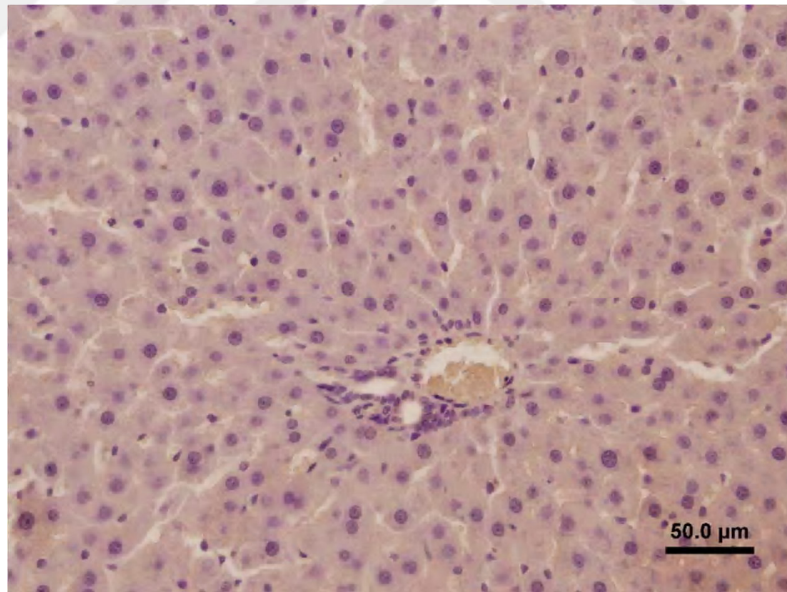
### 4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular

#### 4.3.1 İrisin

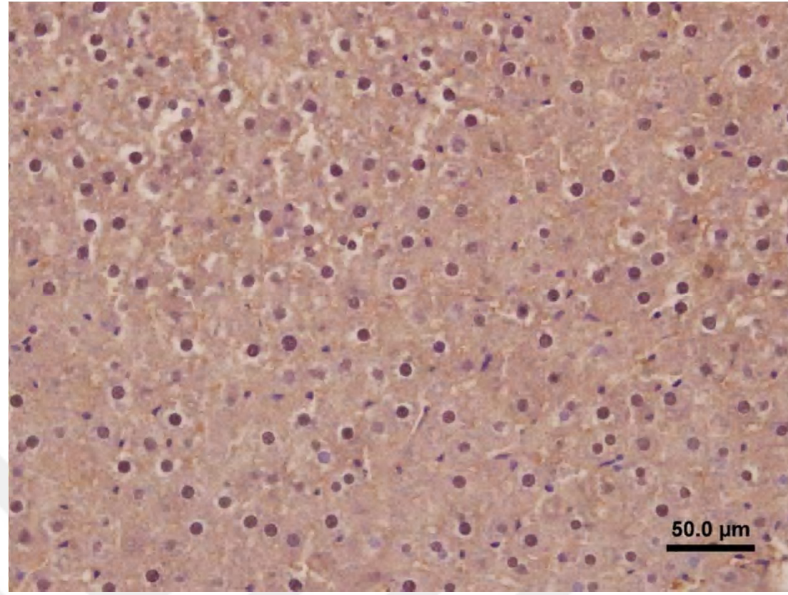
CCl<sub>4</sub>'ün karaciğerde oluşturduğu hasarda iris proteininin herhangi bir rolünün olup olmadığını belirlemek için immunohistokimya boyama metodu kullanıldı. Çalışmada, tüm deney gruplarına ait deneklerden alınan karaciğer kesitlerinde İrisin immunoreaktivite yoğunluğunu belirlemek için Image J software programı kullanıldı. Kontrol grubunda karaciğer hücreleri olan hepatositler iris ekspresyonu diğer gruplara göre daha zayıftı. Sadece β-glukan uygulanan grupta hepatosit sitoplazmalarının irisle kuvvetli olarak boyandığı görülmektedir. CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+β-glukan uygulanan gruplarda ise yağlanmanın yoğun olduğu bölgelerdeki hepatositlerde iris ekspresyonu belirgindi. Tüm gruplara ait görüntüler Şekil 4.13-17'de verilmiştir. Kontrol grubu karaciğer dokusunda irisinin immunreaktivite yoğunluğunun, β-glukan, CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+β-glukan gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,05) (Tablo 4.3).



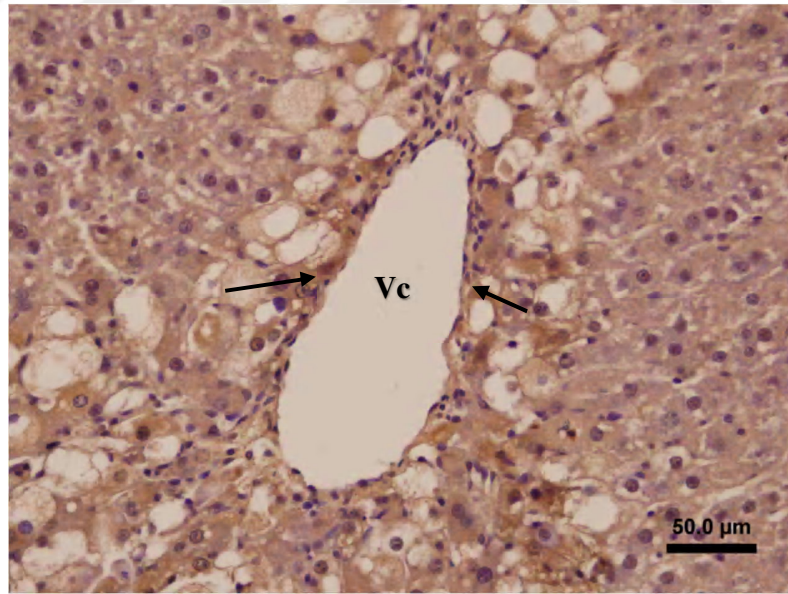
Şekil 4.13 Negatif kontrolde herhangi bir İrisin immunoreaktivitesi ayırt edilememektedir (X40)



Şekil 4.14 Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinin sitoplazması irisinle zayıf boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40)

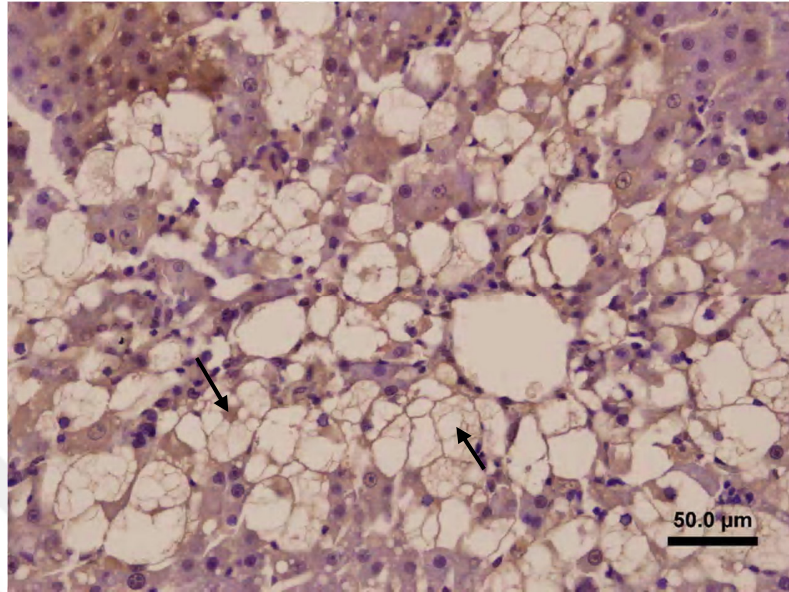


Şekil 4.15  $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada hepatositlerin sitoplazması irisinle kuvvetli boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.16  $\text{CCl}_4$  grubuna ait immunohistokimyasal boyamada irisin Vena centralis (Vc) çevresinde, yağlanmanın fazla olduğu hücrelerde (ok) kuvvetli olarak boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40)





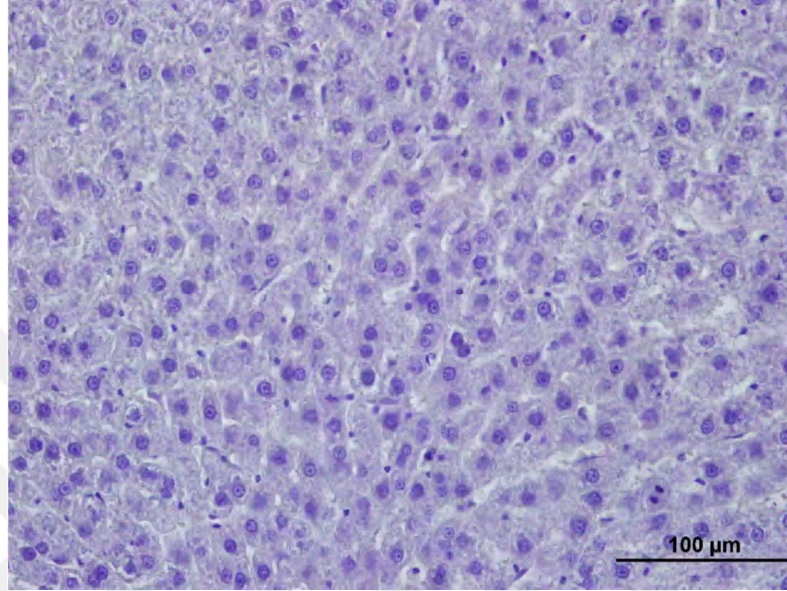
Şekil 4.17  $CCl_4+\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada irisin yağlanmanın fazla olduğu alanlarda (ok) kuvvetli olarak boyandığı görülmektedir. (İmmunoperoksidaz boyası X40)

#### 4.3.2 Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 Alfa (HIF-1 $\alpha$ )

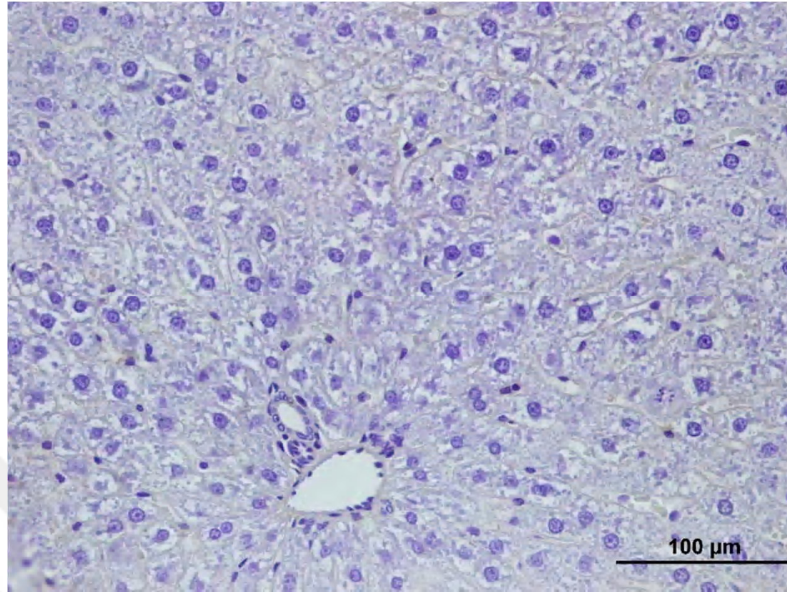
Oksijen homeostazında kritik bir rol oynayan hipoksi ile indüklenen faktör-1 (HIF-1); anjiogenez, eritropoez, glukoz metabolizması, vazodilatasyon, demir metabolizması gibi metabolik süreçlerin transkripsiyonel faktörüdür. HIF-1 $\alpha$ , hipoksiyle indüklenen genleri aktive ettiği saptanan ilk proteindir.

Çalışmada, tüm deney gruplarına ait deneklerden alınan karaciğer dokularında HIF-1 $\alpha$  immunoreaktivite yoğunluğunu belirlemek için Image J software programı kullanıldı. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde, vena centralis ve ona komşu damarların duvarlarında HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu gözlenirken, hepatositlerin sitoplazmasında ise zayıf reaksiyon gözlemlendi.  $\beta$ -glukan grubunda, HIF-1 $\alpha$  immunoreaktivitesi vena centralis çevresindeki hepatositlerde gözlenmektedir.  $CCl_4$  uygulanan ve  $CCl_4+\beta$ -glukan uygulanan grupta yağlanmanın fazla olduğu alanlarda kuvvetli HIF-1 $\alpha$  immunoreaktivitesi mevcuttu. Tüm gruplara ait görüntüler Şekil 4.18-22'de verilmiştir. Kontrol grubu karaciğer dokusunda HIF-1 $\alpha$  immunoreaktivite yoğunluğu,  $\beta$ -glukan  $CCl_4$  ve  $CCl_4+\beta$ -glukan

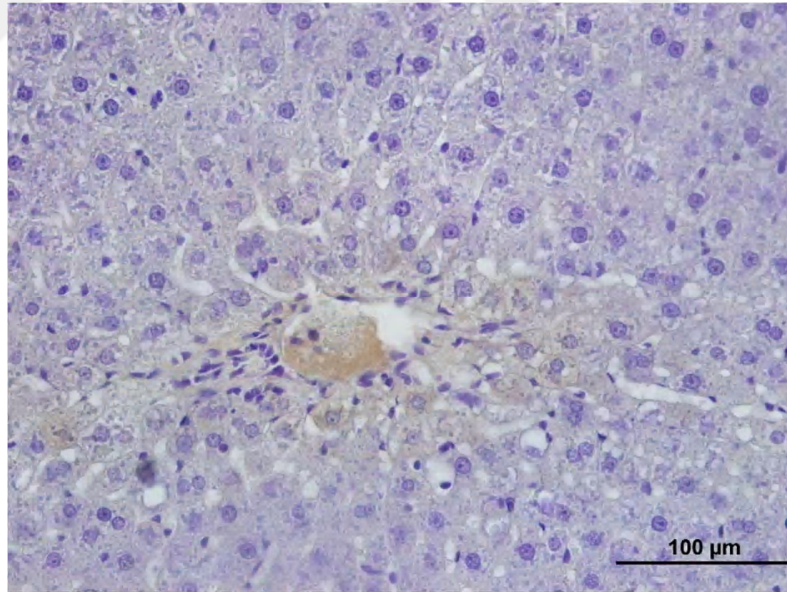
gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (p<0,001) (Tablo 4.3).



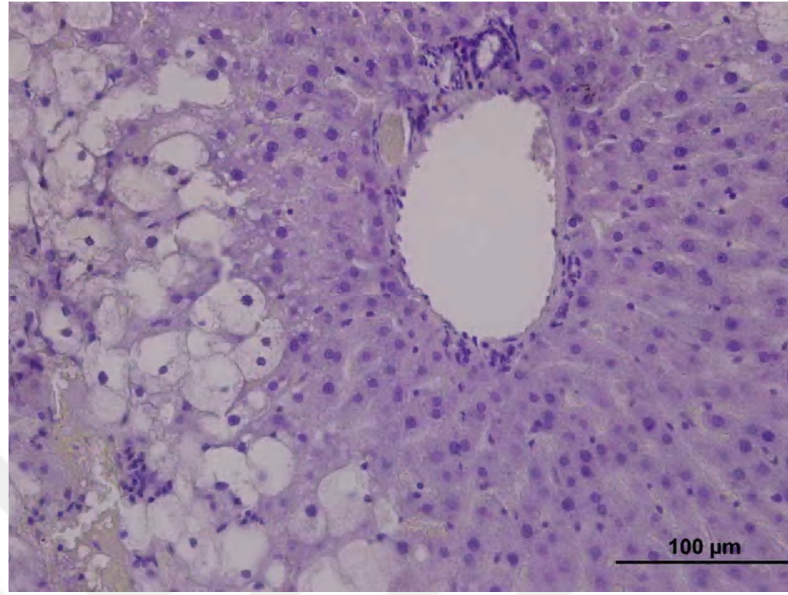
Şekil 4.18 Negatif kontrolde herhangi bir HIF-1 $\alpha$  immunoreaktivitesi ayırt edilememektedir (X40)



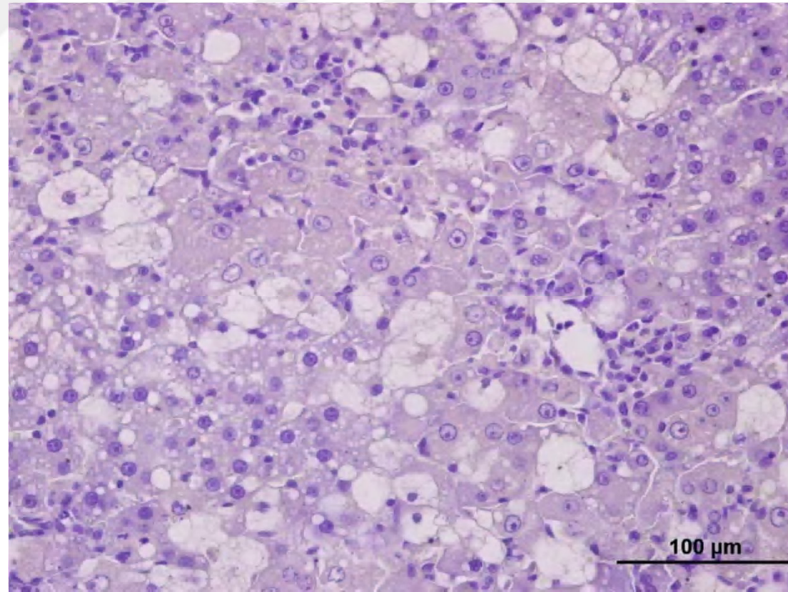
Şekil 4.19 Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.20  $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde zayıf HIF-1 $\alpha$  ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.21 CCl<sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)

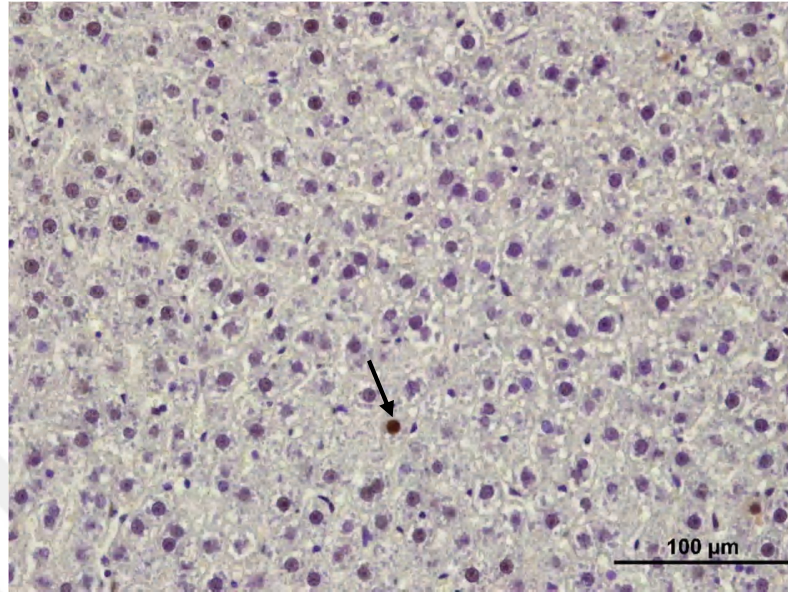


Şekil 4.22 CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer hücrelerinde HIF-1α ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)

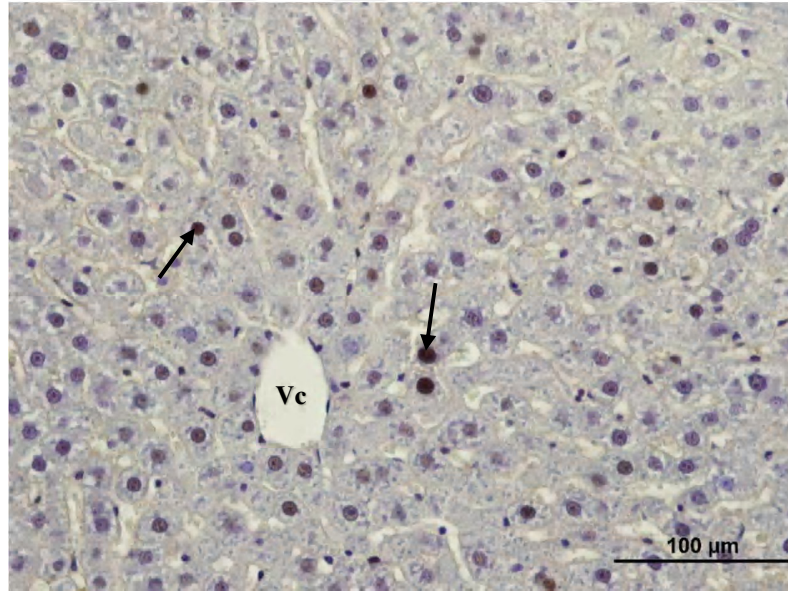
### 4.3.3 Prolifere Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)

Prolifere hücre nükleer antijeni (PCNA), genomik DNA replikasyonu, rekombinasyonu, onarımı ve DNA polimeraz gama için gerekli hücre proliferasyonunun başlamasında son derece önemli rol oynayan, 36 kDa ağırlığında asidik nükleer proteindir.

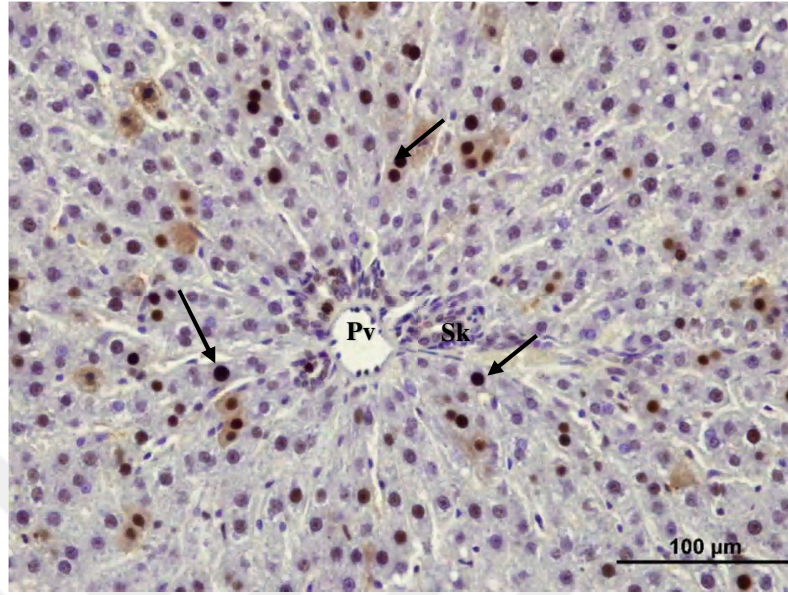
Çalışmamızda hücre proliferasyonunu belirlemek için, tüm deney gruplarına ait deneklerden alınan karaciğer dokularına PCNA immunohistokimya boyama metodu uygulandı. Çoğalma gösteren hücreler PCNA ile kahverengi boyanma gösterdi ve pozitif olarak değerlendirildi. Kontrol ve  $\beta$ -glukan uygulanan gruplarda PCNA + hücre sayısı diğer gruplara göre daha az olduğu görülmektedir (Şekil 4.23 ve Şekil 4.24).  $\text{CCl}_4$  ve  $\text{CCl}_4$ +  $\beta$ -glukan gruplarındaki PCNA+ hücre sayısı diğer iki gruba kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.25 ve Şekil 4.26). PCNA açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi.  $\beta$ -glukan ve kontrol grubu kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmamıştır ( $p>0.001$ ).  $\text{CCl}_4$  ve  $\text{CCl}_4$ +  $\beta$ -glukan grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır ( $p<0.001$ ) (Tablo 4.3).



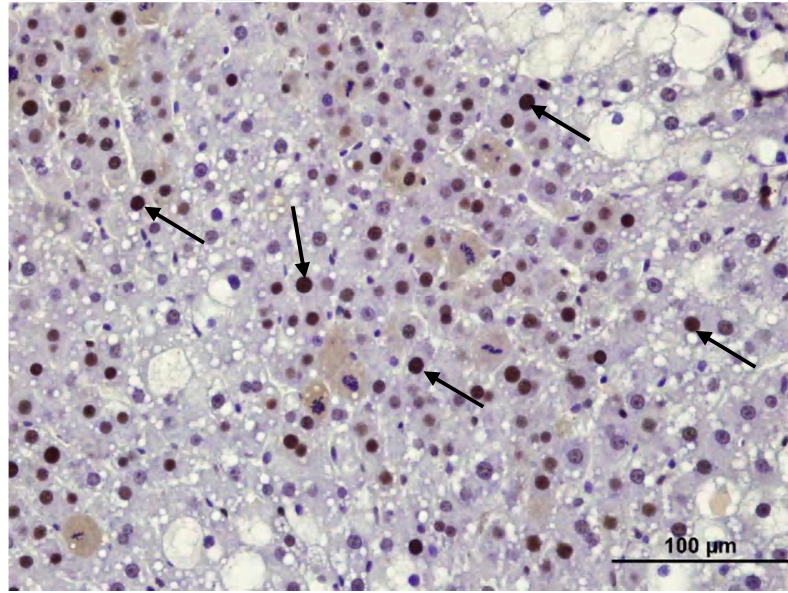
Şekil 4.23 Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.24  $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.25  $\text{CCl}_4$  grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA pozitif hücre yoğunluğu görülmektedir Pv: Portal ven Sk: Safra kanalı siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.26  $\text{CCl}_4+\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada PCNA pozitif hücre yoğunluğu görülmektedir siyah ok: PCNA pozitif hücreler (İmmunoperoksidaz boyası X40)

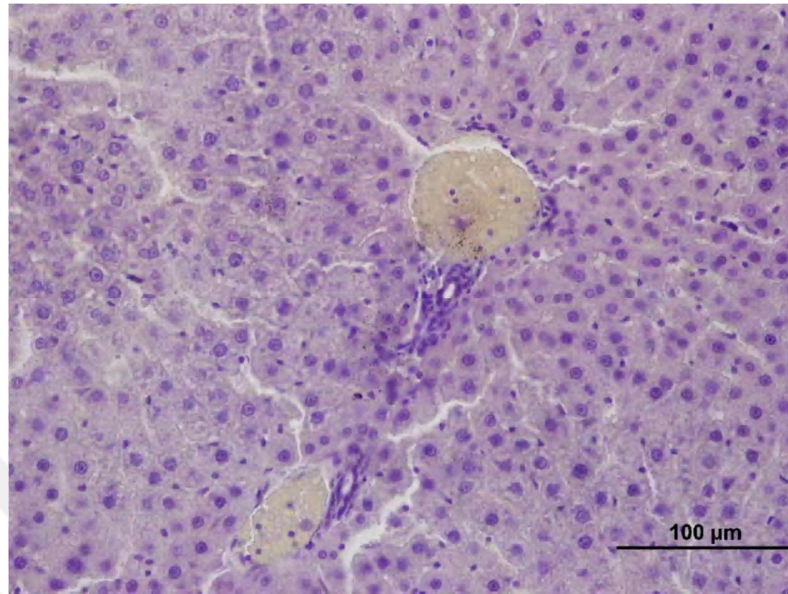
#### 4.3.4 İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

Nitrik oksit, karaciğerdeki parankim hücrelerinde ve parankimal olmayan diğer hücrelerde L–arjinin amino asidinden indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi aracılığıyla üretilen ve yüksek reaktif oksidan kapasiteye sahip bir bileşendir.

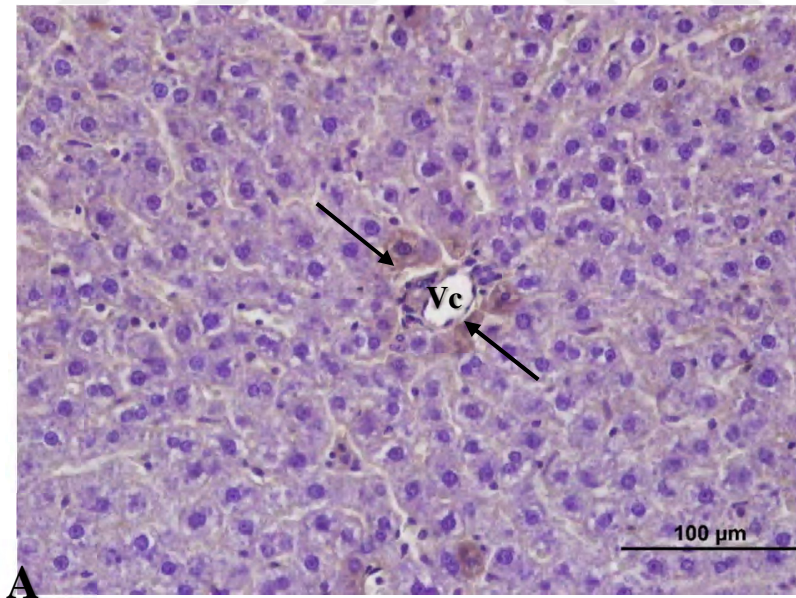
Çalışmada, tüm deney gruplarına ait deneklerden alınan karaciğer dokularında iNOS immunoreaktivite yoğunluğunu belirlemek için Image J software programı kullanıldı. Kontrol grubundaki hayvanlara ait karaciğer dokularının parankimasında yer alan hepatositlerde iNOS reseptörlerinin çok hafif şekilde boyandıkları (Şekil 4.27), diğer yandan  $\beta$ -glukan uygulanan grupta sentrilobüler çevredeki hepatositlerde ve parankim sahalarında yer alan hepatosit hücrelerinde az miktarda, fakat kontrol grubuna göre daha belirgin oranda boyandıkları gözlemlendi (Şekil 4.28). CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta ise yağlanmanın olduğu parankim sahalarında yer alan hepatosit hücrelerinde pozitif ekspresyon gözlemlendi (Şekil 4.29). CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan grubunda yağlanmanın ve hücre infiltrasyonunun olduğu alanlarda daha belirgin ve yaygın şekilde boya tuttuğu tespit edilmiştir (Şekil 4.30).

iNOS immunoreaktivite yoğunluğunu açısından gruplar karşılaştırıldıklarında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. Kontrol grubu karaciğer dokusunda iNOS immunoreaktivite yoğunluğu,  $\beta$ -glukan CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.3).

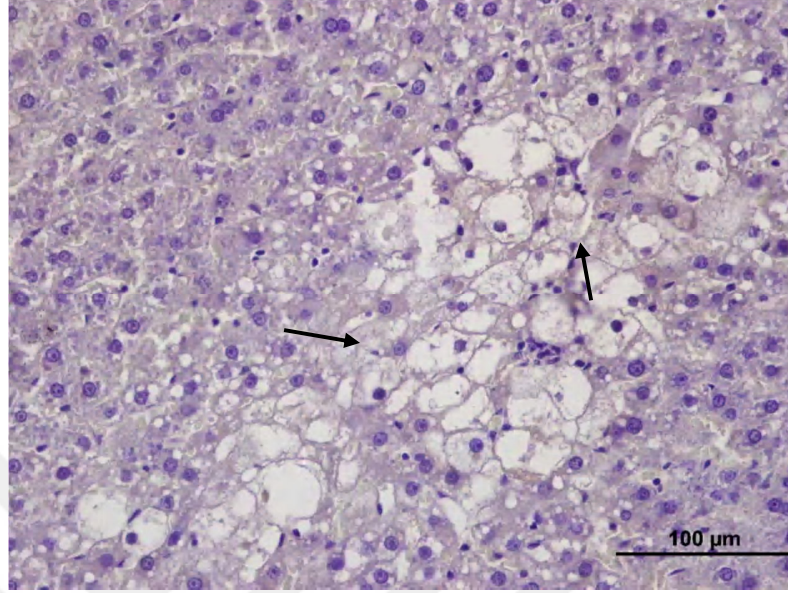




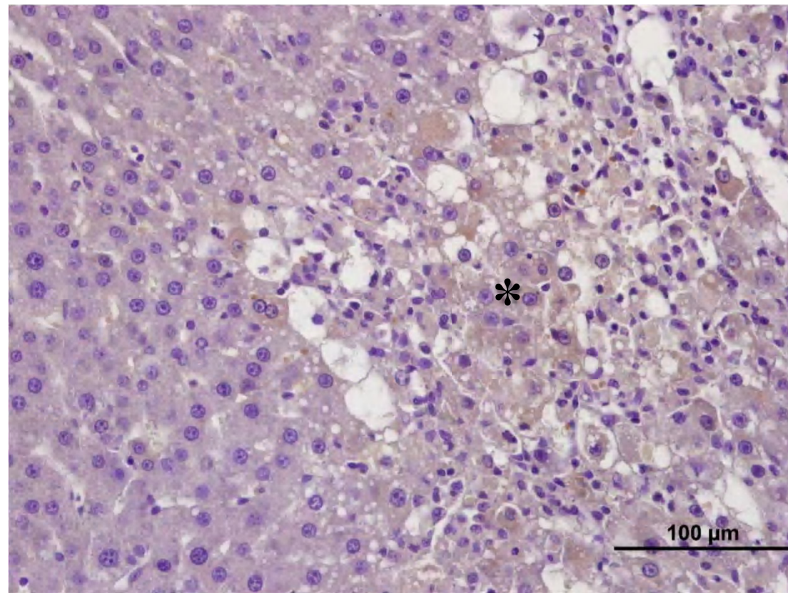
Şekil 4.27 Kontrol grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.28  $\beta$ -glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu Vc: Vena centralis siyah ok: Vc çevresindeki hepatositlerde iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.29 CCl<sub>4</sub> grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu siyah ok: yağlanmanın olduğu alanlarda iNOS ekspresyonu (İmmunoperoksidaz boyası X40)



Şekil 4.30 CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubuna ait immunohistokimyasal boyamada karaciğer dokusunda iNOS ekspresyonu yıldız: yağlanma alanları (İmmunoperoksidaz boyası X40)

Tablo 4.3 Deney Gruplarına Ait HIF-1 $\alpha$ , iNOS, PCNA ve İrisin İmmunreaktivite Yoğunluğunun İstatistiksel Analizi

	Kontrol	$\beta$ -glukan	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> + $\beta$ -glukan	p değeri
<b>HIF -1<math>\alpha</math></b>	77.21 $\pm$ 6.97 <sup>a</sup>	80.32 $\pm$ 5.75 <sup>ab</sup>	84.50 $\pm$ 5.00 <sup>b</sup>	84.30 $\pm$ 9.14 <sup>b</sup>	<0.001
<b>iNOS</b>	81.75 $\pm$ 6.80 <sup>a</sup>	85.40 $\pm$ 5.94 <sup>ab</sup>	85.31 $\pm$ 6.21 <sup>ab</sup>	87.20 $\pm$ 6.10 <sup>b</sup>	<0.010
<b>PCNA</b>	0.0 (0.0-1.0) <sup>a</sup>	1.0 (1.0-2.0) <sup>a</sup>	6.0 (3.0-16.0) <sup>b</sup>	10.0 (8.25-13.50) <sup>b</sup>	<0.001
<b>İrisin</b>	94.02 $\pm$ 0.79 <sup>a</sup>	99.60 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	99.66 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	96.78 $\pm$ 0.74 <sup>ab</sup>	<0.05

Veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak ifade edilmiştir. Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade etmektedir.

#### 4.4 Apoptotik Bulgular

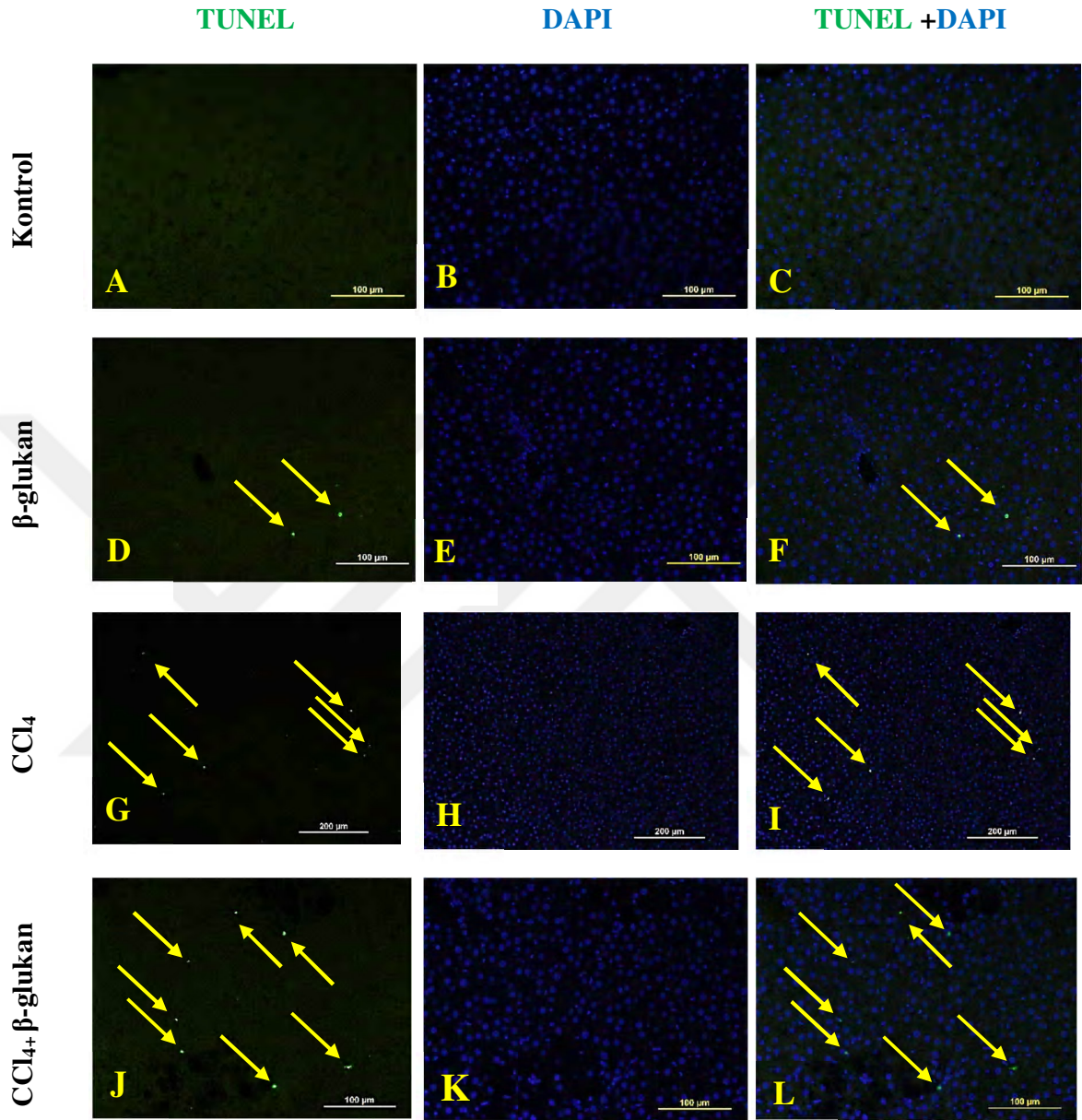
Çalışmamızda apoptozu belirlemek için TUNEL yöntemi kullanıldı. TUNEL boyama metodu uygulanan kesitlerde yeşil immunofloresan yansıma gösteren çekirdekler TUNEL+ apoptotik hücre olarak değerlendirildi. TUNEL + hücreler FITC ile filtrelenerek görüntülenirken, normal hücre çekirdekleri ise DAPI ile mavi immunofloresan yansıma ile elde edildi. Her bir kesite ait beş farklı alandan alınan fotoğraflardaki TUNEL + apoptotik hücreler tüm hücrelere oranlanarak apoptotik indeks oluşturuldu. Gruplara ait apoptotik indeks sonuçları Tablo 4.4'de verilmektedir.

Apoptotik indeks CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan ve CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplarda diğer gruplara göre göre istatistik açıdan önem arz edecek şekilde daha fazlaydı (p<0.001).  $\beta$ -glukan uygulanan grubun apoptotik indeksi neredeyse kontrol grubuna yakındı ve bu iki grup arasında CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan ve CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0.05).

Tablo 4.4 Apoptotik İndeks Sonuçları. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

	<b>Kontrol</b>	<b>B-glukan</b>	<b>CCl<sub>4</sub></b>	<b>CCl<sub>4</sub> + <math>\beta</math>-glukan</b>
<b>Apoptotik indeks</b>	0.0032 $\pm$ 0.00056	0.0041 $\pm$ 0.00031	0.0084 $\pm$ 0.00134*	0.0117 $\pm$ 0.00117*
<b>p değeri</b>	p>0.05	p>0.05	p<0.001	p<0.000

\*Kontrol ile karşılaştırıldığında p<0.05



Şekil 4.31 Apoptotik hücreler (yeşil ok): Kontrol grubu (X40) (A-C);  $\beta$ -glukan grubu (X40) (D-F); CCl<sub>4</sub> grubu (X20) (G-I); CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan grubu (J-L) (X40)

#### 4.5 Biyokimyasal Bulgular

CCl<sub>4</sub>'ün karaciğer dokusunda oluşturduğu hasar biyokimyasal olarak incelendi ve elde edilen veriler Tablo 4.5'te gösterilmektedir. Serumlarda ALT ve AST değerleri kontrol grubunda normal değerler içindeydi. CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan uygulanan grupta hem AST hem de ALT değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı. CCl<sub>4</sub> ve  $\beta$ -glukan uygulanan

grubunda AST ve ALT değerleri kontrol grubuna göre daha yüksekti ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

$CCl_4$  'ün karaciğer dokusunda oluşturduğu hasarda doku SOD, İrisin, MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , IL6 ve IL1 düzeyleri ELISA yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Karaciğer dokusunda SOD ve MDA seviyelerinin gruplar arasında anlamlı bir farklılık oluşturmadıkları gözlemlendi ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.6).

Karaciğer dokusunda İrisin, MPO, IL6 ve IL1 seviyelerinin  $CCl_4$ + $\beta$ -glukan grubunda diğer deney gruplarına göre istatistiksel açıdan önem arz edecek şekilde daha fazla olduğu gösterilmiştir. ( $p<0.05$ ) İrisin, MPO, IL6 ve IL1 seviyeleri  $\beta$ -glukan ve  $CCl_4$  uygulanan gruplarda kontrol grubu ile istatistik olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (Tablo 4.6).

$\beta$ -glukan grubuna ait karaciğer dokusunda TNF- $\alpha$  seviyesinin kontrol grubu ile arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlendi. Kontrol ve  $\beta$ -glukan uygulanan gruplarda TNF- $\alpha$  seviyesi,  $CCl_4$ + $\beta$ -glukan ve  $CCl_4$  uygulanan gruplarda istatistik açıdan önem arz edecek şekilde yüksekti ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.6).

Tablo 4.5 Kontrol ve Deney Gruplarına Ait Serum ALT ve AST Enzim Aktiviteleri.  
Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir

	<b>Kontrol</b>	<b>B-glukan</b>	<b><math>CCl_4</math></b>	<b><math>CCl_4</math>+<math>\beta</math>-glukan</b>
<b>ALT (U/L)</b>	55.00 $\pm$ 4.27	93.00 $\pm$ 40.09	390.66 $\pm$ 186.50	1041.69 $\pm$ 244.44*
<b>P değeri</b>	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.001$	$p<0.000$
<b>AST (U/L)</b>	66.80 $\pm$ 4.38	100.08 $\pm$ 34.86	290.83 $\pm$ 139.72	651.23 $\pm$ 135.57*
<b>P değeri</b>	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.001$	$p<0.000$

\*Kontrol ile karşılaştırıldığında  $p<0.05$

Tablo 4.6 Tüm Gruplara Ait Karaciğer Dokusundaki SOD, İrisin, MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 Düzeyleri Sonuçları. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir

	SOD	İrisin	MDA	MPO	TNF- $\alpha$	IL-6	IL-1
<b>Kontrol</b>	0.73 $\pm$ 0.12	5.34 $\pm$ 0.69	0.55 $\pm$ 0.07	4.44 $\pm$ 0.69	224.86 $\pm$ 8.48	1409.30 $\pm$ 44.91	713.83 $\pm$ 90.56
<b>B-glukan</b>	0.70 $\pm$ 0.12	6.68 $\pm$ 1.52	0.37 $\pm$ 0.03	3.36 $\pm$ 0.76	223.09 $\pm$ 8.67	1494.32 $\pm$ 49.09	767.39 $\pm$ 108.78
<b>CCl<sub>4</sub></b>	0.69 $\pm$ 0.13	5.81 $\pm$ 0.86	0.57 $\pm$ 0.06	4.60 $\pm$ 0.45	193.92 $\pm$ 6.30*	1458.01 $\pm$ 44.21	700.37 $\pm$ 83.18
<b>CCl<sub>4</sub>+<math>\beta</math>-glukan</b>	1.20 $\pm$ 0.20	11.38 $\pm$ 1.31*	0.66 $\pm$ 0.06	7.01 $\pm$ 0.72*	190.16 $\pm$ 4.49*	1686.42 $\pm$ 71.91*	1088.05 $\pm$ 88.60*

\*Kontrol ile karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Karaciğer metabolizma, salgılama ve depolama gibi önemli fonksiyonlarda rol oynayan hayati bir organdır. Birçok fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol almaktadır (101). Ayrıca ilaçların ve ksenobiotiklerin biotransformasyonunda ve detoksifikasyonunda rol aldığından dolayı toksisiteye olan hassaslığı artmaktadır (102).

Karaciğer hastalıkları; görülme sıklığı ve prevalansındaki artışından dolayı küresel sağlık sorunu olmaya devam etmektedir., Birleşik Krallık'ta gözlenen ölüm nedenleri arasında en sık kronik karaciğer hastalığı karşımıza çıkmaktadır (103, 104). Şimdiye kadar mevcut olan terapötik ilaçların karaciğeri tam anlamıyla iyileşmesini ve rejenerasyonunu kolaylaştırıcı etkileri zayıf bulunmaktadır (105). Karaciğer, ksenobiotiklere (toksik kimyasallar, etanol, pestisitler, ilaçlar, CCl<sub>4</sub> vs.) maruz kalması sonucunda kendisini olağanüstü yenileyebilme kabiliyetini kaybetmektedir (103).

İlaç taraması sırasında ilaçların/moleküllerin hepatoprotektif etkisini bulmak için, CCl<sub>4</sub> ile indüklenen hepatik hasar, yaygın olarak kullanılan mükemmel bir model olmaya devam etmektedir (103). Ksenobiyotiklere, özellikle de CCl<sub>4</sub>'e maruz kalmanın etiyojisi ve progresyonu oksidatif stres ve inflamasyon gibi birçok akut ve kronik rahatsızlıkların oluşmasına neden olmaktadır. CCl<sub>4</sub>'e doğrudan maruz kalmak birçok olay kaskadını tetiklemektedir. CCl<sub>4</sub>, endoplazmik retikulumun sitokrom P-450 oksijenaz sistemi tarafından metabolize edilerek CCl<sub>3</sub> veya CCl<sub>3</sub>OO radikallerinin biotransformasyonları sonrasında sekonder olarak lipid yıkıcı enzimler, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi yapıların oluşmasını sağlamaktadır. Bu serbest radikaller hücrel membranlarda lipid peroksidasyonu oluşturarak hepatosellüler hasara neden olmaktadır (106, 107).



Antioksidan tedavileri; serbest radikallerin vücutta birikimini engellemesinde ve bu radikallerin dengesinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Doğal olarak bu tedaviler lipit peroksidasyonunu inhibe ederek serbest radikalleri süpürücü özelliğindedir (108).

Kemirgenlere deneysel olarak  $CCl_4$  uygulanması vücut ağırlığındaki artışın yavaşlamasına yada düşmesine yol açmaktadır (109). Chowdhury ve ark. (110) yaptıkları çalışmada, 150-180 gr ağırlığında ergin 10-12 haftalık Long-Evans türü dişi sıçan kullanmışlar ve deney süresince (14 gün)  $CCl_4$  uygulanan sıçanlar ile kontrol grubu arasında vücut ağırlıkları yönünden anlamlı bir farklılık bulmamışlardır. Lu ve ark. (111) yaptığı çalışmada ise, 240-260 gr ağırlığında 7 haftalık Wistar albino türü 72 adet erkek sıçan kullanmış ve deney süresinin sonunda vücut ağırlıklarına bakıldığında haftada 2 kez % 20'lik  $CCl_4$  (1.5 mL/kg bw) uygulanan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit etmişlerdir. Biz de çalışmamızda, tüm deney gruplarına ait sıçanların deneye başlamadan önce ve deney süreci tamamlandıktan sonra ağırlıklarını hesapladık. Çalışmamızda,  $CCl_4$ + $\beta$ -glukan ve  $CCl_4$  uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğunu belirledik. Çalışmamızdan elde edilen sonuç, bahsedilen çalışmalar ile paralellik göstermekteydi.

Yapılan bir çalışmada,  $CCl_4$  uygulanması sonucunda sıçanların karaciğerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Bu infiltrasyon, Kupffer hücrelerinde (karaciğerdeki lokal makrofaj tipi hücreler) çeşitli inflamatuvar ve proinflamatuvar mediatörler aracılığıyla hepatik stellat hücrelerini aktive etmiştir (112, 113). Hepatik inflamatuvar mediatörleri; ayrıca NK hücreleri, NK T hücreleri, T hücreleri, dendritik hücreleri ve makrofajları karaciğer inflamasyonunda aktive etmektedir (114). Aktifleşmiş Kupffer hücreleri; transforme edici büyüme faktör- $\beta$ 'yi (TGF- $\beta$ ) üretmesi, myofibroblastlarda hepatik stellat hücrelerin oluşumuna yol açar. Myofibroblastlarda  $\alpha$ -düz kas aktini ( $\alpha$ -SMA) ve kolajen tip I, III ve IV gibi ekstraselüler matris proteinlerini üretmektedir. Bu çalışmada infiltrasyonunun yanı sıra fibrozis oluşumu başlamıştır (115). Başka bir çalışmada ise,  $CCl_4$  uygulanan grupta yağlanmanın olduğu bölgelerde Kupffer hücrelerinde artış gözlenmiştir. Mikro ve makro veziküler yağlanma belirlenmiş ve bazı alanlarında mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir (116). Yıldırım (117),  $CCl_4$  verilerek oluşturdukları deneysel karaciğer

hepatotoksitesindeki histopatolojik incelemede karaciğer dokusunun periasiner bölgelerindeki hepatositlerde şiddetli hidropik dejenerasyon, steatozis ve kogulasyon nekrozuna yol açtığı tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ise, CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğer dokuları ışık mikroskopik olarak incelendiğinde; mikro ve makro veziküler yağlanmaya ilaveten belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edildi. CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubunda da hasar devam etmekte ve yağlanma diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında artmaktaydı. Ayrıca, hepatositlerde farklı büyüklükte yuvarlak yağ vakuelleri, sinüzoid kordonlarının yapısının bozulması, hepatositlerde dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyon alanlarının varlığı dikkati çekti. Elde edilen bulgular bahsedilen önceki yapılan çalışmalardaki bulgular ile uyumluluk göstermektedir.

Hepatotoksinin neden olduğu hücre hasarı glikoliz yolunda glikojen yıkımına yol açmakta, daha ileri safhalarda ise intrasellüler asidoz ve ozmotik dengesizliklere neden olmaktadır (118). Yapılan birçok çalışmada, CCl<sub>4</sub> uygulanan karaciğer dokularına PAS boyama metodu uygulandığında hepatositlerin glikojen içeriğinde kontrol grubuna göre azalma olduğu gözlenmiştir (119,120).

Karaduman ve ark. (121) yaptıkları çalışmada taksolün fare karaciğeri üzerine etkileri ve β-glukanın koruyucu rolünü çalışmışlardır. PAS boyama ile β-glukan verilmiş gruptaki fareler kontrol grubuyla kıyaslanınca, karaciğerlerindeki glikojen alanları ve glikojen yoğunluğunda fark edilebilir bir değişiklik gözlenmemiştir. Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde, kontrol ve β-glukan gruplarına ait PAS boyama kesitlerinde hepatositler, sinüzoidler portal alan ve hepatositlerin glikojen içerikleri normal olarak gözlenirken, CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubunda ise hepatositlerin glikojen yoğunluğunda fark edilebilir bir değişiklik gözlenmiş ayrıca yağlanmış hepatosit çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir.

CCl<sub>4</sub> sıçanlarda deneysel olarak hepatik fibroz oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada deney gruplarına 0,5 ml/kg dozda CCl<sub>4</sub> ip olarak uygulandığında portal bölgede daha belirgin olan parankime yayılmış bağ dokusu artışı ile ilgili pseudobulasyon gözlenmiştir (122). Başka bir çalışmada karaciğer dokusunda fibrozisi değerlendirmek amacıyla MT ile yapılan histolojik boyamada CCl<sub>4</sub> uygulanan

gruplarda sentrilobüler ve periportal alanlarda fibroz tespit etmiştir (123). Ayrıca, CCl<sub>4</sub> uygulanan farelerde, sentral ven çevresinde kollajen fibrillerin arttığı ve komşu sentral venler arasında bir fibröz septa ile köprüleşmelerin olduğu bildirilmiştir (124).

Yapılan bu çalışmada da CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubunda özellikle vena centralis çevresinde belirgin olan kollajen liflerinin artışı yanı sıra karaciğerdeki anatomik yapıları birbirine bağlayan konfluent nekroz (köprüleşen nekroz) gözlemlendi. Bu bulgular yukarıda bahsedilen araştırmacıların çalışmalarındaki bulgular ile uyumluluk göstermekteydi.

Lu ve ark. (111) yaptıkları çalışmada, sadece CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre ortalama 3 olarak skorlanırken, kontrol grubuna ait karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre ortalama 0 olarak skorlanmıştır. Yapılan bu çalışmada ise kontrol ve β-glukan gruplarına ait karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre ortalama 0 olarak skorlanmıştır. CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta karaciğer dokularında yağlanma skoru, yağlanma alanının yüzdesine göre 1 olarak skorlanırken, CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubunda ise ortalama 2 olarak skorlanmıştır.

Karaciğer hasarı AST, ALT, ALP ve total bilirubin gibi karaciğer fonksiyon testleri hasarlı karaciğer hücrelerinden sızarak kana karışır ve hasarın tespit edilmesinde biyokimyasal belirteç olarak kullanılmaktadır (125).

Bennett ve ark. (126) yapmış oldukları çalışmada, farelere ip olarak haftada 2 defa CCl<sub>4</sub> (1ml/kg, ayçiçeği yağı içinde 1/7 oranında seyreltilmiş CCl<sub>4</sub>) uygulanarak deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturduktan 6 hafta sonra serum ALT ve AST aktivitelerinin belirgin bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada, CCl<sub>4</sub> (0.3 mL/100g haftada 2 kez 8 hafta boyunca) uygulanarak karaciğer toksikasyonu üzerine *Swertia mussotii* (STM) Franch (Gentianaceae) türünün ana biyoaktif bileşeni olan Swertiamarin (STM) farklı dozları (100 ve 200 mg/kg haftada 2 kez 8 hafta boyunca) kullanılmıştır. Deney sonunda CCl<sub>4</sub>'ün serum AST, ALT ve ALP aktivitelerini belirgin bir şekilde arttırdığı, bu artışın 100 ve 200 mg/kg STM uygulanması ile önemli ölçüde azaldığını izlemişlerdir. Sonuç olarak STM'nin hepatik detoksifikasyon enzimlerinin indüksiyonu ve efflux transportörlerinin ekspresyonuyla oksidatif stresi hafifletici etkisi ile CCl<sub>4</sub>'ün oluşturduğu karaciğer hasarı

üzerine koruyucu etkisi olduğu düşünülmüştür (127). Vetvicka ve ark. (128), farelerde CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer hasarından önce iki hafta boyunca oral verilen β-glukan ve hümitik asitin kombinasyonunun etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda CCl<sub>4</sub>'ün neden olduğu karaciğer hasarını β-glukan ve hümitik asitin belirgin olarak azalttığı; AST, ALT, ALP, GSH, SOD ve MDA sonuçlarıyla gösterilmiştir. β-glukanların anti-kanser bağışıklığı (129), kolestrolü düşürme (130), stresi baskılama (131) ve kronik çocuk hastalıklarını stimüle etme (132) gibi önemli etkileri yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise CCl<sub>4</sub>+β-glukan grupta hem AST hem de ALT değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı. CCl<sub>4</sub> ve β-glukan uygulanan gruplarda AST ve ALT değerleri CCl<sub>4</sub>+β-glukan grubuna göre daha düşüktü ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Karaciğerde oluşturulan toksik hasarlarda antioksidan maddeler ve antioksidan enzim aktiviteleri; serbest radikal üretiminin baskılanmasında ve karaciğer hücrelerinin korunmasında önem taşımaktadır (133).

Çetin ve ark. (134) yaptıkları çalışmada, karaciğerde oluşturulan oksidatif stres ve histolojik hasar üzerine Hesperidin'in koruyucu etkisini araştırmışlardır. Deneme sonunda tek doz 2 ml/mg CCl<sub>4</sub> kullanımının tiyobarbutirik asit reaktif maddeler (TBARS) seviyesini arttırdığı, GSH seviyesini azalttığı, SOD ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerini baskılandığını tespit etmişlerdir. Hesperidin ile birlikte bu parametrelerdeki değişikliklerin düzelmiş olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak Hesperidin; CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturulan karaciğer hasarını önlemede ya da radikal toplayıcı ajan olarak klinikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Naji ve ark. (135) yaptıkları çalışmada, lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinin CCl<sub>4</sub> verilen grupta kontrol ve diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu, koruyucu olarak tek diş sarımsak (SCG) ve çok diş sarımsak (MCG) ekstratları verilen gruplarda CCl<sub>4</sub> grubuna göre MDA seviyesinin düştüğü, bu düşüşün SCG grubunda daha fazla olduğunu belirlediler. SCG+CCl<sub>4</sub> ve MCG+CCl<sub>4</sub> gruplarında MDA seviyesinin düşük olması kullanılan ekstratların antioksidan etkileriyle oksidatif stresi azaltmalarının bir sonucu olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada, sıçanlara

CCl<sub>4</sub> uygulayarak karaciğerde toksikasyon ve bunun sonucunda oksidatif stres oluşturulmaya çalışılmıştır. Biyokimyasal bulgularımızda, karaciğer dokusundaki SOD ve MDA düzeyleri gruplar bazında değerlendirildiğinde kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. CCl<sub>4</sub>+β-glukan ve kontrol grubu kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklıklar saptanmamıştır .

Aydoğan ve ark. (136) karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında β-glukanın ve melatonin etkisini araştırdıkları çalışmada, sadece β-glukan uygulanan grupta SOD düzeyini artırdığı ve MDA düzeyini ise anlamlı olarak düşürdüğünü bildirmişlerdir. Çalışmanın histolojik ve biyokimyasal bulgularında β-glukan ve melatonin kombinasyonunun, β-glukan ve melatonin ayrı ayrı verimesinden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan bu çalışmada, β-glukanın serum SOD ve MDA düzeyini kontrol grubuna kıyasla düşürdüğü, fakat bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Karaciğer hasarlarında birçok hücre tipi tarafından pro-inflamatuar sitokinler; TNF-α, IL-6 ve IL-1 salgılanmaktadır (137). Huo ve ark. (138), CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta, kontrol grubuna göre TNF-α seviyesinin istatistik olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. Koruyucu rolünü araştırdıkları *Orychophragmus violaceus* tohumlarından elde edilen sulu ekstraktın ise TNF-α salınımını azalttığını göstermişlerdir.

Robert ve ark. (139), in-vitro çalışmalarında yaptıkları karaciğer hücre hasarıyla apoptozisi indüklemişler ve buna paralel olarak TNF-α düzeylerindeki artışı göstermişlerdir. Çalışmalarında, farmakolojik Lityum klorür tedavisi ile apoptozisin azaldığını ve TNF-α düzeylerinde buna paralel olarak gerilediğini immünohistokimyasal yöntemlerle göstermişlerdir. Başka bir çalışmada CCl<sub>4</sub> ile toksikasyon oluşturulan grupta; TNF-α, IL-1 β, iNOS ve COX-2 pro-inflamatuar mediatörleri karaciğerde mRNA ekspresyon seviyesini artırırken, polidatin'in bu ekspresyonu belirgin bir şekilde düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu sonuçlar polidatinin sadece hepatik lokal inflamasyon cevabını inhibe etmediğini ayrıca oksidatif stress ve inflamasyon arasındaki pozitif feedback döngüsünü zayıflattığını da göstermişlerdir (140).

Tsai ve ark. (141), yaptıkları çalışmada CCl<sub>4</sub> (10 mL/kg BW, 0.2%'lik zeytinyağı içinde) uygulan grupta pro-inflamatuar sitokinlerinin seviyesini kontrol grubuna göre daha yüksek

bulmuştur. *Coreopsis tinctorial* (CTEtOH) (0.5 ve 1.0 g/kg) ve silimarin (200 mg/kg) verilmesinin TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyesini önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde CTEtOH (1.0 g/kg) ve silimarin (200 mg/kg) verilmesinin IL-6 seviyesini önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Kupffer hücreleri tarafından üretilen TNF- $\alpha$ ; T hücrelerini ve makrofajları aktive eder ve ayrıca nitrik oksit (NO) ve başka inflamatuvar sitokinlerin üretilmesini sağlayarak immun sistemi indükleyebilir (142). Çalışmada, CTEtOH uygulaması yapıldıktan sonra NO'nun üretilmesiyle TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır ve sonuç olarak CTEtOH CCl<sub>4</sub> tarafından oluşturulan hasarda hepatoprotektif etki göstermektedir. IL-1 $\beta$  ise hepatik NO sentezinin regüle edilmesinde çok önemli rol alan başka bir inflamatuvar sitokindir (143). IL-6 karaciğeri hasarlardan korumak ve çeşitli akut faz proteinlerini üretmek için hepatositleri uyarmaktadır (144). Lin ve ark. (145), rat karaciğerinde oluşan oksidatif hasarda *Tarphochlamys affinis* (PTA) rolünü araştırdıkları çalışmalarında, CCl<sub>4</sub> uygulan grupta TNF- $\alpha$ , IL-6 ve MPO düzeyinin yüksek olduğunu, CCl<sub>4</sub> ile birlikte 70 mg/kg, 140 mg/kg ve 280 mg/kg farklı dozlarda PTA uygulanan gruplarda ise bu oranın düştüğü gösterilmiştir. Farelerin CCl<sub>4</sub>'e maruz kalması in vivo da morfolojileri değişmiş makrofajların sayısını artırmaktadır. Bu durum fagositoz, hücre adhesyonu, mieloperoksidaz (MPO) ve NO salınımlarını azaltmaktadır (146). Masihi ve ark. (86) yaptıkları deneysel çalışmada  $\beta$ -glukan ve türevlerinin TNF- $\alpha$  üzerinde baskılayıcı, IL-1, IL-6 ve IL-10 salınımı artırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir.

İrisin, glikoz ve lipid düzeylerini düzenleyebilen, insülin duyarlılığını geliştiren ve yeni keşfedilen bir myokin olup, yağ dokusu ve iskelet kasından salınan, enerji dengesinin metabolizmasında ve homeostazisinde rol olan yeni keşfedilmiş bir hormondur (147). İrisin hormonunun serum düzeyindeki değişimleri; metabolik sendrom, tip 2 diabetes mellitus, obezite, ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (96-99).

Rizk ve ark. (148), metabolik sendrom (MetS) hastalığında irisin hormonunun karaciğer dokusunda rolünü araştırmışlardır. Grup I (normal kontrol), grup II (normal karaciğer enzimleri olan MetS hastaları) ve grup III (karaciğer enzimleri yüksek yağlı karaciğer hastalığına yakalanmış MetS hastaları) olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Serum irisin düzeyinin, grup II ve grup III'deki ki hastaların, grup I'deki yetişkinlere göre daha yüksek

olduğu gözlenmiştir. Grup III'deki ki hastaların ise irisin düzeyinin grup I'dekilere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. İrisin düzeyi vücut kütle indeksi, serum trigliseridleri, homeostaz modeli değerlendirme-insülin direnci (HOMA-IR) ve karaciğer enzimleri ile pozitif yönde ilişkilidir. Özellikle karaciğer enzimleri yüksek olan MetS hastalarda serum irisin düzeylerinin yükseldiğini ve lipid metabolizması ve glikoz homeostaz parametreleri ile pozitif yönde korelasyon gösterdiğini, irisine karaciğer klirensi olasılığı olduğu rapor edilmiştir.

Bulgularımızdaki TNF- $\alpha$  düzeyleri karşılaştırıldığında, CCl<sub>4</sub> ve CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı olduğu ve en az TNF- $\alpha$  düzeyinin CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan grubunda olduğu görülmüştür. CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan grubunun IL-1 IL-6 MPO ve irisin düzeyleri ise CCl<sub>4</sub> grubuna göre daha yüksek çıkmıştır ve kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklılık vardı. Burada, CCl<sub>4</sub>+ $\beta$ -glukan grubunun IL-1 IL-6 MPO ve irisin seviyelerinin en yüksek çıkması dikkat çekiciydi. Sonuç olarak,  $\beta$ -glukanın karaciğer dokusunda IL-1 IL-6 MPO ve irisin düzeylerinin azaltmadığı ve hasarı azaltmada etkin bir role sahip olmadığını söyleyebiliriz.

İrisin beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna çevirerek dolaşıma salınan termojenik bir proteindir ve ilk olarak iskelet kas hücrelerinde belirlenmiştir. Gür ve ark. (149) yapmış oldukları çalışmada dişi ergin köstebek sıçanlarının (*Spalax leucodon*); serebellum, hipofiz, kalp, karaciğer, pankreas, dalak, uterus, böbrek ve çizgili kas dokularında irisin immunreaktivitesi araştırılmıştır. Purkinje hücreleri hariç diğer dokuların sitoplazmalarındaki hücrelerde immunoreaksiyonunu gösteren bir boyanma görülmüştür. Birçok dokuda sentezlenebileceği, fakat şuanda lokal olarak sentezlenebilen irisinin fonksiyonunun bilinmediğini ileri sürmüşlerdir.

Aydın ve ark. (150) yaptıkları çalışmada, formaldehit inhalasyonuna maruz bırakılan sıçanlarda karnozinin koruyucu etkisinin irisin ekspresyonu ile ilişkisi araştırmışlardır. ve Formaldehit dozunun arttığı grupta serum/doku irisin total antioksidan seviyesi kontrol grubuna göre nispeten azaldığı gözlemlenirken, TUNEL ekspresyonları, total oksidan seviyesi, oksidan ve apoptoz indeksindeki artışa geçtiği tespit edilmiştir. İrisin ekspresyonu

karaciğerin hepatosit ve sinüzoidal hücrelerinde, akciğerin ise parankimal hücrelerinde gözlenmiştir.

İrisin, fare ve insanlarda FNDC5 molekülünün proteolitik bir ürünüdür (151). Yapılan bir adenovirus vektörü kullanılarak farelerin karaciğerlerine FNDC5 molekülü enjekte edilmiştir. Bulgularında FNDC5 molekülünün farelerin yağ dokularında daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (152).

Yapılan bu çalışmada çalışmada da diğer araştırmacıların yaptıklarına paralel olarak, CCl<sub>4</sub> uygulanan grup ve CCl<sub>4</sub>+β-glukan gruplarda yağlanmanın olduğu alanlarda irisin ekspresyonu daha fazla gözlenmiştir. β-glukan uygulanan grupta ise hepatosit hücrelerinde tespit edilmiştir.

HIF-1α, vücutta intrasellüler oksijen metabolizmasında anahtar rol oynayan bir çeşit transkripsiyonel regülatördür (153). HIF-1α, aerobik şartlar altında hidroksilasyon yoluyla übikitin ligaz kompleksine bağlanarak degradasyonu başlatmaktabilmektedir (154). Oksijen yokluğunda HIF-1α hidroksilasyonu etkili olamadığında, HIF-1α'nın protein miktarının artışı olabilir (155). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar kontrol gruplarındaki dokularda olmamasına karşılık; benign tümörlerde saptanabilir miktarlarda, malign tümörlerde, infiltrasyonlarda ve metastazlarda ise aşırı miktarlarda HIF-1α proteini bulunduğunu tespit etmişlerdir (156- 158).

Song ve ark. (159), RT-PCR ve Western blotlama tekniklerini kullanarak; normal karaciğer dokularında HIF-1α ve KISS-1 moleküllerinin ekspresyonunu, karaciğer kanserli dokuyla kıyasladıklarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit etmişlerdir (p<0.01).

PCNA karaciğer histopatolojisinde yaygın olarak kullanılmıştır. DNA sentezinde ve hücre proliferasyonun kendini kanıtlamış bir belirleyicidir (160). PCNA ekspresyonu G fazında artıp, DNA'nın ikilendiği S fazında maksimuma ulaşır iken, bölünmenin M evresine geçiş sırasında ise düşüş görülmektedir (161).

Yapılan bir araştırmada, PCNA antikorlarının immunohistokimyasal inceleme sonrasında normal karaciğer dokusunda az sayıda hücre boyanması saptanırken, rejenere olan karaciğerde çok fazla sayıda pozitif boyanma saptanmaktadır (162).



CCl<sub>4</sub>, özellikle karaciğer lobüllerinin santral zonlarında hücre hasarına neden olabilmektedir (163). Amin ve ark. (164) yaptıkları çalışmada, sırasıyla 4, 8 ve 12 hafta boyunca sıçanlara CCl<sub>4</sub> uygulanmış ve sonucunda hafta sayısı arttıkça PCNA pozitif hücrelerin sayısında da artış görülmüştür. Özellikle 12. haftada vena centralis etrafında PCNA pozitif hücrelerin sayısındaki artış dikkat çekici olarak gözlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada da kontrol grubu diğer gruplarla PCNA açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. Çalışma gruplarının PCNA ile boyanması;  $\beta$ -glukanın karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkisinin olmadığını göstermiştir.

Nitrik oksit, potansiyel olarak karaciğerde hem sitotoksik hem de sitoprotektif rollere sahiptir. NO'nin zararlı yada faydalı etkisi belirlenirken miktarına, bulunduğu yere ve miktarına bakılmalıdır. Önceki yapılan çalışmalarda, NO'nin dokularda aşırı birikmesi apoptozu tetiklediğini göstermişlerdir (165). Ayrıca, NO yüksek düzeyde reaktif oksidanlar indükleyerek, karaciğerdeki parankimal ve non-parankimal hücrelerde ciddi oksidatif stres oluşturmaktadır (166-168). Ayrıyeten, deneysel olarak oluşturulan CCl<sub>4</sub> toksisitesine karşı karaciğeri oksidatif hasara ve peroksidasyona karşı koruduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (169). Karaciğerde mikrosirkülasyonu sağlayarak, CCl<sub>4</sub>'ün karaciğerden uzaklaştırılmasına katkı sağlamaktadır (170, 171).

Diñel ve ark. (172) 0.25 mL/kg CCl<sub>4</sub> enjekte edilen sıçanların karaciğer dokusundaki eNOS, iNOS, nNOS ve GFAP reseptörlerindeki ekspresyonun kontrol grubuna göre belirgin bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir. Parankimal hücrelerde ve hücre infiltrasyon (lenfosit) alanlarında iNOS immünreaktivitesinin daha şiddetli olduğunu belirlemişlerdir. NO'nin makrofajları aktive eden en önemli mediatörlerden biri olduğunu ve CCl<sub>4</sub> hepatotoksitesinin patogenezinin büyük katkı sağladığı düşünülmektedir. Hem yapılan bu çalışmada hem de önceden yapılan çalışmalarda karaciğer hasarı oluşan sıçanlarda iNOS immünreaktivitesinin arttığı gözlenmiştir (173, 174).

Nitrik oksit üretiminden sorumlu olan iNOS enzimi makrofajlarda üretilmektedir. Bu enzimin sentezlenmesi makrofaj yüzeyinde bulunan PRR'ye  $\beta$ -glukanın bağlanmasını tetiklemektedir. Sürekli ve yüksek konsantrasyonda nitrik oksit üretimi, tümör hücreleri ve pek çok patojen üzerinde sitostatik ve sitotoksik aktivite göstermektedir. Artan NO,

venlerin genişlemesine, damar direnci ve kan basıncının düşmesine neden olmaktadır. Fakat  $\beta$ -glukanın böyle bir etkisi henüz bulunmamıştır (175).

Yapılan birçok çalışmada  $\text{CCl}_4$ 'ün oksidatif stresi artırarak apoptoz uyardığı tespit edilmiştir (176). Başka araştırmacıların  $\text{CCl}_4$  hasarını TUNEL metodu ile yaptıkları değerlendirmelerde, karaciğerin periasiner bölgelerinde pek çok sayıda pozitif hücreye rastlanmıştır (132, 177).

Tagami ve ark. (178) alkolik hepatit hastalarında apoptozis ligand miktarının ve apoptozis reseptör ekspresyonunun arttığını gözlemlemişler ve bu hastalara ait karaciğerlerde gözlenen hasarlar ile biopsilerindeki apoptotik hücre miktarının doğru orantılı olabileceğini belirtmişlerdir.

Ghavamia ve ark. (179)  $\beta$ -glukanın radyoprotektif etkisi araştırmak için, HEPG2 hücreleri 72 saat inkübe edilip ve ardından radyasyon uyguladıklarında,  $\beta$ -glukanın DNA hasarını ve apoptozisi azalttığı gözlenmiştir.

Yaptığımız TUNEL metodu sonrası apoptoz değerlendirildiğimizde apoptotik indeks açısından  $\text{CCl}_4$  uygulanan grup ve  $\text{CCl}_4+\beta$ -glukan gruplar kontrol grubuyla kıyaslandıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış apoptotik hücre gözledik. Toksik hasar yapılan  $\text{CCl}_4$  grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olan apoptotik indeks,  $\beta$ -glukan kullanımı ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı olmayan oranda yükselmiştir.

Yapılan literatür taramasında,  $\text{CCl}_4$  ve  $\beta$ -glukan ile ilgili bir çok çalışma bulunmasına rağmen bu iki maddenin birlikte yer aldığı benzer olabilecek herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Bu sonuçlar doğrultusunda  $\text{CCl}_4$  ve  $\beta$ -glukanı ayrı ayrı ve birlikte vererek yaptığımız çalışmada,  $\text{CCl}_4$  birçok organı etkilediği gibi karaciğer dokusunda da çok ciddi histopatolojik değişiklikler oluşturmaktadır ve bu hasarı engellemek için verilen  $\beta$ -glukan uygulaması histolojik, histokimyasal ve biyokimyasal olarak karaciğerde  $\text{CCl}_4$ 'ün meydana getirdiği hasarı artırdığı gözlenmiştir. Bu konuda  $\beta$ -glukanın dozu, uygulanma şekli ve etkinlik süresinde yapılacak düzenlemeler ile etkilerini araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

## 6. KAYNAKLAR

1. Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology 10th Edition. McGraw Hill Companies Incorporated New York. 2003; 332-344.
2. Andreoli TE. Cecil Essentials of Medicine (5 th ed), Fallon, McGuire, Abrams, Arguedas, WB Saunders Company Philadelphia. 2001; 365-398.
3. Başoğlu M, Balık AA, Kavak R, et al. Effects of growth hormone on hepatic regeneration. Turk J Med Sci 2000; 30: 529-534.
4. Wang H, Weit W, Wang NP, et al. Melatonin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress. Life Science 2005; 77: 1902-1915.
5. Malnick SDH, Beergadel M, Khobler H. Nonalcolic fatty liver: A common manifestation of a metabolic disorder. Q.J. Med 2003; 96: 699-709.
6. Geier A, Kim SK, Gerloff T, et al. Hepatobiliary organic anion transporters are differently regulated in acute toxic liver injury induced by carbon tetrachloride. Journal of Hepatology 2002; 37:198-205.
7. Onori P, Morini S, Franchitto A, et al. Hepatic microvascular features in experimental cirrhosis a structural and morphometrical study in CCl4- treated rats. Journal of Hepatology 2000; 33: 555-563.

8. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for carbon tetrachloride. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. 2005.
9. Tirkey N, Pilkhwal S, Kuhad A, Chopra K. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbontetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol* 2005; 5: 2.
10. Şanlı Y. *Veteriner Farmakoloji*. Ankara Üniv Vet Fak Yay 1988; No: 412.
11. Elsis AED, Earnest DL, Sipes IG. Vitamin A potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: Enhanced lipid peroxidation without enhanced biotransformation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 119: 289-294.
12. MICROMEDEX (R) Healthcare Series Vol. 146 expires 12/2010.
13. Jamas S, Chen YCJ, Von der Osten CH, et al. Spectral analysis of glucan produced by wild-type and mutant *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydr Polymers* 1990; 13: 207-219.
14. Akramiene D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)* 2007; 43: 597-606.
15. Rice PJ, Adams EL, Ozment-Skelton T, et al. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314: 1079-1086.
16. Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol* 2009; 10: 2-25.
17. Onderdonk AB, Cisneros RL, Hinkson P, Ostroff G. Anti-infective effect of poly-beta 1-6-glucotriosyl beta 1-3-glucopyranose glucan in vivo. *Infect Immun* 1992; 60: 1642-1647.

18. Nakagawa Y, Ohno N, Murai T. Suppression by *Candida albicans* beta-glucan of cytokine release from activated human monocytes and from T cells in the presence of monocytes. *J Infect Dis* 2003; 187: 710-713.
19. Berner VK, Sura ME, Hunter KWJ. Conjugation of protein antigen to microparticulate beta-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*: a new adjuvant for intradermal and oral immunizations. *Appl Microbiol Biotechnol* 2008; 80: 1053-1061.
20. Bell S, Goldman VM, Bistran BR, et al. Effect of beta-glucan from oats and yeast on serum lipids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1999; 39: 189-202.
21. Gu YH, Takagi Y, Nakamura T, et al. Enhancement of radioprotection and antitumor immunity by yeast-derived beta-glucan in mice. *J Med Food* 2005; 8: 154-158.
22. Wei D, Williams D, Browder W. Activation of AP-1 and SP1 correlates with wound growth factor gene expression in glucan-treated human fibroblasts. *Int Immunopharmacol* 2002; 2: 1163-1172.
23. Arias-Loste MT, Ranchal I, Romero-Gómez M, Crespo J. Irisin, a Link among Fatty Liver Disease, Physical Inactivity and Insulin Resistance. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 23163-23178.
24. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481; 463-468.
25. Sadler TW. *Langman Medikal Embriyoloji (11.baskı)*, Basaklar AC. Palme Yayın, Ankara 2011: 288-294.
26. Saraydın SÜ. *Sindirim Sisteminin Gelişimi*, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Sivas.
27. Moore KL. *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*, (Çeviri: Yıldırım V, Okar İ, Dalçık H.), Nobel Matbaacılık, İstanbul, 2002; 560.

28. Özdamar S, Sorkun H. Genel Embriyoloji, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri, 2002: 2-28.
29. Menteş G, Ersöz, B, Murray RK, ve ark. Harper'ın Biyokimyası (22 Baskı), İstanbul, 1993: 880.
30. Özdamar S. Sindirim Sistemi Histolojisi, Erciyes Üniversitesi Tıp fakültesi Yayınları, Kayseri, 2002: 2-16.
31. Unur E, Ülger H, Ekinci N. Anatomi, Kıvılcım Kitabevi, Kayseri, 2009: 153-155.
32. Kuran O. Sistemik Anatomi (I. Baskı), Filiz Kitabevi, İstanbul, 1983: 429-443.
33. WEB\_1.(2018).Anonim [http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img1/liver\\_m1.jpg](http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img1/liver_m1.jpg) (27.12.2018).
34. Otlu A. Karaciğer - Safra Kesesi – Pankreas Histolojisi Ders Notları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1-31.
35. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji, Medipres Yayıncılık, Malatya, 2009: 106-121.
36. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, 6, Ramazan Demir, Palme Yayınları, 2006: 618.
37. MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas, Fourth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2003: 532-548.
38. William A, Sodeman JR, Thomas M (Çeviri: Hekimler Birliği Vakfı). Sodeman's Fiziopatoloji, 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikler Yayınevi; 1992; 2: 954-56.
39. Erdoğan D, Hatipoğlu T, Gorgun M, Ilgaz C. Büyük Sindirim Bezleri. Özel Histoloji (1. Baskı) SBAD Yayınları, Ankara, 1996: 94-99.
40. Ovale WK, Nahimey CP. (Çeviri Muftuoğlu S, Kaymaz F, Atilla P.).Netter Temel Histoloji. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2009.s.312-27.

41. Abraham L, Kierszenbaum MD. Sindirim Bezleri. Arbak S. (çeviri editörü Demir R.), Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1.baskı. Ankara: PalmeYayıncılık;2006.s.447-74.
42. Yağmurca M, Bas O, Mollaoğlu H et al. Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. Arch Med Res 2007; 38(4): 380-385.
43. Bortolotti F, Guido M. Reversal of liver cirrhosis: a desirable clinical outcome and its pathogenic background. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2007; 44(4): 401-406.
44. Lidofsky SD. Jaundice. In: Bacon BR, O'Grady JG, Di Bisceglie AM, Lake JR 2nd edn. Comprehensive clinical hepatology (Ed) . London: Elsevier publishers;2006:83-99.
45. Erkoçak A. Özel Histoloji. A.Ü. Tıp Fak Basın Evi, Ankara 1982.
46. Polat CI. Fizyoloji Karaciğer (1) Ankara Basın Yayım, Ankara, 2003: 31-50.
47. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. Journal of Hepatology 2001; 35: 297-306.
48. Enomoto K, Nishikawa Y, Omori Y, et al. Cell biology and pathology of liver sinusoidal endothelial cells. Med Electron Microsc 2004; 37: 208-215.
49. Bioulac-Sage P, Lafon ME, Saric J, Balabaud C. Nerves and perisinusoidal cells human liver. J Hepatol 1990; 10: 105-112.
50. Kayalı H. Özel Histoloji (2. Baskı), Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 1992: 140-151.
51. Guyton AJ, Hall JE (Çeviri: H. Çavuşoğlu). Tıbbi Fizyoloji, 10. Baskı. İstanbul: Nobel; 2001;724-52.
52. Camerio J, Kelley RO. Sindirim Kanalına Bağlı Bezler, Aytakin Y, Solakoglu S, Ahışhalı B(Ed).Temel Histoloji. 1. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi;1998.s.307-19.
53. Hamanoue M, Kawaida K, Takao S, et al. Rapid and marked induction of hepatocyte growth factor during liver regeneration after ischemic or crush injury. Hepatology 1992; 16(2): 1485-1492.

54. Gerbe MA, Swan NT. Histology of the liver. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 709-722.
55. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-231.
56. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji (19) Barış Kitabevi, İstanbul, 1999: 529.*
57. Guyton AC. Liver. In: Guyton AC (Ed.). *Textbook of medical physiology .7th Ed.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1986.p.1203-8.
58. Ratych ER, SmithWG. Anatomy and physiology of the liver. George D. Zuidema GE (Eds). *Surgery of the Alimentary Tract. 4th Edition.* Philedelphia: W.B Saunders Company; 1996.p.357-74.
59. WEB\_1(2013).Wikipedia.[http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon\\_tetrachloride](http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_tetrachloride). (12.02.2013).
60. Stehbens EW. Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidant with particular emphasis on zinc. *Experimental and Molecular Pathology* 2003; 75: 265265-262276.
61. Karaca Ö, Pekmez H, Kuş İ, et al. Deneysel karbon tetraklorür toksisitesi sonucu karaciğerdeki İŞP70 immunoreaksiyon artışı üzerine melatonin hormonunun etkisi. *F Ü Sağ Bil Tıp Derg* 2011; 25(2): 73 -76.
62. [http://www.turkcebilgi.com/ansiklopedi/karbon\\_tetraklor%C3%BCr/](http://www.turkcebilgi.com/ansiklopedi/karbon_tetraklor%C3%BCr/), 9 Ocak 2014.
63. Recknagel R, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharma Ther* 1989; 43: 139-154.
64. Case study: Carbon tetrachloride toxicity. *National Acedemics Pres. Environmental Medicine* 1995; 8: 249-266.
65. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster JC. *Pathologic basis of disease.* Elsevier Health Sciences China 2009; 6-37.
66. Lee KJ, Choi JH, Jeong HG. Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbontetrachloride induced liver damage in mice. *Food Chem Toxicol* 2007; 45; 2118-2125.



67. Muriel P, Alba N, Perez-Alvarez, Shibayama M, Tsutsumi VK. Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology* 2001; 130: 219-226.
68. Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: A review. *Journal of Environmental Science and Health Part C Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews* 2007; 25: 185-209.
69. Sheweita SA, Abd El-Gabar M, Bastaway M. Carbon tetrachloride changes the activity of cytochrome p-450 system in the liver of male rats: Role of antioxidants. *Toxicology* 2001; 169: 83-92.
70. Lin H, Tseng H, Wang C, et al. Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 2008; 171: 283-293.
71. Tanrıverdi G. Karbon Tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarında Değişik Dozlardaki Nikotinamidin Protektif Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi, Yüksek lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul 2005: 7-9.
72. Feng Y, Wang N, Ye X, et al. Hepatoprotective effect and its possible mechanism of *Coptidis rizoma* Aqueous extract on carbon tetrachloride-induced chronic liver hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 138: 683-690.
73. WEB\_1.(2018). Anonim [http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img\\_1/liver\\_m1.jpg](http://www.itemfraunhofer.de/reni/trimming/img_1/liver_m1.jpg) (25.12.2018).
74. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology* 2003; 33: 105-136.
75. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: Role of oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine* 2000; 21: 49-98.

76. Parola M, Pinzani M, Casini A, et al. Stimulation of lipid peroxidation or 4-hydroxynonenal treatment increases procollagen alpha 1 (I) gene expression in human liver fat-storing cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; 194: 1044-1050.
77. Al-Dbass AM, Al-Daihan SK, Bhat RS. *Agaricus blazei*, murill as an efficient hepatoprotective and antioxidant agent against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2012; 19: 303-309.
78. Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. Hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites, *Z Naturforsch C*. 2001; 56:(7-8) 649-659.
79. Novak M, Vetvicka V.  $\beta$ -Glucans, History, and the Present: Immunomodulatory Aspects and Mechanisms of Action. *Journal of Immunotoxicology* 2008; 5: 47-57.
80. Babicek K, Cechova I, Simon RR, Harwood M, Cox DJ. Toxicological assessment of a particulate yeast (1,3/1,6)- $\beta$ -D-glucan in rats. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45: 1719-1730.
81. Delaney B, Carlson T, Frazer S, et al. Evaluation of the Toxicity of Concentrated Barley  $\beta$ -glucan in a 28-day Feeding Study in Wistar Rats. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 41: 2003 477-487.
82. <http://immupet.com/Scientifically-Proven.cfm>
83. Williams DL, Mueller A, Browder W, Glucan-based macrophage stimulators: A review of their anti-infective potential. *Clin Immunother* 1996; 5: 392-399.
84. Yan J, Vetvicka V, Xia Y, et al. Critical role of kupffer cell CR3 (CD11b/CD18) in the clearance of igM-opsonized erythrocytes of soluble beta-glucan. *Immunopharmacol.* 2000; 46: 39-54.
85. Brown GD, Taylor PR, Reid DM. et al. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J Exp Med.* 2002; 196(3): 407-412.

86. Masihi KN, Madaj K, Hintelmann H, Gast G, Kaneko Y. Down-regulation of tumor necrosis factor-alpha, moderate reduction of interleukin-1beta, but not interleukin-6 or interleukin-10, by glucan immunomodulators curdlan sulfate and lentinan. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 463-468.
87. Rodriguez Lopez MI. Iris, the messenger of Gods (Iconographical study of her depictings in Greek arts). *An. Hist. Arte.* 2004; 14: 7-31.
88. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides* 2014; 56: 94-110.
89. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, et al. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 2014; 52: 68-73.
90. Aydin S, Aydin S, Kuloglu T, et al. Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides* 2013; 50: 13-18.
91. Novelle MG, Contreras C, Romero-Pico A, Lopez M, Dieguez C. (2013). Irisin, two years later. *International Journal of Endocrinology*, 2013; 2013: 746281.
92. Guardiola-Diaz, H.M., et al., Rat peroxisome proliferator-activated receptors and Brown adipose tissue function during cold acclimatization. *J Biol Chem*, 1999; 274: (33) 23368-77.
93. Castillo N, Li Q, Liu J, Jia S. Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2016; 32(1): 51-59.
94. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: an exercise hormone or a trans-membrane receptor? *Adipocyte* 2013; 2(4): 289-293.

95. Zhang Y, Li R, Meng Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP Kinase signaling. *Diabetes* 2014; 63(2): 514-525.
96. Moon HS, Mantzoros CS. Regulation of cell proliferation and malignant potential by irisin in endometrial, colon, thyroid and esophageal cancer cell lines. *Metabolism* 2014; 63: 188-193.
97. Moon HS, Dincer F, Mantzoros CS. Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines. *Metabolism* 2013; 62: 1131-1136.
98. Dun SL, Lyu RM, Chen YH, et al. Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience* 2013; 240: 155–162.
99. Ruschke K, Fishbein L, Dietrich A, et al. Gene expression of PPARgamma and PGC-1alpha in human omental and subcutaneous adipose tissues is related to insulin resistance markers and mediates beneficial effects of physical training. *Eur J Endocrinol.* 2010; 162: 515-523.
100. Smith DD, Tan X, Raveendran VV et al. Mast cell deficiency attenuates progression of atherosclerosis and hepatic steatosis in apolipoprotein E-null mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2012; 302(12): 2612-2621.
101. Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology* 2006; 44: 521-526.
102. Suryaprasad A, Byrd KK, Redd JT et al. Mortality caused by chronic liver disease among American Indians and Alaska Natives in the United States, 1999–2009. *Am. J. Public Health* 2014; 104: 350-358.
103. Huang HL, Wang YJ, Zhang QY et al. Hepatoprotective effects of baicalein against CCl4-induced acute liver injury in mice. *World J Gastroenterol.* 2012; 18: 6605.

104. Khan RA, Khan MR, Sahreen S. CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity: Protective effect of rutin on p53, CYP2E1 and the antioxidative status in rat. *BMC Complement Altern Med* 2011; 12: 178.
105. Huo HZ, Wang B, Liang YK, Bao YY, Gu Y. Hepatoprotective and antioxidant effects of licorice extract against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative damage in rats. *Int J Mol Sci*. 2011; 12: 6529-6543.
106. Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Faddah LM et al. Potential impact of silymarin in combination with chlorogenic acid and/or melatonin in combating cardiomyopathy induced by carbon tetrachloride. *Saudi J Biol Sci*. 2014; 21: 265-274.
107. Bahashwan S, Hassan MH, Aly H et al. Crocin mitigates carbon tetrachloride-induced liver toxicity in rats. *J Taiba Univ Sci*. 2015; 10: 140-149.
108. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comp Rev Food Sci Food Saf*. 2004; 3: 21-33.
109. Ramkumar KM, Rajesh R, Anuradha CV. Food restriction attenuates blood lipidperoxidation in carbon tetrachloride-intoxicated rats. *Nutrition* 2003; 19: 358-62.
110. Chowdhury MR, Sagor MA, Tabassum N, et al. Supplementation of Citrus maxima Peel Powder Prevented Oxidative Stress, Fibrosis, and Hepatic Damage in Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) Treated Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015; 2015: 1-10.
111. Lu KH, Weng CY, Chen WC, Sheen LY. Ginseng essence, a medicinal and edible herbal formulation, ameliorates carbon tetrachloride-induced oxidative stress and liver injury in rats. *J Ginseng Res* 2017; 41: 316-325.
112. Tomita K, Tamiya G, Ando S, et al. Tumour necrosis factor  $\alpha$  signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Gut* 2006; 55(3): 415-424.

113. Liu C, Tao Q, Sun M, et al. Kupffer cells are associated with apoptosis, inflammation and fibrotic effects in hepatic fibrosis in rats. *Laboratory Investigation* 2010; 90(12): 1805-1816.
114. Tacke F, Luedde T, Trautwein C. Inflammatory pathways in liver homeostasis and liver injury. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 2009; 36(1): 4-12.
115. Clement B, Loreal O, Lavavasseur F, Guillouzo A. New challenges in hepatic fibrosis. *Journal of Hepatology* 1993; 18(1): 1-4.
116. Kuloğlu N. Sıçan Karaciğer Dokusunda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Hasar Üzerine Karnozinin Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2013: 74.
117. Yıldırım S. Ratlarda Karbon Tetraklorür ile İndüklenen Karaciğer Toksikasyonu Üzerine Resveratrol'ün Koruyucu Etkisinin Histopatolojik ve TUNEL Metodu ile Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 2017; 12(2): 178-186.
118. Candelario-Jalil E, Mohammed-Al-Dalain S, Fernandez O, et al. Oxidative preconditioning affords protection against carbon tetrachloride-induced glycogen depletion and oxidative stress in rats. *J. Appl. Toxicol.* 2001; 21(4): 297-301.
119. Bhandarkar MR and Khan A. Antihepatotoxic effect of *Nymphaea stellata* willd., against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in albino rats. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 91(1): 61-64.
120. Mortezaee K, Sabbaghziarani F, Omid A et al. Therapeutic value of melatonin post-treatment on CCl<sub>4</sub>-induced fibrotic rat liver. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2016; 94: 1-12.
121. Karaduman D, Eren B and Keleş ON. The protective effect of beta-1,3-D-glucan on taxol-induced hepatotoxicity: a histopathological and stereological study. *Drug and Chemical Toxicology* 2010; 33(1): 8-16.

122. Atasever A, Baran O, Ekebaş G. Ratlarda karbon tetraklorür ile oluşturulan kronik karaciğer hasarı üzerine zerdeçal (*Curcuma longa*) ve meryemana dikeninin (*Silybum marianum*) etkisi. Sağlık Bilimleri Dergisi 2017; 26: 240-248.
123. Aras İ. Karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında safran ile safranal ve crocin gibi safran bileşenlerinin karaciğer üzerine sitoprotektif etkileri. Uzmanlık Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van; 2016, 47.
124. Li M, Sun Q, Li S. Chronic restraint stress reduces carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2016; 11: 2147-2152.
125. Yang CC, Fang JY, Hong TL, et al. Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of an aqueous extract formula derived from three Chinese medicinal herbs against CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. *International Immunopharmacology* 2013; 15: 106-113.
126. Bennett RG, Simpson RL, Hamel FG. Serelaxin increases the antifibrotic action of rosiglitazone in a model of hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2017; 23(22): 3999-4006.
127. Wu T, Li J, Li Y, Song H. Antioxidant and Hepatoprotective Effect of Swertiamarin on Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity via the Nrf2/HO-1 Pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 41: 2242-2254.
128. Vetvicka V, Garcia-Mina JM, Yvin JC. Prophylactic effects of humic acid-glucan combination against experimental liver injury. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 2015; 4(3): 249-255.
129. Vetvicka V.  $\beta$ -Glucans as Natural Biological Response Modifiers. New York: Nova Biomedical 2013
130. Vetvicka V, Vetvickova J. Effects of yeast-derived beta-glucans on blood cholesterol and macrophage functionality. *J Immunotoxicol* 2009; 6: 30-5.

131. Vetvicka V, Vancikova Z. Anti-stress action of several orally-given  $\beta$ -glucans. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2010; 154: 235-238.
132. Richter J, Svozil V, Kral V, et al. Clinical trials of yeast-derived  $\beta$ -(1,3) glucan in children: Effects on innate immunity. *Ann Transl Med.* 2014; 2: 15.
133. Campo GM, Squadrito F, Ceccarelli S, et al. Reduction of carbon tetrachloride-induced rat liver injury by IRFI 042, a novel dual vitamin E-like antioxidant. *Journal of Free Radical Research* 2001; 34: 379-393.
134. Çetin A, Çiftçi O, Otlu A. Protective effect of hesperidin on oxidative and histological liver damage following carbon tetrachloride administration in Wistar rats. *Experimental research* 2016; 12(3): 486-493.
135. Naji KM, Al-Shaibani ES, Alhadi FA, Al-Soudi SA, D'souza MR. Hepatoprotective and antioxidant effects of single clove garlic against  $\text{CCl}_4$ -induced hepatic damage in rabbits. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2017; 17: 411.
136. Aydoğan MS, Erdoğan MA, Polat A. Protective Effects of Melatonin and  $\beta$ -d-Glucan Against Liver Injury in Rats – a Comparative Study. *Adv Clin Exp Med* 2013; 22:(5) 621-627.
137. Wang T, Zhou ZX, Sun LX, et al. Resveratrol effectively attenuates  $\alpha$ -naphthylisothiocyanate-induced acute cholestasis and liver injury through choleric and anti-inflammatory mechanisms. *Acta Pharmacol Sin.* 2014; 35: 1527-1536.
138. Huo X, Liu C, Gao L, et al. Hepatoprotective Effect of Aqueous Extract from the Seeds of *Orychophragmus violaceus* against Liver Injury in Mice and HepG2 Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 1197.
139. Robert F, David A. Role of glycogen synthase kinase-3 in TNF- $\alpha$  induced NF-KB activation and apoptosis in hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 283: 204-211.



140. Zhang H, Yu CH, Jiang YP. Protective Effects of Polydatin from *Polygonum cuspidatum* against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury in Mice. PLoS ONE 2012; 7(9): 46574.
141. Tsai JC, Chiu CS, Chen YC. Hepatoprotective effect of *Coreopsis tinctoria* flowers against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice, BMC Complementary and Alternative Medicine 2017; 17: 139.
142. Hazem SH, Shaker ME, Ashamalla SA, Ibrahim TM. The novel Janus kinase inhibitor ruxolitinib confers protection against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity via multiple mechanisms. Chem Biol Interact. 2014; 220: 116-127.
143. Geller DA, de Vera ME, Russell DA, et al. A central role for IL-1 beta in the in vitro and in vivo regulation of hepatic inducible nitric oxide synthase. IL-1 beta induces hepatic nitric oxide synthesis. J Immunol 1995; 155(10): 4890-4898.
144. Gao B. Cytokines, STATs and liver disease. Cell Mol Immunol 2005; 2(2): 92-100.
145. Lin X, Liu X, Huang Q, et al. Hepatoprotective Effects of the Polysaccharide Isolated from *Tarphochlamys affinis* (Acanthaceae) against CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Injury Biol Pharm Bull 2012; 35(9): 1574-1580 .
146. Sengupta M, Sharma GD, Chakraborty B. Effect of aqueous extract of *Tinospora cordifolia* on functions of peritoneal macrophages isolated from CCl<sub>4</sub> intoxicated male albino mice. BMC Complementary and Alternative Medicine 2011; 11: 102.
147. Lv J, Pan Y, Li X, et al. Study on the Distribution and Elimination of the New Hormone Irisin In Vivo: New Discoveries Regarding Irisin. Horm Metab Res 2015; 47:(08) 591-59.
148. Rizk FH, Elshweikh SA, Abd El-Naby AY. Irisin levels in relation to metabolic and liver functions in Egyptian patients with metabolic syndrome. Can J Physiol Pharmacol. 2016; 94(4): 359-362.

149. Gür FM, Timurkaan S, Yalçın MH, Girgin A, Gençer Tarakçı. Immunohistochemical localization of irisin in mole rats (*Spalax leucodon*). *Biotech Histochem.* 2017; 92:(4) 245-251.
150. Aydın S, Ogeturk M, Kuloglu T, Kavaklı A, Aydın S. Effect of carnosine supplementation on apoptosis and irisin, total oxidant and antioxidants levels in the serum, liver and lung tissues in rats exposed to formaldehyde inhalation. *Peptides* 2015; 64: 14-23.
151. İnci A ve Aypak SÜ. İrisin ve Metabolik Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Endocrin* 2016; 11(1): 15-21.
152. Hofmann T, Elbelt U, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis—a critical update. *Peptides* 2014; 54: 89-100.
153. Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. *Cell Death Differ* 2008; 15: 678-685.
154. Patel SA, Simon MC. Biology of hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  in development and disease. *Cell Death Differ.* 2008; 15: 628-634.
155. Chen N, Chen X, Huang R, et al. BCL-xL is a target gene regulated by hypoxia-inducible factor-1 { $\alpha$ }. *J Biol Chem* 2009; 284: 10004-10012.
156. Stiehl DP, Jelkmann W, Wenger RH, Hellwig-Burgel T. Normoxic induction of the hypoxia-inducible factor1  $\alpha$  by insulin and interleukin-1 $\beta$  involves the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *FEBS Lett.* 2002; 512: 157-162.
157. Talks KL, Turley H, Gatter KC, et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1  $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol.* 2000; 157: 411-421.
158. Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes Dev.* 1997; 11: 72-82.

159. Song WW, Gui AP, Li W, Chen HS, Li JM. Expressions of HIF-1 $\alpha$  and KISS-1 in patients with liver cancer and correlation analysis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2017; 21: 4058-4063.
160. Zhao M, Zahg NX, Du ZY, Laissue JA, Zimmermann A. Three types of liver cell dysplasia (LCD) in small cirrhotic nodules are distinguishable by karyometry and PCNA labelling, and their features resemble distinct grades of hepatocellular carcinoma. *Histol Histopathol.* 1994; 9: 73-83.
161. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/ PCNA is the Auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 1997; 326: 515-517.
162. Nieminen AL, Gores GJ, Wray BE, et al. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium* 1988; 9:(5-6) 237-246.
163. Kalaycı, Ş., 1986, *Histoloji*, 1. Baskı, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa..
164. Amin AM, Kazem AH, Hassan SM, Youssef EA, Khalil EM. Effect of silymarin on liver injury induced by carbon tetrachloride in rats: histopathological and immunohistochemical studies. *Egypt J Exp Biol (Zool.)* 2010; 6(1): 107-115.
165. Clemens MG: Nitric oxide in the liver. In, Arias IM, Boyer JL, Chisari FV, Fausto N, Schachter D, Shafritz DA (Eds): *The Liver: Biology and Pathobiology*. Fourth ed., 4-18, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
166. Laskin DL, Heck DE, Gardner CR, Feder LS, Laskin JD. Distinct patterns of nitric oxide production in hepatic macrophages and endothelial cells following acute exposure of rats to endotoxin. *J Leukoc Biol.* 1994; 56: 751-758.
167. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993; 329: 2002-2012.
168. Helyar L, Bundschuh DS, Laskin JD, Laskin DL. Induction of hepatic Ito cell nitric oxide production after acute endotoxemia. *Hepatology* 1994; 6: 1509-1515.

169. Zhu W, Fung PC. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCl<sub>4</sub>- induced acute liver injury of mice. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 870-880.
170. Chamulitrat W, Jordan SJ, Mason RP. Nitric oxide production during endotoxic shock in carbon tetrachloride-treated rats. *Mol Pharmacol.* 1994; 46: 391-397.
171. Oshita M, Takei Y, Kawano S, et al. Endogenous nitric oxide attenuates ethanol-induced perturbation of hepatic circulation in the isolated perfused rat liver. *Hepatology* 1994; 20: 961-965.
172. Dinçel GÇ, Atasever A, Yaman D. Nitric Oxide and Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) expression in the liver parenchyma in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2016; 22(5): 671-678.
173. Tanaka N, Tanaka K, Nagashima Y, Kondo M, Sekihara H. Nitric oxide increases hepatic arterial blood flow in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury. *Gastroenterology* 1999; 117: 173-180.
174. Chamulitrat W, Blazka ME, Jordan SJ, Luster MI, Mason RP. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide production in endotoxin-primed rats administered carbon tetrachloride. *Life Sci.* 1995; 57: 2273-2280.
175. Novak M and Vetvicka V.  $\beta$ -Glucans, history, and the present: Immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *Journal of Immunotoxicology* 2008; 5(1): 47-57.
176. Suzek H, Celik I, Dogan A, Yildirim S. Protective effect and antioxidant role of sweetgum (*Liquidambar orientalis*) oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Pharm Biol.* 2016; 54: 451-457.
177. Chan CC, Cheng LY, Lin CL, et al. The protective role of natural phytoalexin Resveratrol on inflammation, fibrosis and regeneration in cholestatic liver injury. *Molecular nutrition & food research* 2011; 55: 1841- 1849.

178. Tagami A, Ohnishi H, Moriwaki H, et al. Fas-mediated apoptosis in acute alcoholic hepatitis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 443-448.
179. Ghavamia L, Goliaeia B, Taghizadeha B, Nikoofar A. Effects of barley  $\beta$ -glucan on radiation damage in the humanhepatoma cell line HepG2. *Mutation Research-Genetical Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2014; 1(6): 775-776.





T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(EÜHADYEK)



Tarih: 08.07.2015  
No:15/95

Toplantı Sayısı: 06

Karar

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 08.07.2015 tarihinde Prof. Dr. Coşkun TEZ 'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	KATILMADI
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Çağrı ŞAKALAR	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Nükhet KÜTÜK	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Serpil SARIOZKAN	Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Yard.Doç. Dr.	Veteriner Fakültesi	KATILMADI
Hamiyet ÜNAL	Yard.Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Osman İBİŞ	Yard.Doç. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Serap ALTUNTAŞ EROĞLU	Avukat	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	KATILMADI
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Derneği Başkanı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji A.D.'dan, Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ tarafından sunulan "Karaciğer Dokusunda Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Hasara Karşı Beta Glukan'ın Koruyucu Etkisi." başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 08.07.2015  
Etik kurul Başkan Vekili : Prof. Dr. Coşkun TEZ  
İmza :

**ASLININ AYMIDIR**  
  
**Şerife SERİM**  
Etik Kurulu Sekreteri

# KARACİĞER DOKUSUNDA KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN HASARA KARŞI BETA GLUKAN'IN KORUYUCU ETKİSİ

## ORJİNALLİK RAPORU

%**21**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**17**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%**8**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BİRİNCİL KAYNAKLAR

**1**

[dspace.trakya.edu.tr](https://dspace.trakya.edu.tr)

İnternet Kaynağı

%**8**

**2**

[readgur.com](https://readgur.com)

İnternet Kaynağı

%**1**

**3**

AKKUŞ, Derya and SÖNMEZ, Mehmet Fatih.  
"Investigation of nectin-2 expression in the Rat thymus during organogenesis in the embryo",  
Erciyes Üniversitesi, 2012.

Yayın

%**1**

**4**

[kutuphane.pamukkale.edu.tr](https://kutuphane.pamukkale.edu.tr)

İnternet Kaynağı

%**1**

**5**

[acikerisim.deu.edu.tr](https://acikerisim.deu.edu.tr)

İnternet Kaynağı

%**1**

**6**

Aslıhan İNCİ, Serap ÜNÜBOL AYPAK. "Irisin and Its Metabolic Effects: Review", Türkiye Klinikleri Journal of Endocrinology, 2016

Yayın

%**1**

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Sunay ÜNALMIŞ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 22 Ekim 1988, Erzincan

Medeni Durumu: Evli

Tel: 05365075988

email: [tekinsun@gmail.com](mailto:tekinsun@gmail.com)

Yazışma Adresi: Mevlana Mah. Firuze Sok. Ödül Yapı Caprice B Blok 5/39 Talas  
KAYSERİ

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2012
Lisans	EÜ Fen Edebiyat Fak. Biyoloji	2009
Lise	Otlukbeli Lisesi, Erzincan	2005

## YABANCI DİL

İngilizce

## YAYINLAR

1. Sönmez MF., Çilenk KT., Karabulut D., Ünalmiş S., Deligönül E., Öztürk I., et al., "Protective effects of propolis on methotrexate-induced testis injury in rat" *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol 79, pp 44-51, (2016)
2. Argun M., Üzümlü K., Sönmez MF., Özyurt A., Karabulut D., Soyersarıca Z., et al., "Cardioprotective Effect Of Metformin Against Doxorubicin Cardiotoxicity In Rats" *Anatolian Journal of Cardiology*, vol 16(4), pp 234-244, (2016)
3. Ünalmiş S., Ayvaz A., Yılmaz S., Azizoğlu U. "Molecular screening and bioactivity of native *Bacillus thuringiensis* isolates", *Journal Of Agricultural Science And Technology*, pp.1197-1207, (2015)
4. Yılmaz S., Demirezen N., Azizoğlu U., Karabörklü S., Ayvaz A., Akbulut M., Ünalmiş S. "Identification Of Some Cry1 Genes And Toxicity Determination In *Bacillus Thuringiensis* Isolates Obtained From Mills And Warehouses In Turkey" *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, vol 21, pp 189-195, (2011)