



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA KALICI KANÜL İLE OLUŞTURULAN STEATOZ
MODELİNDE KARACİĞER MİKROANATOMİSİNDE MEYDANA
GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN İLERİ MİKROSKOBİK
TEKNİKLERLE İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Asrın NALBANT

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ferruh YÜCEL

Prof. Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL

2018



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA KALICI KANÜL İLE OLUŞTURULAN STEATOZ
MODELİNDE KARACİĞER MİKROANATOMİSİNDE MEYDANA
GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN İLERİ MİKROSKOBİK
TEKNİKLERLE İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Asrın NALBANT

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ferruh YÜCEL

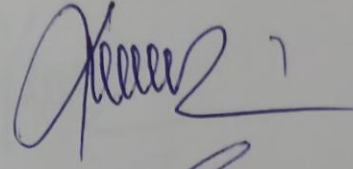
Prof. Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL

KABUL VE ONAY SAYFASI

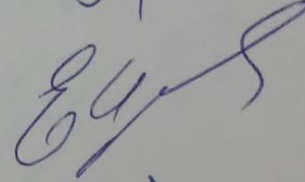
Asrım NALBANT'ın Doktora Tezi olarak hazırladığı "Ratlarda Kalıcı Kanül İle Oluşturulan Steatoz Modelinde Karaciğer Mikroanatomisinde Meydana Gelen Değişikliklerin İler Mikroskopik Tekniklerle İncelenmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

04.06.2018

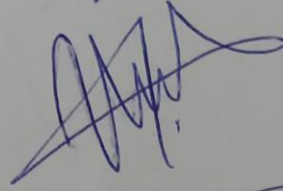
Üye : Prof. Dr. Ferruh YÜCEL



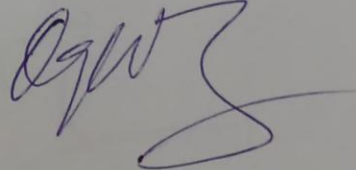
Üye : Prof. Dr. Emel ULUPINAR



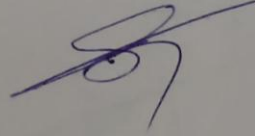
Üye : Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK



Üye : Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

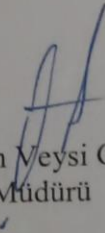


Üye : Prof. Dr. Adnan ÖZTÜRK



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04.06.2018 tarih ve 1198/5827 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü



İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
SUMMARY	viii
TABLO DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	6
2.1. Karaciğer Embriyolojisi	6
2.2. Karaciğer Anatomisi	7
2.2.1. Karaciğerin Ligamentleri	10
2.2.2. Karaciğeri Yerinde Tutan Faktörler	11
2.2.3. Karaciğerin Segmentasyonu	11
2.2.3.1. Karaciğerin Segmentleri	11
2.2.3.2. Karaciğerin Subsegmentleri	11
2.2.3.3. Karaciğerin Fonksiyonel Segmentasyonu	11
2.2.4. Karaciğerin Damar ve Sinirleri	13
2.2.4.1. Karaciğerin Arterleri	13
2.2.4.2. Karaciğerin Venleri	13
2.2.4.3. Karaciğerin Sinirleri	13
2.2.4.4. Karaciğerin Lenf Drenajı	14
2.3. Karaciğerin Histolojisi	15
2.3.1. Klasik Karaciğer Lobülü	15
2.3.2. Portal Lobül	16
2.3.3. Portal Asinüs	16
2.3.4. Karaciğer Zonları	17
2.3.5. Karaciğerde Bulunan Parankimal Hücreler	18

2.3.6. Karaciğerde Bulunan Non Parankimal Hücreler	22
2.4. Karaciğer Fizyolojisi	26
2.5. Karaciğer Yağlanması	27
2.5.1. Epidemiyoloji	28
2.5.2. NAFLD / NASH Histopatolojik Özellikleri	29
2.5.3. NASH Değerlendirmesi ve Sıralama	31
2.5.4. Biyokimyasal Özellikler / Laboratuvar Çalışmaları	34
2.5.5. Patogenez	35
2.5.6. Hepatik Steatozun Moleküler Mekanizması	39
2.6. Görüntüleme Modelleri	42
2.6.1. Ultrasonografi (USG)	42
2.6.2. Sonoelastografi İlkesi	42
2.6.3. Bilgisayarlı Tomografi (BT)	43
2.6.4. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR)	43
2.7. İleri Teknolojik Görüntüleme Mikroskopları	44
2.7.1. Multifoton Mikroskopi	44
2.7.2. Two Foton Uyarım Floresan Mikroskobu	45
2.7.3. Laser Speckle	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	47
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma	47
3.2. Deney Grupları	47
3.3. Cerrahi İşlemler	47
3.4. İntralipidin Verilmesi	49
3.5. Steatoz Modeli Geliştirilen Sıçanların Canlı Olarak Mikroskopik İncelenmesi	49
3.6. Steatoz Modeli Sıçanların Biyokimyasal, Multimod Reader, Histolojik ve Morfometrik Yöntemlerle İncelenmesi	51
3.6.1. Biyokimyasal Analiz	51
3.6.2. Floresan Boyamalar	54
3.6.3. Histolojik İnceleme	54

3.6.4. Oil Red O Boyama	54
3.6.5. Hematoksilen- Eosin Boyama	55
3.6.6. Masson Trichoromea Boyama	55
3.7. Morfometrik İnceleme	55
3.8 Verilerin İncelenmesi ve İstatistiksel Analizler	57
4. BULGULAR	59
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇ ve ÖNERİ	87
7. KAYNAKLAR DİZİNİ	88
8. ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Amaç: Deneysel olan bu çalışmada sıçanların v. portae hepatitis'inden yağ verilerek yeni bir karaciğer yağlanma modeli oluşturulması ve sonucunda karaciğerde oluşan değişikliklerin hem in vivo olarak hem de ileri mikroskopik tekniklerle görüntülenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 28 adet ağırlıkları 250-300 gr arasında dişi erişkin sıçan kullanıldı. Sıçanların v. portae hepatitis'lerine, kalıcı intraabdominal kanüller yerleştirildi. Sıçanlar 1 haftalık deney ve sham, 2 haftalık deney ve sham olmak üzere ikiye ayrıldı. Deney gruplarına deney sürelerince hergün 2,4 gr yağ/kg olmak şartıyla intralipid %20 maddesi kanülden enjekte edildi. Sham grubuna ise aynı oranda serum fizyolojik verildi. Deney sonunda hayvanlardan Laser Speckle Mikroskop ile görüntüleri alındı. Ek olarak alınan kanlardan karaciğer enzimlerine bakıldı. Hayvanlar dekapite edildikten sonra karaciğerleri histolojik yöntemlere uygun şekilde bölümlere ayrıldı. Kryostat makinesi ile alınan kesitlere; Hematoksilen-Eosin, Oil red o, Masson trichromea, Bodipy, Nile red boyamaları yapıldı. Kesitler mikroskop altında morfometrik olarak değerlendirildi.

Bulgular: İki haftalık deney grubunda balonlaşma, inflamasyon ve fibrozise rastlanırken, 1 haftalık deney grubunda sadece bazı sıçanlarda fibrozis gözlemlendi bunun dışında balonlaşma ve inflamasyona rastlanmadı. Bir haftalık deney grubunda parankima oranı azalırken sinüzoid oranının kontrole göre anlamlı olarak arttığı, 2 haftalık deney grubunun ise bu oranının 1 haftalık deney grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur.

Sonuç: Bulgular doğrultusunda 2 haftalık deney grubunda steatohepatit varlığı tespit edilmişken, bir haftalık deney grubunda sadece basit steatoz gözlemlenmiştir. Böylece yeni oluşturulan sıçan modelinin steatoza neden olduğunu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: NAFLD, Steatoz, Kalıcı kanül, V. portae hepatitis, Abdominal görüntüleme penceresi, İn vivo görüntüleme, Stereoloji, Konfokal mikroskop, Laser speckle, Multifoton mikroskop

SUMMARY

Aim: In this experimental study it was aimed to create a new fatty liver model by injecting fat into the portal vein and to evaluate the changes in the liver with both in vivo and advanced microscopic techniques.

Materials and methods: Twenty-eight adult female rats of Sprague Dawley origin weighting 250-300 g were used. A permanent intraabdominal cannula was inserted into the portal vein of each rat. The rats were divided into two groups as 1 week of experimental and sham operated group, and 2 weeks of experimental and sham operated group. Experimental groups received a daily dose of 2.4 g fat/kg by injection of 20% of intralipid given through the cannula. Sham operated groups were injected with saline solution at the same rate. At the end of the experiment, blood flow in the liver was measured with laser speckle microscope. Additionally, liver enzymes were determined in obtained blood samples. After animals were decapitated, tissue specimens obtained from liver were processed for histologic examination. Sections obtained using cryostat were stained with Hematoxyline-Eosin, oil red O, Masson tricomome, Bodipya and Nile red. Sections were evaluated under microscope for morphometric analysis.

Results: Besides the tissue inflammation and fibrosis, ballooning of hepatocytes were observed in the two-week experimental group, while in the one-week experimental group fibrosis was observed only in some rats, without any inflammation or hepatocyte ballooning. Sinusoidal ratio in comparison to parenchyma was increased significantly in one-week experimental group compared to the control. Sinusoidal ratio was significantly higher in two-week experimental group compared to one-week experimental group.

Conclusion: Two-week experimental group showed steatohepatitis, whereas only steatosis was observed in one-week experimental group. Thus, it is concluded that the newly created rat model caused steatosis.

Key words: NAFLD, steatosis, permanent cannula, portal vein, abdominal imaging window, in vivo imaging, stereology, confocal microscope, laser speckle, multifoton microscope

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1 NASH için histopatolojik anomaliler	32
Tablo 2.2. Non alkolik steatohepatit için derecelendirme ve evreleme sistemi	33
Tablo 2.3. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skorunun bileşenleri	34
Tablo 2. 4. NASHin patogenezi. "iki hit" teorisi.....	36
Tablo 3.1. Deney grupları ve deneysel yaklaşım.....	47
Tablo 3.2. Alt kit içeriği.....	51
Tablo 3.3. ALT konsantrasyon tablosu	52
Tablo 3.4. Reaksiyon karışım tablosu.....	53
Tablo 3.5. AST kit içeriği.....	53
Tablo 4.1. Deney gruplarının non alkolik steatohepatit için derecelendirilmesi ve evrenmesi.....	59
Tablo 4.2. Deney gruplarının non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skoru bileşenleri.	60
Tablo 4.3: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çap değerleri (μm) ($p<0.05$).	62
Tablo 4.5: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda sinüzoid/karaciğer parankimi oranları (Vv).	64
Tablo 4.6: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubundaki sıçanlarda sinüzoid/karaciğer parankimi oranlarının grafiği (Vv) ($p<0.05$).	64
Tablo 4.7: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grupları arasındaki hepatoselüler balonlaşma varlığını göstermektedir ($p<0.05$).....	65
Tablo 4.8: Bir ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında fibrozis düzeyini göstermektedir ($p<0.05$).	67
Tablo 4.9: Bir ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında yağlanma oranını göstermektedir ($p<0.05$).	69
Tablo 4.10: Bir ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında nile red boyamadaki ışımının düzeyini göstermektedir ($p<0.05$).....	71
Tablo 4.11: İki haftalık deney ve 2 haftalık sham gruplarında Bodipy boyamayla ışımının varlığı ($p<0.05$).	72
Tablo 4.12. Bir haftalık sham ve deney grubundaki sıçanların AST-ALT değerleri.....	72
Tablo 4.13:İki haftalık sham ve deney grubundaki sıçanların AST-ALT değerleri.....	73
Tablo 4.14: Karaciğerdeki kan akımının alanlara göre değişimi (Laser speckle velosimetri).	74

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2. 1. Karaciğer diaphragmatic yüzden görünümü	8
Şekil 2. 2. Karaciğerin önden görünümü	10
Şekil 2. 3. Karaciğerin visceral yüzden görünümü	10
Şekil 2.4. Karaciğerin segmentleri	13
Şekil 2. 5. Karaciğerin arter ve venleri	15
Şekil 2.6. Portal alan yapıları	16
Şekil 2. 7. Karaciğerin lobül modelleri.....	16
Şekil 2. 8. Karaciğer zonları	17
Şekil 2. 9: Karaciğerin histolojik yapıları	18
Şekil 2. 10: Karaciğerin histolojik yapıları	26
Şekil 3.1. Deney grubundaki sıçanların cerrahi müdahale için hazırlanması ve portal vene kanül yerleştirilmesi.	48
Şekil 3.2: Laboratuvarımızdaki malzemeler ile geliştirdiğimiz abdominal görüntüleme penceresi ve portal vene kanül yerleştirilmiş sıçana yerleştirilmesi.....	48
Şekil 3. 3: Laser speckle mikroskobunda karaciğerlerin görüntüleme işlemi gösterilmektedir.	50
Şekil 3. 4: Beşinci ve 10. dakikalar arasındaki ortalama perfüzyon değer örneği gösterilmektedir.....	50
Şekil 3. 5: İmage j'de sinuzoid /karaciğer oranı (Vv) ölçümü	56
Şekil 3. 6. İmage j'de ortalama çap ölçümü.....	58
Şekil 4.1: Lipogranülom ve 2 haftalık deney grubundan karaciğerin makroskobik görüntüsü	59
Şekil 4.2.: Bir haftalık kontrol ve deney grubu sıçanlarda v. centralis'in ışık mikroskopik görüntüleri	61
Tablo 4.4: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çap grafiği	62
Şekil 4.3: Bir ve 2 haftalık sham ve deney grubu sıçanlarda sinüzoidlerin ve karaciğer parankiminin ışık mikroskopik görüntüleri.	63
Şekil 4.4: Bir haftalık deney grubu ve 2 haftalık deney grubunda balonlaşmanın varlığı.	65
Tablo 4.7: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grupları arasındaki hepatoselüler balonlaşma varlığı.	65
Şekil 4.5: Bir ve 2 haftalık sham ve deney grubunda hafif periportal ve perisinüzoidal fibrozis	66
Şekil 4.6: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubunda yağ granüllerinin görüntüsür.....	68
Şekil 4. 7: Bir ve 2 haftalık sham ile deney grubunda Nile red boyama ..	70
Şekil 4.8:İki haftalık deney grubu bodipy floresan boyama.....	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

a.: Arteria

ACC: Asetil-CoA karboksilaz

ALT: Alanin amitransferaz

apoB: Apolipoprotein B

ARFİ: Fibroscan ve akustik radyasyon kuvveti impulsu

ASH: Alkolik steatohepatit

AST: Aspartat aminotransferaz

BT: Bilgisayarlı tomografi

CARS: Coherent anti-Stokes Raman saçılımı

CPT1: Karnitin palmitoil transferaz 1

DGAT: Diacylglycerol acyltransferase

dk : Dakika

DMSO: Dimetil sülfoksit

ELOVL6: Uzun zincirli yağ asidi elongaz 6

FABP: Yağlı asit bağlama proteini

FAD: Flavine adenine dinucleotide

FAS: Yağlı asit sentaz

FAT: Fatty acid translocase

FATP: Yağ asidi taşıyıcı protein

FFA: Serbest yağ asitleri

FİT: Fleurosence isothyocyanate

FLIM: , Floresan yaşam zamanı görüntüleme mikroskopisi

GPAT: Gliserol-3-fosfat açıltransferaz

gr: Gram

HCC: Hepatosellüler kanser

HFE: Kalıtsal hemokromotosis
HSL: Hormon sensitif lipaz
HU: Houndsfield skalası
IL-6: İnterlökin 6
kg: Kilogram
KVH: Kardiyovasküler hastalık
kVp: Kilovolts pik
LSCI: Laser speckle kontrast görüntüleme
ml: Mililitre
MDB: Mallory-Denk cisimcikleri
MnSOD: Mitokondrial manganez süperoksit dismutaz
MPM: Multifoton mikroskopi
MRI: Manyetik rezonans görüntüleme
MTP: Mikrozomal trigliserid transfer protein
NAFLD: Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı
NADH: Nicotinamide adenine nucleotid
NAS: NAS
NASH: NASH
NASH CRN: NASH Klinik Araştırmalar Ağı
nm: Nanometre
ORO: Oil red o boyası
PAI: Plazminojen aktivator inhibitör
PKA: Protein kinaz A
Proc: Processus
RİT: Rhodamine isothyocyanate dextran
Rpm: Revolutions per unit

SCD: Stearoil -CoA desatürüz

SF: Serum fizyolojik

SHG: İkinci harmonik görüntüleme

SREBP-1c: Sterol yanıt element bağlama proteini-1c

TG: Trigliserid

TNF-alfa: Tümör nekroz faktörü

TPEF: iki foton uyarım floresan

USG: Ultrasonografi

v.: Vena

VLDL: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

μ L: Mikrolitre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) prevalansı farklı nüfuslarda %4 ile %47 arasında değişen oranlarda seyretmektedir. ABD'de ve sanayileşmiş ülkelerde NAFLD şu andaki en yaygın karaciğer bozukluğunu temsil etmektedir. Genel erişkin nüfusun %18'ini, bunun yanında %35'lik prevalansı olan obez bireylerin %90'ını etkilemektedir (Kew, 2015). Obezite, özellikle insülin direnci ile birleşince, NAFLD gelişimi ve ilerlemesi için belirgin bir risk faktörüdür. Bu nedenle, obez popülasyonlarda NAFLD'nin endemik olduğu şaşırtıcı değildir, vücut kitle indeksi (BKİ) 30 kg m³ / 2'den büyük olan hastaların %90'ını etkilemektedir (Ooi vd., 2017). Şiddetli formdaki non-alkolik steatohepatit (NASH) obezite ve ileri fibrozisli hastaların %36-67'sinde bulunur (Abrams vd., 2004).

İlerleyen zamanlarda bulaşıcı olmayan hastalık görülme sıklığının bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığını aşacağı tahmin edilmektedir. Örneğin, 2020 yılına kadar bulaşıcı hastalık oranı %20, bulaşıcı olmayan hastalık %60'a yükseleceği tahmin edilmektedir (Argo ve Caldwell; 2009). Batılı ülkelerde bulaşıcı olmayan en yaygın karaciğer hastalığı olan NAFLD, Afrika ve Orta Doğu ülkelerindeki çoğu ülkede henüz çalışılmamıştır (Kruger vd., 2010). Ayrıca, hala güvenilir, düzenli olarak güncellenen, nüfusa dayalı veri bulunmayan alanlarda herhangi bir sağlık sorununun yaygınlığını belirlemek kolay değildir. Verilerin bulunduğu yerlerde bile, kötü raporlama düzenlemeleri ve uygulamaları, kalitelerini etkilemekte ve ulusal kayıtların yararlılığını azaltmaktadır (Kruger vd., 2010). Buna rağmen bazı ülkelerde yayınlanmış bazı veriler bulunmaktadır, ancak çoğunlukla nüfusa dayalı değildir ve bazı hasta kategorilerinde yapılmıştır. Bu bölgelerdeki obezite salgınının artması bakımından, NAFLD bulaşma oranının paralel olarak artacağını tahmin edilmektedir (Ooi vd., 2017).

Alkolik ve NAFLD hepatositlerde trigliseritlerin birikmesiyle karakterize olan bir hastalıktır. NonAlkolik steatoz (NAS)'da, sadece yağlanma değil intralobüler enflamasyon, hepatosellüler balonlaşma ve ilerlemiş fibrozis de görülür (Takahashi ve Fukusato 2014). NAS dünyada en çok karşılaşılan kronik karaciğer hastalığı olup (Takahashi ve vd., 2012; Botham ve vd., 2015), dünya popülasyonunun %10-35'inde ve obezlerin %50'sinden fazlasında görülen bir metabolizma hastalığıdır (P. Angulo, 2002; AB. Siegel ve AX. Zhu, 2009; Ferromosca ve Zara, 2014; Botham ve vd., 2015).

Karaciğerde yağ birikmesi dört şekilde olmaktadır. Birincisi yiyeceklerden alınan ve portal venden karaciğere geçen yağlarla, ikincisi karaciğerde yağ asitleri sentezinin artmasıyla, üçüncüsü serbest yağ

asitlerinin β -oksidasyonunun artmasıyla, dördüncüsü ise lipoproteinlerin sekresyonunun ya da sentezinin artmasıyla olmaktadır (Marinozzi vd., 2012). Adipoz dokudan ayrılan serbest yağ asitlerinin artışı karaciğer yağlanmasına neden olsada, karaciğerde yağ birikiminin spesifik nedeni tam olarak bilinmemektedir (Ferromosca ve Zara, 2014).

Steatoz makroveziküler ve mikroveziküler olmak üzere iki şekilde sınıflandırılır. Makroveziküler steatoz büyük vakuoller tarafından neredeyse hücre sitoplazmasının tamamının doldurulması ve nukleusun hücrenin periferine itilmesiyle, mikroveziküler steatoz ise küçük yağ vakuolleri ve nukleusun hücrenin merkezine yerleşmesi ile karakterizedir. (Brunt ve Tiniakos, 2010).

Steatoz ile yapılan birçok çalışmada steatozun oluşup oluşmadığı, genellikle patolojik inceleme materyallerinde fibrozis derecesi ile değerlendirilmektedir (Abe vd.,2014; Wank vd.,2014; Fargion vd., 2014; Polyzos vd., 2014; Machado ve Cortez., 2014; Dongiovanni vd., 2014; Fedchuk vd.,2014). Steatozun ilerlemesi önce fibrozis'e, fibrozis nedeniyle siroza ve siroz nedeniyle de ölüme, hatta bazı vakalarda hepatosellüler kansere (HCC) neden olmaktadır (Asrih ve Jornayvaz, 2014; Bekaert ve vd., 2016). Hastalığın şiddetinin basit steatoz'dan akut karaciğer steatoz'una doğru gittikçe arttığı bilinmekle birlikte patogenezi ve ilerlemesinin mekanizması hala anlaşılammıştır (Saadeh, 2007; Helen vd., 2012; Ferromosca ve Zara, 2014). Üstelik nonalkolik steatozun yaşam tarzı değişikliği, diyet ve egzersiz dışında tam olarak kabul edilmiş, sabit bir tedavisi de bulunmamaktadır (Cohen vd., 2011).

Nonalkolik karaciğer hastalıklarının teşhisi temel olarak steatoz'un belirlenmesine dayanır (Tobari vd., 2009). Doku biyopsisi karaciğer hastalıklarında altın standart olarak kabul edilse de ağrılı, riskli, pahalı ve örnekleme hatası olan bir yöntemdir (Tobari vd., 2009). Noninvaziv bir yöntem olan ultrasonografi ise, kronik karaciğer hastalığı olan kişilerde karaciğerde oluşan fibrozis nedeniyle, hepatik steatoz'un saptanmasında doğru sonuç vermemekte, hatta obezlerde neredeyse hiç sonuç vermemektedir (Mottin vd., 2004). Diğer bir radyolojik tetkik olan ve steatoz teşhisinde kullanılan MRI görüntülemenin de pek çok dezavantajı bulunmaktadır; örneğin fibrozisin erken safhaları MRI da görüntülenememektedir (Schramm vd., 2012). Yukarıdaki tekniklerin hiçbiri erken teşhiste kullanılacak hassasiyette, çözünürlükte ve tabloyu evrelendirebilecek yeterlilikte değildir (Wieckowskave vd., 2007).

Lazer mikroskopi teknikleri in vivo ortamda hücrenin biyolojisi ve morfolojisini en hassas duyarlılıkta incelemeye olanak sağlar. Multifoton ve konfokal mikroskoplar dokuyu, kesit almadan dolayısıyla kesit sırasında oluşabilecek artefaktları hiç oluşturmadan, en ince ayrıntısına kadar gösterebilen, en iyi çözünürlükte olan ve üç boyutlu görüntülemeye olanak sağlayan yeni teknolojik lazer mikroskoplardır (Halbhuner ve König, 2003; Dong ve Campagnola, 2012). Multifoton mikroskopi, femtosecond lazer ve

non-linear optik alanlarında ilerleme temeline dayanır. Klasik yöntemdeki uygulamada, dokunun alınıp, fikse edildikten sonra kesit alınması sürecinde, dokunun o andaki gerçek detayları ister istemez olumsuz yönde etkilenmekte, doku kendi biyolojik ortamında olmadığından, in vitro olarak çalışmak zorunluluğu doğmaktadır. Oysa çalışmamızda kullanacağımız mikroskoplar ile doku vücuttan çıkarılmadan, kendi doğal ortamında in vivo olarak incelenecektir. Kullanacağımız mikroskoplar, karaciğerin doku mimarisi ve hücre morfolojisi hakkındaki gerçek ve detaylı görüntüleri elde etmek için kolajenden alınan "second harmonic generation" sinyallerden ve hücrelerden gelen otofloresan kombinasyonları kullanır (Li vd.,2009). Doğal intrinsik floroforlar azalmış nicotinamide adenine nucleotide (NADH) ve flavine adenine dinucleotide (FAD) içeren pek çok hücrede bulunur. Dahası multifoton mikroskopi ekzojen kontrast ajanların idaresi dışında NAFLD ve FAD redoks oranı yoluyla hücre metabolizmasını ortaya çıkarabilir. Böylece, multifoton mikroskopi noninvaziv değerlendirme ile morfolojik yapıların görüntülenmesinde ve canlı dokunun fonksiyonel durumunun belirlenmesinde büyük bir potansiyele sahiptir (Yan vd., 2012).

İnsan materyali kullanılarak yapılan steatoz çalışmalarında birtakım kısıtlamalar bulunmaktadır. Bunlar arasında NASun oluşması ve ilerlemesinin uzun periyotlarda gerçekleşmesi, hastadan karaciğer dokusu örneği almada ve ilaç kullanımında etik sınırlamalar olması gibi birtakım kısıtlamalar sayılabilir (Takahashi vd., 2012).

Çeşitli dokulardaki yağ asitlerinin alınımı ve metabolizması "Fatty acid translocase" (FAT ya da CD36) tarafından düzenlenir (Choi YJ vd. 2015). Hepatosit'lerde CD36 salgılanması normalde zayıftır, bununla birlikte insanlardaki insülin rezistansında ve NAFLD de olduğu gibi yapılan steatoz modellerinde arttığı bulunmuştur (Miquilena- Colinea ve vd. 2011). Triglicerid (TG) sentezi Diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 'a bir açıl grubunun eklenmesi ile oluşur. DGAT1 özellikle bağırsaklarda ve adipoz dokuda yüksek oranda salgınır (Choi ve vd. 2015). DGAT2 öncelikle karaciğer ve adipoz dokuda salgınır. Yüksek yağ diyeti ile oluşmuş karaciğer yağlanması hedef DGAT2'nin inaktif edilmesidir. Bu nedenle TG sentezinde DGAT2'nin önemli bir yeri vardır (Choi ve vd. 2007).

Karaciğer hastalıklarında, serbest oksijen radikalleri aracılığıyla gelişen oksidatif stresin neden olduğu karaciğer hasarının, hastalığın ilerleyişi ve komplikasyonların gelişimi üzerine olan etkisi çözüm bekleyen önemli bir sorundur. Serbest oksijen radikallerinin karaciğerde albümin sentezi ve hemostaz üzerine olan etkileri başta olmak üzere, siroz gelişen olgularda asit oluşumu, endotoksemi, hepatorenal bozuklukların seyri, varis kanaması, sistemik hemodinamik bozukluklar ve hatta hepatosellüler kanser gelişimi gibi komplikasyonlardaki yeri tartışılmaya devam etmektedir (Bjornsson ve Angulo; 2007). Diabetes mellitus sıklıkla karaciğer yağlanması ile ilgili bir durumdur (Bekaert ve vd., 2016). Artan oksidatif stres karaciğer patolojisinin gelişmesinde muhtemelen önemli bir

rol oynamaktadır. Karbonlaştırılmış (carbonilated) proteinler, oksidatif stresin belirteci olarak kabul edilirler ve son bulgulara göre obezite ve tip 2 diabetes mellitusla bağlantılıdır. Obez ve tip 2 diabetes mellitus hastalarından alınan dört farklı dokuda, karbonlaştırılmış proteinlere rastlanmıştır. Bunlar karaciğer, plazma, platelet ve endotelyumdur. En fazla oranda da karaciğerde bulunmuştur (Alisi ve vd. 2009).

NAS modeli için yapılan hayvan çalışmaları sadece steatoz'un patogeneziyi açıklamakla kalmaz, çeşitli ajanların terapötik etkilerinin denenmesi için de önemli bilgiler verir. Ancak bu hayvan modellerinin insandaki NAS'un hem patofizyolojisi hem de histopatolojisiyle örtüşmesi gereklidir (Hebbard ve George, 2011). Günümüzde NAS için oluşturulmuş pek çok hayvan modeli ile ilgili çalışma bulunmaktadır. Ancak bunlar genellikle genetik modeller, beslenme modeli veya her ikisinin kombinasyonu olan hayvan modelleridir. Söz konusu bu modellerin hiçbiri insandaki steatoz'un tüm sürecini gösterememektedir. Bundan dolayı NAS'un patogenezi ve tedavisi hakkında bilgi verecek yeni modellerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Takahashi ve vd., 2012).

Stereoloji, morfometri'nin bir dalı olup biyolojik yapıların iki boyutlu kesitlerinden üç boyutlu veriler elde edilmesini sağlayan bir bilim dalıdır. Bu sayede doku ve hücrelerdeki değişiklikler hakkında çok daha kesin bilgiler edinilebilmektedir. Stereoloji'de kullanılan ve yapıların hacimlerini etkin bir şekilde hesaplamaya yarayan yöntemlerden birisi olan Cavalieri Hacim Hesaplama Yöntemiyle, görüntü analiz sistemleriyle birbirine paralel görüntüleri alınabilen 3 boyutlu olan her yapının tarafsız ve etkin bir biçimde hacminin hesaplanabileceği ve gerçeğe yakın bir değerlendirmenin yapılabileceği gösterilmiştir (Roberts vd., 2000). Özellikle makroskopik çalışmalarda dilimleme işlemi doğrudan bir bıçak ya da kesici alet/aletler yardımı ile yapılır. Alternatif olarak görüntüleme yöntemleri kullanılarak da ilgilenilen yapının baştan sona kadar kapsayıcı biçimde kesit görüntüleri alınarak, bu görüntüler üzerinden hacim hesaplamaları yapılmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987).

Çalışmamızda insandaki karaciğer yağlanması benzer bir modelini oluşturmak için kalıcı bir kanül yardımıyla v. portae hepatis'den yağ vererek sıçan karaciğerinde NAS deney modelinin oluşturulması amaçlanmıştır. Yerleştiren intraabdominal görüntüleme penceresi ile v. portae hepatis'den doğrudan verilen yağın ne kadar sürede ve nasıl biriktiğinin ortaya çıkarılmasının yanısıra karaciğerdeki değişikliklerin, yapılacak multifoton mikroskop görüntülemesiyle hayvan canlıyken izlenmesi planlanmıştır.

Bunun yanında steatoz oluştuktan sonra gerekli boyamalar yaparak önceden gösterilen makroanatomik seviyedeki değişikliklerden başka, karaciğer dokusunda ve ince yapısındaki değişikliklerin daha detaylı şekilde tespit edilmesi amaçlanmıştır. Yine, uygulanacak flüoresan boyalar ile yağ asitinin alınımı ve intraselüler sıvıdaki olası yağ birikiminin

gösterilmesi de bu çalışmanın hedefleri arasındadır. Daha sonra, karaciğer dokusundaki tüm yapısal değişikliklerin en son morfometrik yöntemlerle kantitatif olarak saptanması hedeflenmiştir.

Sonuç olarak, bu model sayesinde, henüz tam olarak tanımlanamamış olan NAS mekanizmasının açıklanmasını sağlayabilecek ya da açıklanmasına yardımcı olacak anahtar noktaların ortaya çıkarılabileceği ve ulaşılan sonuçların NAS'un oluşumunun önlenmesine ve hastalığın ilerlemesinin durdurulmasına ya da tedavisi için yapılan çalışmalara katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.



2.GENEL BİLGİLER

2. 1. Karaciğer Embriyolojisi

Embriyolojik yaşamın 4. haftasından itibaren karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları ön bağırsağın (prenteron) endoderminden, kaudal'den ventral'e doğru çıkıntı yaparak (diverticulum hepaticum) gelişmeye başlar. Diverticulum hepaticum, kalp taslağı ile mesenteron (orta bağırsak) arasında bulunan splanchnic mezodermal kitle olan septum transversum'a uzanır. Septum transversum'un bu bölümünden, diyafragma'nın centrum tendineum'u ile birlikte, bu bölgenin ventral mesenterium'u oluşur. Mesenterium'un ventral'inden karaciğerin visceral peritonu gelişmektedir. Septum transversum iki katlı tabaka olarak, karaciğerden karın ön duvarına uzanan ligamentum falciforme hepatis ve mide ile karaciğer arasında uzanan ligamentum hepatogastricum ile ligamentum hepatoduodenale'yi oluşturur. Karaciğerin fibroz dokusu, Kupffer hücreleri ve hematopoetik dokusu septum transversumdaki mesenkimden gelişirler (Dalkıç, 2016).

Diverticulum hepaticum, mesenterium ventralenin iki yaprağı arasında hızlıca büyürken ikiye ayrılır. Büyük parçası karaciğer taslağını (primordium hepaticum) oluşturur ve üst bölümünde yer alır. Alt bölümünden safra kesesi ve sap şeklindeki bölümünden ise ductus cysticus gelişir. Çoğalan endodermal hücreler, hepatik hücre kordonları ağını ve intra hepatik safra kanallarını döşeyen epitelyum örtüsünü meydana getirir. Hepatik kordonlar endotel ile döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak hepatik sinuzoid'lerin taslaklarını meydana getirirler (Başaklar, 2011).

Embriyolojik hayatın beşinci ve onuncu ayları arasında karaciğer hızlıca gelişerek abdomenin büyük bir kısmını doldurur. V. umbilicalis ile plasenta'dan gelen kan, karaciğerin fonksiyonel segmentasyonunun oluşması ve karaciğer gelişimi için önemlidir. Başlangıçta karaciğerin sağ ve sol lobları eşit iken kısa bir süre sonra sağ lob daha fazla büyür (Dalkıç, 2016).

Hematopoesis altıncı haftayla birlikte başlar ve karaciğer parlak kırmızı rengini alır. Karaciğerin 7. ve 9. haftaları arasındaki büyüklüğünden de hematopoesis sorumludur. Nitekim 9. haftaya kadar fetusun ağırlığının %10'unu karaciğer oluşturur (Başaklar, 2011).

Karaciğer hücrelerinin safra üretimi 12. haftayla birlikte başlar. Bu sırada ductus cysticus da oluşmuştur. Ductus cysticus, ductus hepaticus communis ile birleşerek ductus choledochus'u oluşturur. 13. haftada

ductus choledochus ile safra duodeunumun pars descendens'ine boşaltılır (Dalkıç, 2016).

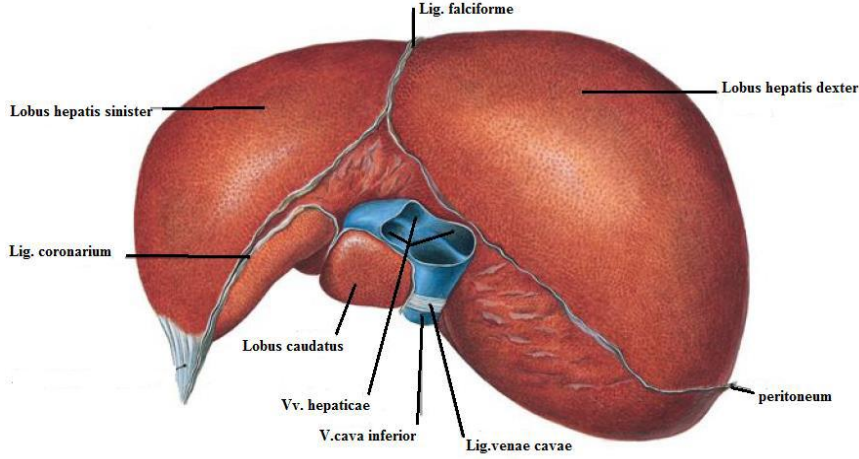
Hematopoetik aktivite gebeliğin son iki ayında azalır ve doğumda ancak birkaç hematopoetik hücre adacığı kalır. Bu dönemde karaciğerin ağırlığı vücut ağırlığının %5'i kadardır (Başaklar, 2011).

2.2. Karaciğer Anatomisi

Vücudun en büyük bezi ve organı olan karaciğer, karın boşluğunun üst kısmında regio hypochondriaca dextra'nın tümünü ve regio epigastrica'nın büyük bir kısmını doldurur. Regio hypogastrica sinistra da linea medioclavicularis sinistra'ya kadar uzanır. Karaciğerin boyutu yaşa, cinsiyete ve boy uzunluğuna göre farklılık gösterir. 25-30 cm uzunluğunda olan karaciğerin sağ tarafı ön-arka yönde 14-16 cm, yüksekliği ise 8 cm kadardır. Karaciğer erkeklerde 1400-1800 gr, kadınlarda ise 1200-1400 gr kadardır. Bununla beraber karaciğer 1000 -2500 gr arasında da olabilir. Dinlenmekte olan karaciğere toplam kan akışı yaklaşık 1500 ml / dak'dır (yani, kardiyak outputun %25-30'u). Bunun %70'i v. portae'da kalan kısmı a. hepatica'dan gelmektedir. Fetus'ta, karaciğerin vücut ağırlığına göre oranı, erişkinlerdekinden daha fazladır. Erişkinlerde vücut ağırlığının %2'si, çocuklarda ise %5'i kadardır. Bu nedenle, çocukların karnı biraz şiş gibi görülür. Karaciğer koyu kırmızı-kahve renkli görünümündedir. Elastikiyeti az olan bir organdır, ancak az da olsa esneklik özelliği bulunmaktadır. Damarlanması fazla olması nedeni ile karaciğer yaralanmaları büyük kanamalara sebep olmaktadır.

Karaciğerin facies diaphragmatica ve facies visceralis olmak üzere iki yüzü vardır (Arıncı ve Elhan; 2006; Elhan, 2016).

Facies diaphragmatica; Büyük olan bu yüz diafragma ile komşudur ve baktığı yönler göre, pars superior, pars anterior, pars posterior ve pars dextra olmak üzere 4 bölüme ayrılır (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1. Karaciğer diaphragmatic yüzden görünümü (Sobotta, 1990)

Pars superior: Facies diaphragmatica' nın üst bölümüdür. Bu yüz diafragma kubbesi aracılığı ile sağ tarafta plevra ve akciğerle, sol tarafta da pericardium ve kalp ile komşudur. Kalbin oturduğu yer hafif çukurdur ve burası impressio cardiaca olarak isimlendirilir. Üst yüzün büyük bölümü periton ile kaplıdır. Sadece arka kısmına yakın bölümünde periton bulunmaz. Diafragmaya gevşek bağ dokusu aracılığı ile yapışık olan bu saha, area nuda'nın önünde kalan küçük bir bölümdür. Area nuda, lig. Coronarium'un sınırladığı peritonsuz sahadır. Bu sahanın arkadaki büyük kısmı pars posterior'da, öndeki küçük kısmı ise pars superior' un arka bölümünde bulunur (Şekil 2.2.).

Pars anterior: Karaciğerin diyafragmatik yüzünün ön bölümüdür. Bu bölüm sağ tarafta 6.-10. kaburga ve kırıkdağları ile sol tarafta ise 7-8. kırıkdağ kaburgalarla komşudur. Ortada ise proc. xiphoideus ve hemen aşağısındaki karın ön duvarı bölümü ile komşuluk yapar. Pars anterior, lig. falciforme hepatis' in bulunduğu yer hariç, tamamen peritonla kaplıdır.

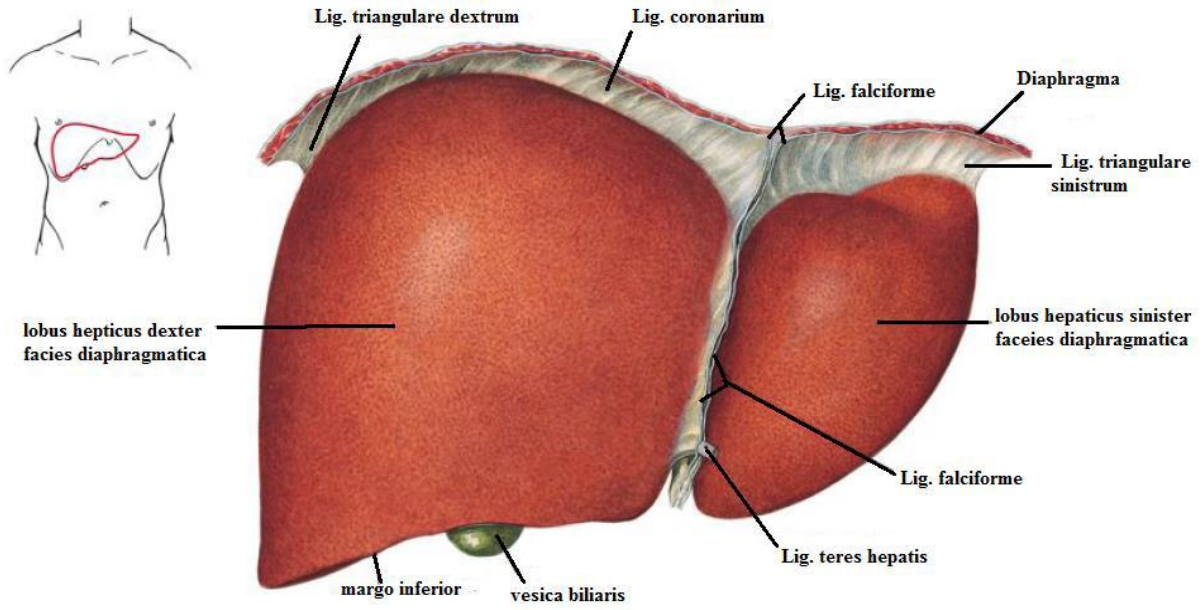
Pars posterior: Sağ tarafta geniş ve künt, sol tarafta ise dardır. Orta kısmı omur gövdeleri üzerine oturduğu için konkavdır. Bu konkavlığın biraz sağ tarafında v. cava inferior'un oturduğu sulcus venae cavae bulunur. Bu oluşun da 2-3 cm sol tarafında fissura ligamenti venosi denilen dar bir yarık bulunur. Bu yarıқта, embriyolojik bir yapı olan ductus venosus'un kapanması ile oluşan lig. venosum bulunur. Lobus caudatus, sulcus venae cavae ile fissura ligamenti venosi arasında yer alır. Sulcus venae cavae'nin biraz sağında ve kısmen de visseral yüzde, gl. suprarenalis'in oturduğu, impressio suprarenalis denilen çukurluk bulunur. Fissura ligamenti venosi'nin arka ucunun biraz solundaki çukura, oesophagus'u mideye bağlayan bölümü oturur. Buraya impressio oesophagea denilir. Pars posterior'un büyük kısmı peritonsuzdur. Lig. coronarium'un içinde kalan bu sahaya area nuda denilir. Bu saha gevşek bağ dokusu aracılığı ile diyafragmaya tutunur. Area nuda'nın ön taraftaki küçük bir bölümü pars superior'da bulunur.

Pars dextra: Diyafragmatik yüzün peritonla örtülü sağ kısmıdır. Bu bölüm diyafragma aracılığı ile kaburgalarla komşudur.

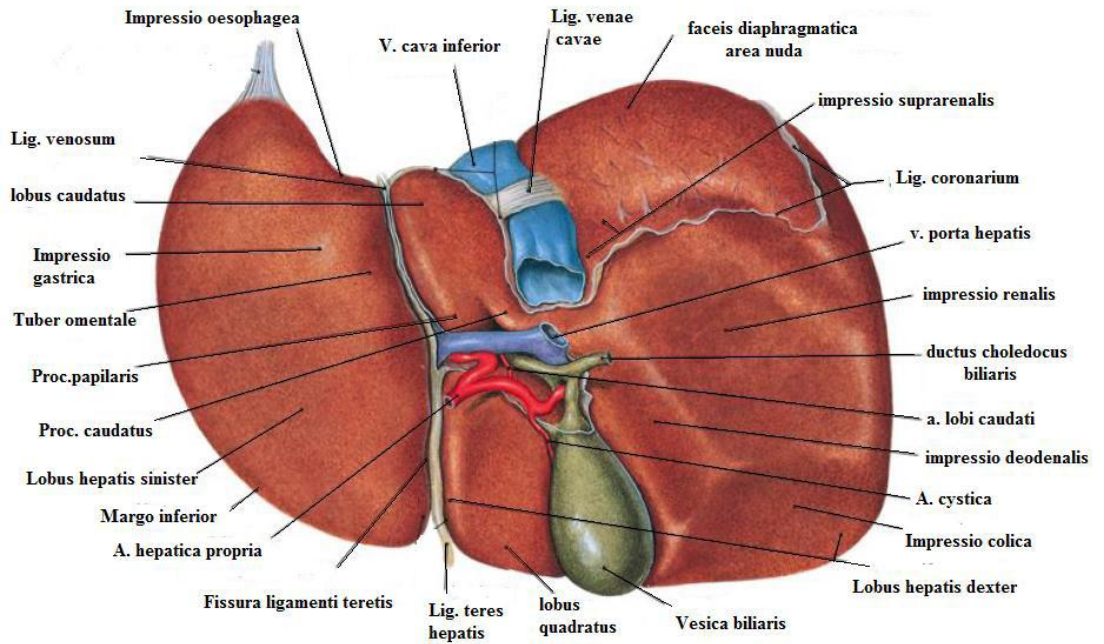
Facies dexter üç eşit parçaya bölündüğünde 1/3 üst kısmı, 7.ve 8. kosta aralarında bulunur. 1/3 orta kısmı, 9.ve 10. kosta ile ve recessus costodiaphragmatica ile komşudur. 1/3 alt kısmı ise thorax duvarı ile direkt temastadır.

Facies visceralis: Karaciğerin karın organları ile komşu olan konkav alt yüzüne facies visceralis denilir. Bu yüz arkaya, aşağıya ve biraz da sol tarafa bakar. Tespit edilerek çıkarılmış karaciğerin visceral yüzünde, komşu olduğu organların izleri bulunur. Bu yüzün ortalarında porta hepatis denilen büyük bir geçit bulunur. Porta hepatis'ten vena porta hepatis ve etrafındaki sinir ağı ile birlikte arteria hepatica propria'nın dalları girer, safra kanalları ile lenf damarları da çıkarlar. Porta hepatis'in her iki tarafında arka kenardan ön kenara doğru sagittal yönde uzanan iki oluk bulunur. Geniş bir oluk şeklinde olan sağ taraftaki oluğa sulcus sagittalis dextra, ince bir yarık şeklinde olan sol taraftaki yarığa ise fissura sagittalis sinistra denilir. Sulcus sagittalis dextra'nın ön yarısına fossa vesica biliaris, arka yarısına ise sulcus vena cava denilir. Fissura sagittalis sinistra'nın ligamentum teres hepatis'in oturduğu ön yarısına fissura ligamenti teretis, lig. venosum'un oturduğu arka yarısına ise fissura ligamenti venosi denilir. Bu iki sagittal oluğu ortada porta hepatis birleştirir, böylece H harfi şeklinde bir oluşum ortaya çıkar. Visseral yüzün porta hepatis, fossa vesica biliaris, sulcus vena cava, fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venosi hariç her tarafı peritonla kaplıdır.

Sulcus sagittalis dextra'nın sağ tarafında sağ lob, sulcus sagittalis sinistra'nın sol tarafında sol lob bulunurken bu iki oluk arasında bulunan ve porta hepatis önünde kalan kısma lobus quadratus, arkasında kalan kısma lobus caudatus denilir (Şekil 2.3.). Sağ lobun visseral yüzü flexura colica dextra, sağ böbrek, sağ sürrenal bez ve duodenumun ikinci bölümü ile komşudur. Sol lobun alt yüzü ise mide ile komşudur ve bu yüzün lobus caudatus'a yakın bölümünde bulunan çıkıntılı kısmına da tuber omentale denilmektedir. Tuber omentale, omentum minus'un önündeki curvatura gastrica minor'a oturur. Lobus caudatus'un vena cava inferior'a bakan yüzünde processus caudatus adı verilen konveksite bulunmaktadır (Elhan, 2016; Standring, 2016).



Şekil 2. 2. Karaciğerin önden görünümü (Sobotta, 1990)



Şekil 2. 3. Karaciğerin visceral yüzden görünümü (Sobotta, 1990)

2.2.1. Karaciğerin ligamentleri

Karaciğerin üzerini örten periton, karaciğerden diaphragma üzerine geçtiği yerlerde, peritondan oluşan ligamentler oluşturur.

Bu ligamentler;

a- Ligamentum falciforme hepatis: Karaciğerin ön yüzünde yer alır. Periton tarafından oluşturulmaz. Karaciğerin dönme hareketlerini engeller

ve karaciğeri karın ön duvarına bağlar. El, diaphragma ve karaciğerin ön yüzü arasına sokulduğunda bu ligament nedeniyle sağdan sola ya da soldan sağa geçiş yapamayacaktır.

b- Ligamentum coronarium hepatis: Karaciğerin diaphragmatic yüzünden diaphragma'ya atladığı yerlerde meydana gelen plikalardır. Koroner bağların arasında kalan kısım (pars affixa) bağ dokusu aracılığı ile diaphragma'ya tespit edilmiştir.

c- Ligamentum triangulare dextrum ve ligamentum triangulare sinistrum: Koroner bağların uç kısımlarının birleşmesi ile meydana gelen üçgen şeklinde bağlardır.

d-Ligamentum teres hepatis: Embriyonal hayatta göbek bağının içinde yer alan anneden fetüsa arter kanını getiren vena umbilicalis'in doğumdan sonra oblitere olması ile meydana gelmektedir.

e- Omentum minus: Midenin curvatura minor'unu duodenum, ve karaciğer'in visceral yüzü arasında birbirine bağlayan peritonun iki yaprağının birleşmesi ile oluşmuş bir yapıdır (Standring, 2016).

2.2.2. Karaciğeri Yerinde Tutan Faktörler

- 1) İntraabdominal pozitif basınç
- 2) Periton bağları (lig. falciforme hepatis, lig. coronarium, lig triangulare dextrum ve sinistrum
- 3) Altta bulunan karın içi organlarının appozisyon durumu
- 4) V. cava inferior
- 5) Pars affixa gibi etmenler karaciğeri pozisyonunu korumasını sağlarlar (Elhan vd., 2016).

2.2.3. Karaciğerin segmentasyonu

2.2.3.1. Karaciğerin segmentleri

Karaciğer a. hepatica propria, v. portae ve ductus hepaticus'ların dallarına göre segmentlere ayrılır. Bir segment içinde, arteria hepatica propria, v. portae hepatis ile safra kanallarının segmenter dalları bulunur. Bir segmentte bulunan arter, ven ve safra yollarına ait kanalların komşu segmentlerle anastomozları yoktur veya çok azdır. Karaciğerin segmental dağılımına venae hepaticalar uyum göstermemektedir. Anatomik olarak karaciğerde 4 segment bulunmaktadır.

- 1- Segmentum anterius

- 2- Segmentum posterius
- 3- Segmentum mediale
- 4- Segmentum laterale

2.2.3.2. Karaciğerin subsegmentleri:

Karaciğerin her segmenti üst ve alt olmak üzere iki subsegmente ayrılır.

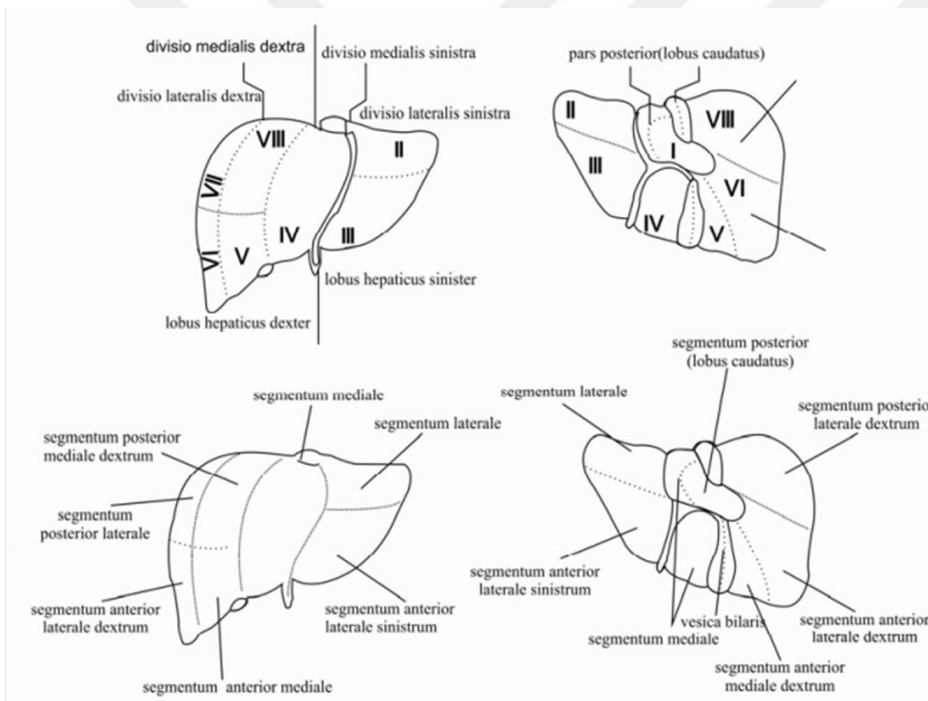
- 1- Segmentum anterius superius
- 2- Segmentum anterius inferius
- 3- Segmentum posterius superius
- 4- Segmentum posterius inferius
- 5- Segmentum mediale superius
- 6- Segmentum mediale inferius
- 7- Segmentum laterale superius
- 8- Segmentum laterale inferius

2.2.3.3. Karaciğerin fonksiyonel segmentasyonu:

- A. Pars hepatis dexter (Şekil 2.4.)
 1. Divisio medialis dexter
 - a- Segmentum anterius mediale dextrum; segmentum V
 - b- Segmentum posterius mediale dextrum; segmentum VIII
 2. Divisio lateralis dexter
 - a- Segmentum anterius laterale dextrum; segmentum VI
 - b- Segmentum posterius laterale dextrum; segmentum VII
- B. Pars hepatis sinister
 1. Divisio lateralis sinister
 - a- Segmentum posterius laterale sinister; segmentum II
 - b- Segmentum anterius laterale sinister; segmentum III
 2. Divisio medialis sinister
 - a- Segmentum anterius mediale sinister; segmentum IV
- C. Pars posterior hepatis; lobus caudatus
 - a- Segmentum posterius; lobus caudatus segmentum I

Karaciğerin makroskopik dış yapısında görülen sağ ve sol lobların sınırları değişiklik gösterir. Visseral yüzde, sağ ve sol lobların sınırını sulcus sagittalis dexter oluşturur. Safra kesesinden VCI'un sol kenarına doğru uzanan bir düzlem karaciğeri sağ ve sol loblara ayırmaktadır. Orta hepatic venin bulunduğu çizgi Cantlie çizgisine uyar (ana fissür). Cantlie çizgisi karaciğeri iki ana loba ayırır. Sağ karaciğer lobu sağ hepatic venin bulunduğu portal fissür ile anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) sektörlere ayrılır. Diaphragmatic yüzde ise belli bir oluşum yoktur. Ancak karaciğerin margo inferior'da bulunan incisura vesicalis'in sol tarafından başlayarak yukarıya ve sonra arkaya doğru uzanan sagittal bir çizgi iki lobu birbirinden ayırır. Bu çizginin sağında sağ lob, solunda ise sol lob bulunmaktadır. Karaciğerin sağ lobu, ön ve arkada yer alan segmentum anterius ve segmentum posterius olmak üzere iki segmente

ayrılır. Bu iki segment birbirinden, diaphragmatic yüzde incisura vesicalis'in sağından başlayıp yukarıya ve arkaya doğru uzanan sagittal bir çizgi ile ayrılır. Bu çizginin ön kenardan başlayan ve visseral yüzde porta hepatis'e kadar uzanan kısmı ise visseral yüzde ön ve arka segmentleri birbirinden ayırır. Karaciğerin sol lobu, medialde ve lateralde olmak üzere iki segmente ayrılır. Bu karaciğer bölümlerine segmentum mediale ve segmentum laterale denir. Segmentum laterale, ligamentum falciforme hepatis ile visseral yüzde fissura sagittalis sinistra'nın sol tarafında kalan karaciğer bölümüdür. Visseral yüzde fissura sagittalis sinistra'nın sağ tarafında olup sağ ve sol lobu diaphragmatic yüzde birbirinden ayıran çizgiye kadar uzanan karaciğer bölümüne ise segmentum mediale denir. Visseral yüzde fossa vesicae biliaris, segmentum anterius'a, lobus quadratus ise segmentum mediale'ye aittir. Lobus caudatus'un sağ ve sol loblara ait segmentlerin arasında ortak bir yeri vardır. Bu yapıya proc. uncinatus adı verilir. Yalnız birisine dahil etmek mümkün değildir (Elhan vd., 2016; Standring, 2016).



Şekil 2.4. Karaciğerin segmentleri (Kliniğe Yönelik Anatomi Elhan 6.Basım)

2.2.4. Karaciğerin Damar ve Sinirleri

2.2.4.1. Karaciğerin arterleri

Karaciğeri a. hepatica propria besler. Bu arter truncus coeliacus'un bir dalı olan a. hepatica communis'in dalıdır. Lig. hepatoduodenale içerisinde v. portae hepatis ve ductus choledochus ile birlikte uzanan bu arter porta hepatis'e gelince ramus dexter ve ramus sinister olmak üzere iki dala

ayrılır. V. portae hepatis'in dalları ile birlikte karaciğerde dağılır. A. hepatica propria'nın dalları arasında anastomoz yoktur (Şekil 2. 5).

2.2.4.2. Karaciğerin venleri

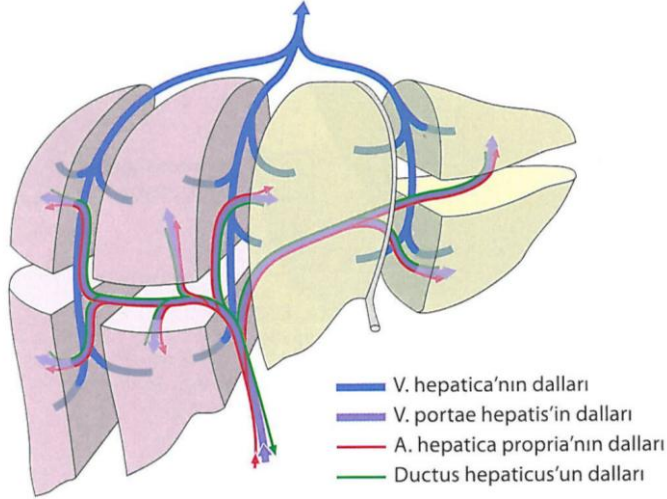
V. portae hepatis ve venae (vv.) hepatica olmak üzere iki grup veni vardır. V. portae hepatis, v. mesenterica superior ve v. lienalis'in 2. lumbal vertebra seviyesinde birleşmesiyle oluşur. A. hepatica propria ile birlikte lig. hepatoduodenale içinde uzanarak porta hepatis'e gelir. Karaciğerde a. hepatica propria ile birlikte uzanır ve sonunda, beraber seyrettiği arterle birlikte v. centralis'e açılır. V. centralis'ler birleşerek v. hepatica'ları oluşturur. Bu venler porta hepatis'ten giren kanları v. cava inferior'a taşırlar (Şekil 6).

2.2.4.3. Karaciğerin Sinirleri

Sempatikleri nn. splanchnici'den, parasempatikleri ise sağ ve sol n. vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus'u oluştururlar. Buradan çıkan lifler a. hepatica propria ve v. portae hepatis etrafında plexus hepaticus adı altında karaciğere gider. Hepatik damarlarda sadece sempatik liflerin bulunduğu, buna karşılık safra kanalları ve safra kesesinde ise her ikisinin de bulunduğu belirtilmektedir. Sensitif lifler, sempatik liflerle birlikte uzanır ve 8.-11. torakal medulla spinalis segmentlerine gider. Bu nedenle karaciğerin ağrıları 10. interkostal sinirin dağılma alanı ve karnın yukarı bölümünde hissedilir (akseden ağrı). Karaciğeri örten peritonda sağ n. phrenicus'un dalları dağılır. Bu nedenle karaciğer peritonundan kaynaklanan ağrılar, sağ omuzda da hissedilebilir.

2.2.4.4. Lenf Drenajı

Karaciğerin derinlerinden gelen lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e gelerek buradaki nodi lymphatici hepatici'ye açılırlar. Bunların bir kısmı safra kesesinin boynunun etrafındaki nodus cysticus ile foramen bursa omentalis çevresindeki lenf nodülleri olan nodus foraminalis'e açılır. Nodi lymphatici hepatici'den çıkan lenf damarları da nodi lymphatici coeliaci'den geçerek ductus thoracicus'a açılır. Derin lenf damarlarının bir kısmı v. hepatica'ları takip ederek diaphragmadaki foramen vena cava'ya gelirler. Bu lenf damarları nodi lymphatica phrenici superiores'e, buradan da nodi lymphatici parasternales'e açılır. Karaciğerin yüzeysel lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e giden derin lenf damarları ile birleşir. Area nuda'dan kaynaklanan lenf damarları ise diaphragmadan geçerek nodi lymphatici phrenici superiores, nodi lymphatici mediastinales anteriores ve posteriores'lere ulaşırlar. Buradan çıkan lenf damarları ise truncus lymphaticus dexter ve ductus thoracicus'a açılırlar (Arıncı ve Elhan; 2006; Elhan vd., 2016).



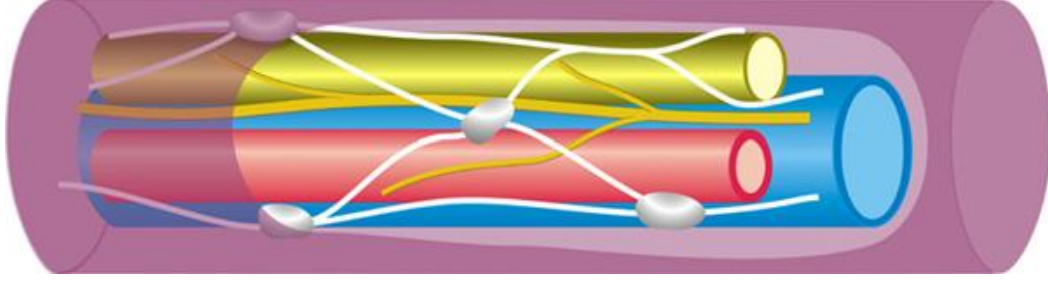
Şekil 2. 5. Karaciğerin arter ve venleri (Prometheus, 2009)

2.3. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer dokusunun %20'si bağ doku, %80'i ise parankimal dokudur. Karaciğeri dışarıdan, kolajen ve elastik lifler içeren capsula fibrosa, önce loblarına daha sonra segmentlerine ayırarak sarar. Bu kapsül hilumdan içeri girerek karaciğerin segmentasyonunu oluşturur ve karaciğeri poligonal görünümlü küçük lobüllere ayırır. Bağ dokusu içinde damarlar, sinirler ve safra kanalları ilerler. Karaciğer lobülleri karaciğerin yapısal ve fonksiyonel birimleridir. Karaciğer parenkiminin düzenlenmesiyle ilgili üç farklı karaciğer lobülü tanımlanmıştır; klasik karaciğer lobülü, portal lobülü ve karaciğer acinusu. Ancak en sık kullanılanı klasik karaciğer lobülüdür (Demir; 2006, Müftüoğlu, 2009). (Şekil 7).

2.3.1. Klasik karaciğer lobülü:

Klasik hepatik lobül, 1 mm çapında ve 2 mm uzunluğunda, ortada v. centralis'in bulunduğu, kordonların arasında sinuzoid'lerin olduğu altı kenarlı prizma şeklindeki yapıdır. Lobülün ortasında v. centralis bulunur. Altıgen lobüllerin açılı oluşturan köşelerinde; portal venin ve hepatik arterin birer dalı ile bir safra kanalı, aynı zamanda lenf damarlarını ve sinirleri içeren portal alanlar görülür bu yapıya portal pentad denir (Karaaltıncaba vd., 2007) (Şekil 2.6.). Burada bulunan aralığa spatium interlobulare ya da Kiernan aralığı adı verilir. Kiernan aralığındaki lobül köşelerindeki nörovasküler yapıları çevreleyen Glisson kapsülü ile hücre membranları arasında kalan aralığa Mall aralığı (limited zone) denir. Bu aralıktaki sınırlandırılmış duvar görünümüne ise 'limited plate' denilmektedir. Karaciğer lenfasının kaynaklandığı yerlerden birinin Mall aralığı olduğu da düşünülmektedir (Standring, 2016).



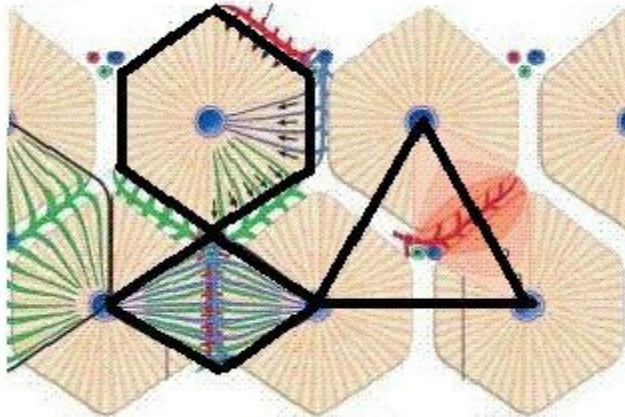
Şekil 2.6. Portal alan yapıları Mavi, ven; kırmızı, arter; sarı, sinir; yeşil, ductuli biliferi; beyaz, lenf damarı (Karaaltıncaba vd., 2007)

2.3.2. Portal Lobül:

Ortada portal alanın olduğu üç adet v. centralis'in arasında bulunan üçgen şekilli alandır. Portal lobülde safra salgılanması baz alınır. Burada safra önce hepatositler arasındaki safra kanaliküllerine ardından kolanjiyollere boşaltılır. Portal alanın yakınında Hering kanalı ile birleşerek portal alandaki üç elamanından biri olan canaliculus (ductuli) biliferi ile birleşir (Şekil 7).

2.3.3. Portal asinus:

Karaciğer asinusleri birbirine komşu iki lobülün, interlobüler venüllerin terminal dallarından beslenen kısımlarından oluşurlar. Asinüslerin ortasında portal ven dalından başka bir arter dalı ve safra kanalı da bulunur. Asinüslerin orta kısmında yer alan damarlara yakın olan hücreler en çok kanlanan hücrelerdir. Buna karşılık asinüslerin dış kısımlarında, diğer bir deyişle vena centralis'lere yakın olan hücreler ise en az kanlanan hücrelerdir. Bu fonksiyonel bölümler, çeşitli ajan ve hastalıkların karaciğer parankiminde meydana getirdikleri farklı harabiyetin açıklanması yönünden oldukça önemlidir (Aksoy; 95) (Şekil 2. 7).



Şekil 2. 7. Karaciğerin lobül modelleri

2.3.1. Karaciğer zonları:

Bir fonksiyonel üniteyi meydana getiren zon hücreleri farklı genotip ve fenotipe sahiptirler. Portal alandan uzaklaştıkça, yani zon 2 ve 3 de, hücreler farklı bir enzimatik fenotipe sahiptirler. Hipoksi ve toksinlere karşı daha farklı cevap verirler.

Birinci zon:

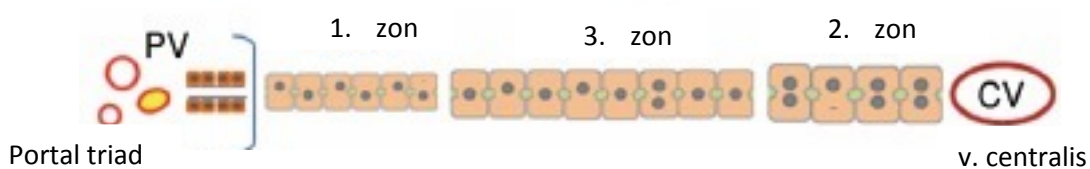
Portal alandaki kandan oksijeni, glikojeni ve diğer besin maddelerini alan periferik hücrelerdir. Glikojen en çok bu hücrelerde depolanır aynı zamanda plazma proteinlerinin üretimi en fazla burada olur. Bu zon klasik karaciğer lobülünün periferik kısmına denk gelir (Şekil 2.8). Hepatositlerin en genç hücreleridir. Karaciğer rejenerasyonu lobülün periferinden başladığı için burada bulunan hücreler en genç hücreler olarak tarif edilir. Metabolizma çok hızlı olduğu için çok fazla oksijen ihtiyaçları vardır. Kandaki zararlı maddelerden ilk buradaki hücreler etkilenir. Viral hepatitlerde en fazla etkilenen hücrelerdir. Bu hücreler zon 3 olduğunda sinüzoid endotelinin yanında iki sütun halinde bulunan bu hücrelerden bir sütunu kendini apoptoz (programlı ölüm) yoluyla yok eder.

İkinci zon:

Ara hücrelerdir. Bütün özellikleriyle Zon 1 ve zon 3 hücrelerinin ara özelliklerine sahiptirler (Şekil 2.8).

Üçüncü zon (santral zon):

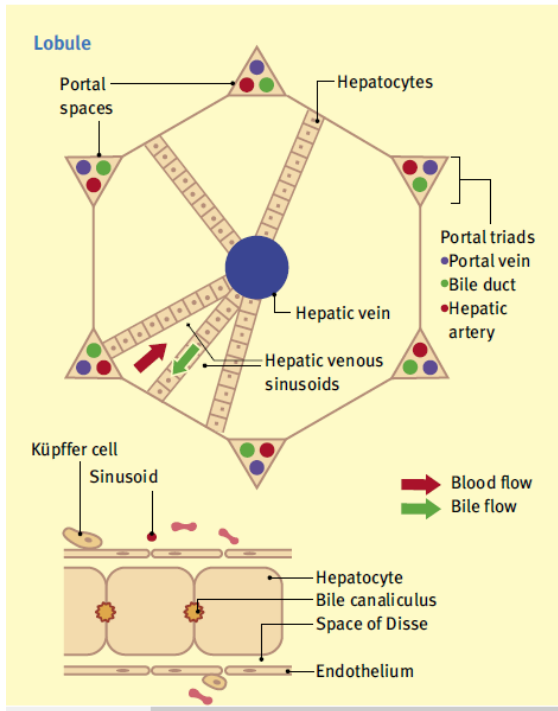
V. centralisin etrafında yer alan en yaşlı, ama çok önemli görevleri olan hücrelerdir. En önemli görevlerinden birisi sağlıklı karaciğerde spatium intercellularedeki safranın v. centralis'e akmasını engellemektir. Sitokrom p450 enzimi en fazla bu hücrelerde bulunduğundan xenobiyotik metabolizmanın ve detoksifikasyonun en fazla olduğu hücrelerdir (Şekil 2.8). Metabolizmaları yavaş olduğundan oksijene az ihtiyaç duyarlar. Karaciğerde fizyolojik ve patolojik yağ birikimi bu zondaki hücrelerde başlar. Beslenme yetersizliği gibi durumlarda ise yağ depolanması periferik zonda daha fazla olur (Arias vd., 2009, Standring, 2016).



Şekil 2. 8. Karaciğer zonları (Lecluyse vd., 2012)

2.3.2. Karaciğerde Bulunan Parankimal Hücreler:

Hepatositler: Lobül periferinden lobülün ortasına doğru ışınal tarzda yerleşmiş hücrelerdir. Kordonlar şeklinde yerleştikleri için Hepatik plak (Hepatik kord) veya devamlılık gösteren hücreler (continious cell, Muralium) olarak adlandırılırlar. Çapları 12-30 µm olan bu hücrelerin ömür uzunlukları yaklaşık beş aydır. Sindirim sistemi ile ilişkili diğer hücreler ile kıyaslandığında nispeten daha uzun ömürlü hücreler olarak kabul edilirler. Karaciğerin parankimal hücrelerinin yaklaşık %80'ini oluştururlar. Bir hepatositin altı tane yüzeyi vardır. Bu yüzlerden bir tanesi Disse aralığına, bir tanesi safra kanalına diğer yüzeyler ise komşu hepatositlere bakar. Safra kanalı ve Disse aralığına bakan yüzleri çok sayıda düzensiz şekil ve büyüklükte mikrovilluslardan oluşmuş olup alan olarak diğer dört yüzeyin her birinden altı kat daha geniştir. Bu mikrovillus yapıları, yapıları nedeniyle konjesyon durumunda artan lenfa ve safra basıncına karşı koyabilirler. Diğer dört yüzeyin her biri tight-junctionlar (sıkı bağlantı) ile komşu hepatositlere bağlanırlar. Kolestaz ve diğer karaciğer hastalıkları durumunda bu hücreler büyüdükleri için bu sıkı bağlantılar hasarlanır ve hücreler lizise uğrarlar. Sonuçta safra ve lenfa karışmaya başlar. İşte sarılığın (ichterizm) ilk başlangıcının patogenezi bu şekilde açıklanmaktadır (Arias vd., 2009, Standring, 2016). (Şekil 2. 9)



Şekil 2. 9: Karaciğerin histolojik yapıları (Gündüz, 2006)

Hepatositler büyük, yuvarlak ve merkezi nükleuslara sahiptir. Bazen çift çekirdekli olabilirler. Bazende poliploidi gözlenir.

Granüllü ER: Hepatosit sitoplazması genelde asidofiliktir. Granüllü ER kesecikleri ve serbest ribozomlar ise sitoplazma içinde kümeler oluşturan bazofilik cisimcikler şeklinde gözlenir. Bunların polizom ve keseciklerinde: Kandan alınan çeşitli amino asitler işlenerek albumin, fibrinojen, protrombin, lipoproteinler gibi birçok protein sentezlenir. Granüllü ER' da sentezlenen bu proteinler genellikle sitoplazmada depo edilmezler, direkt olarak kan dolaşımına verilirler. Benzer şekilde, vücudun değişik hücre ve dokularında protein metabolizması sonucu oluşan ve vücut için zararlı olan protein atıkları kan yoluyla karaciğere ulaştığında, hepatositler tarafından birleştirilerek (aminoasit deaminasyonu) üre'ye dönüştürülür ve böbreklerden süzülme üzere tekrar kana verilir. Bunlar karaciğerin endokrin fonksiyonuna işaret eden örneklerdir.

Granülsüz ER: Sitoplazma içinde genellikle dağınık olarak bulunan granülsüz ER, hücrenin fizyolojik durumuna bağlı olarak, granüllü ER ve Golgi aygıtı arasında da sıklıkla gözlenir. Hepatositlerdeki granülsüz ER; sık alkol ve ilaç (phenobarbital, anabolic steroid ve progesteron) kullanımında, kanser tedavisinde kullanılan bazı kemoterapötik ilaçların alımında önemli miktarlarda artış gösterir. Granülsüz ER; karbontetraklorür (CCI4) gibi bazı toksik maddelerin etkisinde daha hızlı bir metabolik aktivite gösterir. Granülsüz ER'da gerçekleştirilen önemli işlemler (aşağıda anılan işlemler başlıca granülsüz ER'da gerçekleştirilmekle birlikte bazılarında granüllü ER'unda katkısı olduğu unutulmamalıdır (Demir, 2006; Arias vd., 2009, Standring, 2016).

- Çeşitli ilaçların ve maddelerin vücuttan atılmadan önce, zehirlenmeyi önlemek için oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon işlemlerinden geçirilerek etkisizleştirilmelerini sağlayan enzimler granülsüz ER'da bulunur.

- Suda çözünmeyen toksik bilirubin'i glukuronil transferaz enzimi aracılığıyla suda çözünen ve toksik olmayan bilirubin glukuronid'e dönüştürür. Bu bileşik büyük oranda hepatositler tarafından safra kanalcıkları içine atılır, bir kısmında böbreklerden süzülür. Bu olayda aksama görülürse sarılıkla karakterize çeşitli hastalıklar gelişir. Yenidoğanlarda sıkça görülen sarılığın (neonatal hiperbilirubinemi) nedeni de hepatositlerde granülsüz ER keseciklerinin henüz yeteri kadar gelişmemiş olmasının sonucudur.

- Kandan alınan glukoz granülsüz ER'da glikojene dönüştürüldükten sonra sitoplazmada depo edilir (depo glikojen PAS boyaması ile pozitif boyanır). Depo glikojen granülsüz ER keseciklerine yakın bir konumda bulunur, kan glukoz düzeyi normalin altına düştüğünde glikojen tekrar granülsüz ER tarafından glukozla dönüştürülerek kana verilir ve enerji gereksinimleri için kullanılır.

- Hepatositlerde yağ da sentezlenir (farklı boyutlardaki yağ damlacıkları uygun tespitlerden sonra Sudan veya toluidine boyaması ile iyi gösterilir). Vena porta yoluyla karaciğere gelen yağ asitleri (kompleks lipidler olan şilomikronlar lenf yoluyla taşınır) sinuzoidlerden Disse aralığına, oradan da pinositozla hepatosit içine alındıktan sonra granülsüz ER içinde esterleştirilerek trigliseridlere dönüştürülür, daha sonra granüllü ve granülsüz ER iş birliğiyle lipoproteinler oluşturulur, Golgi'de yoğunlaştırılan ve ekzositozla hücreden atılan bu lipoproteinler kan veya lenf yoluyla yağ dokularına taşınarak orada depo edilirler. Memelilerin aksine balıklarda karaciğer aynı zamanda yağ depo eden organ özelliğindedir, balık yağı olarak hekimlikte kullanılan preparat balık karaciğerinden elde edilir.

- Hücre membranının ana elemanı olan ve diğer birçok steroidin prekürsörü olan kolesterol biyosenteziyle ilgili enzimler de granülsüz ER da bulunur.

- Golgi aygıtı iş birliğiyle sentezlenen çok küçük yoğunluklu lipoproteinlerin (very low density lipoprotein, VLDL) de bir elemanıdır.

- Lipidlerin ve aminoasitlerin glukoneogenez adı verilen karmaşık bir enzimatik olayla glukozu dönüştürülmesi (granülsüz ve granüllü ER birlikte).

- Deiyodinasyon yapar, tiroksin (T4) ve triiodotronin (T3)'den iyodun uzaklaştırılması (granülsüz ve granüllü ER birlikte).

- Alkol metabolizmasında görev yapar. Alkol midede emilimi takiben karaciğere gelir, hepatositlerde asetaldehit ve asetata metabolize olur (1.yol; alkol dehidrogenaz (ADH), 2. yol; mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS)).

- Safra: Karaciğerin ekzokrin salgısı olarak, hepatositlerde granülsüz ER'da sentezlenen en önemli ürün ise safra'dır (yetişkin bir insanda günde yaklaşık bir litre salgılanır). Safra yapımı ve salınımı bağırsaklardaki enteroendokrin hücreler tarafından salgılanan kolesistokinin, gastrin, motilin gibi hormonlar ve otonom sinirler tarafından regüle edilir. Hepatositler kandan aldığı su, elektrolitler (Na ve Cl), safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol ve bilirubin'i birkaç işlemden geçirdikten sonra safraya dönüştürür.

• Duodenumda yağların emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir işlem yaparak bunların daha sonra pancreas enzimi olan lipaz tarafından sindirilmelerini ve emilmelerini sağlar.

• Kolesterol, fosfolipidler, safra tuzları, konjuge bilirubin ve elektrolitlerin atılımını sağlarlar.

- İlaçların ve ağır metallerin metabolik atıklarının atılmasını sağlarlar.
- IgA'yı bağırsak mukozasına taşırlar (enterohepatik sirkülasyon).

Safra salgısı sitolitik etkili bir maddedir, bu nedenle kan dolaşımından uzak tutulur. İki hepatosit'in birbirine dönük yüzleri arasında çok dar tubuler bir aralık bulunur, safra kanalcıkları sisteminin başlangıcını oluşturan bu 0.5-1 mikronmetre çapındaki kanallara safra kanalcıkları (bile canaliculus, kolanjioller) denir. Bu kanalcıkların çapı sekresyon durumuna göre daha da genişleyebilir. Hepatositlerin hücre membranı bu bölgede ATP'ase etkisi gösterir ve kapillarlarının lumenine uzanan çok sayıda mikrovilluslara sahiptir. Safra salgısının etkisinden korunmak için kanalcıkları oluşturan membranlar özel bir glikokaliks ile kaplanmıştır. Kanalcığı oluşturmak üzere karşı karşıya gelen hepatosit membranları birbirleriyle zonula okludens ve dezmozom yapısında bağlantılarla sıkıca birbirlerine bağlanırlar, böylece safra salgısının intersellüler aralığa ve oradan da Disse aralığına ve sinuzoidlere geçmesi önlenmiştir. Bu kanalcıklara yakın olan sitoplazma kısımlarında bol miktarda aktin filamanları mevcuttur. Safra kanalcıklarındaki akış yönü lobcuk periferine doğrudur, tam periferde bunlar küçük safra kanalları'yla (bile ductules, Herring kanallar) devam ederler, bunların duvarları önce tek katlı yassı daha sonraları kübik, soluk renkli epitellerle çevrilidir. Bunlar kısa bir mesafe seyrettikten sonra Kiernan aralığındaki safra kanallarına (bile ducts, ductus biliferi) açılırlar. Ductus biliferiler giderek birbirleriyle birleşirler ve nihayet sağ ve sol hepatik kanalları (duktus hepaticus dekster ve sinister) oluşturarak porta hepatisten karaciğeri terkettikten sonra birleşerek duktus hepaticus'u yaparlar. Duktus hepaticus safra kesesinden gelen duktus sistikus ile birleştikten sonra duktus koledokus adını alır ve pankreas'ın kanalıyla birleşerek duodenumun başlangıç kısmına açılır. Safra kanalları başlangıçta tek katlı kübik, daha sonra tek katlı prizmatik bir lamina epitelyalis ile bunun altında ince lamina propriya ve çok ince bir düz kas tabakasıyla sarılmıştır). Hepatosit sitoplazması Golgi aygıtı, lizozom, peroksizom, mitokondriyon gibi organellerce de oldukça zengindir (Demir, 2006; Arias vd., 2009, Standring, 2016).

Golgi aygıtı: TEM ile incelemelerde rutin inceleme metodlarına göre daha belirgin şekilde gözlenirler, irili ufaklı, üç-beşi birarada bulunan 50 kadar kesecik, vezikül, vakuoller halindedirler. Bir kısmı safra kanalcıklarına yakın konumdadırlar ki, muhtemelen ekzokrin safra salgınımıyla ilişkilidirler. Diğer bazı Golgi kesecik ve vezikülleri ise sinuzoidal yüze yakın konumda bulunurlar, bunlar ise VLDL (very low density lipoproteins), glikoproteinleri, plasma proteinleri ve diğer lipoproteinleri sentezleyip endokrin salgı olarak Disse aralıkları aracılığıyla dolaşıma verirler (bu grubun içinde, buraya yakın granülsüz ve granüllü ER keseciklerinin genişlemiş kısımları içinde de gözlenen 25-80 nm çapında yoğun granüller salgı ürünü bulunur). Golgi aygıtı ayrıca lizozomların ve peroksizomların oluşturulması gibi işlerde görev yapar.

Lizozomlar; golgi aygıtına ve safra kanalcıklarına yakın konumdadırlar. Normal lizozomik enzimlerin yanısıra, TEM incelemelerinde pigment granülleri (lipofuscin), kısmen sindirilmiş sitoplazmik organeller ve myelin figürleri de içerdikleri gözlenir. Kansızlık, viral hepatitler, basit safra kanalı tıkanmalarına kadar değişen çeşitli patolojik durumlarda hepatositlerdeki lizozomların sayısında artış görülür. Başlıca fonksiyonları hücre içi yaşlı organellerin yıkımı ve dönüşümüdür, demirin geri dönüşümü için demirli bileşiklerin yıkımında çok önemlidir, depo glikojenin turnover'ı için de önemlidir.

Peroksizomlar; hepatositlerde bol (200-300 adet) bulunurlar (diğer bol buldukları bir hücre de böbrek hücreleridir), lizozomlardan daha küçüktürler. Hücrede oksijenin bulunduğu ana yerlerden biridir, bu nedenle mitokondriyonlara benzer fonksiyon yaparlar. Yaklaşık 50 kadar değişik enzim taşırlar. En önemli enzimleri oksidaz ve katalaz'dır. Oksidaz Hidrojen peroksit oluşumunu sağlar. Katalaz ise yağ ve alkol metabolizması sonucu oluşan ve hücre için toksik bir madde olan hidrojen peroksitin yıkılmasını sağlar (katalaz enzimi bu ürünü oksijen ve su açığa çıkartacak şekilde yıkıma uğratar). Ayrıca, pürinlerin fazlasının ürik aside yıkılması, kolesterol, safra asitleri ve myelin yapımında kullanılan bazı lipidlerin sentezi gibi görevlerle ilgili enzimler içerir.

Mitokondriyonlar; her karaciğer hücresinde sitoplazma içinde dağınık olarak yüzlerce mitokondriyon bulunur (800-1000 adet kadar, hatta daha fazla olabilecekleri bildirilmiştir, 9 vital boyalarla iyi boyanırlar). Çeşitli metabolik olaylar için gereken enerji (ATP) üretimine yönelik enzimler içerirler.

Endotel hücreler; sinüzoidlerin çeperindeki hücreler olup, sinüzoid duvarını oluştururlar. Bu hücreler bazal lamina içermezler bunun yerine Disse aralığında bulunan kolajen yapısındaki retiküler liflere tutunurlar. Bu hücrelerin proliferasyonu TNF α ile yapılır.

Kolanjiyositler; Karaciğer parankimal hücrelerinin %1'inden daha azını oluştururlar. Safra kanalının duvarında bulunup luminal yüzeyleri sterosilialı mikrovilluslar ile genişletilmiştir. Bu sterosilialar sayesinde primer safra bir seri sekretör ve absorbatif işlemler ile ductal safraya dönüştürülür (Müftüoğlu, 2009; Standring, 2016).

2.3.3.Karaciğerde Bulunan Non Parankimal Hücreler:

Kupffer hücreleri; bu hücreler yıldız (Sternzellen) benzedikleri için ilk kez 1876 da Karl von Kupffer tarafından "stellat hücreler" olarak adlandırılmıştır. Gray ve Kuhnel de bu ismi kullanmaktadırlar.

Sinüzoid lümeninde, endotele yapıştırlar, özellikle periportal zonlarda daha fazla sayıdadırlar. Bakterilerin (kolon basilleri) %99'unu bu hücreler yok ederler. Yani makrofajlar olup fagositoz yaparlar (RES

hücreleri). Bu özellikleri olmasaydı, kolon basilleri sistemik dolaşıma geçerek septisemi oluşturlardı.

Membranlarında immunglobulin ailesinin reseptörleri vardır (CRIg). Bu nedenle immün sistemin önemli komponentleridirler. Tıpkı NK hücreleri gibi, TNF- α ve interleukin-6 oluşturlar.

Endotoksin, karbon tetraklorit, dimetilnitrosamin ve thioasetamid gibi toksinler defenestrasyon oluşumunu sağlarlar. Genelde defenestrasyon sirozun erken döneminde oluşur (Standring, 2016).

Ito = Stellat hücreler; hipoksi, venöz basınç artışı, radyasyon, aşırı soğuk, metastatik tümör invazyonu veya virüsler gibi farklı patolojik koşullarda fenestral dinamikler değişebilir. İlk kez 1950 de Toshio Ito tarafından adlandırıldılar. Karaciğerdeki miyofibroblastlar olup mezenseyal orijinlidirler. Disse aralığında bulunan bu hareketsiz hepatik stellat hücreler, A vitamini ve yağ depolarlar. Fibrozis işlemini adeta bir orkestra gibi yöneten hücrelerdir. Kronik KC hasarında aktive olurlar, kolojen oluşumuna neden olup, kontraktıl özelliğe kavuşurlar ve sitokinlerle kemokinleri salgırlarlar.

Aktivasyonları Kupffer, endotelial, hepatositler ve plateletlerden gelen sinyaller sayesinde olmaktadır. Bu aktivasyon fibril oluşturan skar matriksinin birikmesine neden olur. Bu da hepatosit mikrovilluslarının ve sinüzoidal endotelial fenestraların kaybolmasına neden olur. Böylece hepatik fonksiyonlar bozulur.

Pit hücreleri; karaciğer, Kupffer hücrelerine ilave olarak bir çeşit lenfosit subpopulasyonu olan Pit hücrelerini de içerir. KC deki sayıları nonparankimal hücrelerin yaklaşık %1'i kadardır. Disse aralığında bulunurlar.

Kemik iliğinden orijin alırlar, kanda dolaşırlar, KC de yoğunluklarını azaltıp granül sayılarını arttırarak Pit hücrelerine dönüşürler. KC de yaklaşık 2 hafta kalırlar. Yaşamları Kupffer hücrelerinin varlığına bağlıdır.

NK hücreleri olup, en önemli fonksiyonları viruslarla enfekte olmuş ve malignant hücrelerin yok edilmesidir. NK hücreleri interleukin-2 tarafından aktive edilirler. Bu nedenle "lenfokin activated killer (LAK)" hücreler olarak da adlandırılırlar.

NK hücrelerinin görevleri; NK hücreleri KC hücreleri enfekte olduklarında ilk 5 günlük süreçte etkilidirler. Nukleusu olan tüm hücrelerde MHC1 denilen bir yüzey proteini vardır. Yani kimliğimiz vardır. Hücre içi virüs, bakteri enfeksiyonunda ve kanserleşme durumunda bu proteinlerin sayısında azalma olur. NK hücreleri "polis" görevi görür. MHC1 proteininin azalması durumunda polisin yani NK hücrelerinin kimlik sorgulamasına gerekli cevap alınamadığı için NK hücreleri hücreyi öldürür. Hücre

öldürülmesi işlemi şöyle olmaktadır: NK hücreleri "perforin" denilen bir enzim ile hücre membranında delikler açar ve hemen "granzim" denilen bir enzim gönderir. Granzim içeri girer ve hücreyi apoptozise yönlendirerek öldürür. İlk 5 günden sonra NK hücrelerinin etkisi olmaz, zaten sayıları da çok fazla değildir. Bundan sonra CD8 denilen T sitotoksik hücreler ortaya çıkar. Artık hücrelerin yok edilmesi bunların etkisine bağlıdır (Gündüz, 2006, Standring, 2016).

Sinüzoidler; portal alandaki v. interlobares'lerin devamı şeklinde olan yaklaşık 1mm uzunluğundaki 10-30 µm çapında düşük basınçlı vasküler kanallardır. Bir karaciğerde 2 milyondan fazla sayıda olduğu bildirilmiştir. Karaciğerin tüm damarlarının %60'lık kısmını oluştururlar. Toplam uzunlukları karaciğerdeki kan volümü ve sinüzoid çapının hesaplanmasıyla ölçülmektedir. Bu hesap ile bir karaciğerdeki tüm sinüzoidlerin uzunluğu yaklaşık 4 km'dir.

Portal alandan başlayan sinüzoidlerdeki kanın hidrostatik basıncı 3 mm Hg'dir. Dolayısıyla kan yüksek basınçtan düşük basınca doğru otomatik olarak akar. V. centralis'ler birleşerek v. hepatica'lara açılırlar. V. hepaticalar da üç adet olmak kaydıyla (v. hepatica dextra-sinistra-media) v. cava inferior'a açılırlar. V. hepaticalardaki hidrostatik basınç 5 mm Hg, v. cava inferior'daki basınç ise 10 mmHg'dir. Bu durumda santral venlerden hepatik venlere ve hepatik venlerden v. cava inferior'a kan akımının nasıl olduğu sorusu oluşur. Bu sorunun cevabı kalbin v. cava inferior üzerine olan negatif yani vakum etkisi yaratan emiş gücündedir. Bu da kalp kası ile doğru orantılıdır. Kalp kasının ejeksiyon fraksiyonu normal değer olan %50-70 arasında ise herhangi bir sorun yaşanmamakta, konjestif kalp yetmezliği gibi bazı hastalıklarda veya kalp kası gücünün azalmasına dolayısıyla ejeksiyon fraksiyon değerinin düştüğü hastalıklarda kalbin emiş gücü azaldığında periferde göllenme çıkmakta ve zon 3 portal tansiyonu oluşmaktadır.

Sinüzoid içindeki kan, sadece v. portae ile gelen kan değildir. Portal alandaki a. hepatica proprianın uç dalı olan a. interlobularesdeki arterial kan da lobül içinden sinüzoidlere drene olmaktadır. Bu nedenle sinüzoid içindeki kan oksijen ve diğer kanın şekilli elemanlarını da içermektedir.

Sinüzoid endotelini oluşturan endotel hücreler arasında fenestralar (por) bulunmaktadır. Bu pencereler sayesinde sinüzoid içindeki kanda bulunan oksijen, lipid, protein, karbonhidrat, vb. hücrelerin ihtiyaç duyduğu maddeler sinüzoid içinden Disse aralığına geçmektedir. Fenestraların kapandığı ya da Kupffer hücrelerinin sayısının azaldığı karaciğer yıkımına bağlı hastalıklarda (HCC) örneğin; steatoz, alkolik siroz, hemakromatozis ve Wilson hastalığı gibi, hepatositler öncelikle oksijen azlığından sonra besin eksikliğinden lizise uğramaktadırlar. Bu olay da sarılığın (ichterizm) başlamasına neden olmaktadır (Gündüz, 2006; 2009, Standring, 2016).

Fenestra; insanlarda sadece KC ve böbrek "açık fenestralı" sisteme sahiptir. Genelde endotelial fenestralar 150–175 nm çapında olup, periportal alandan santral zona gittikçe çapları küçülürken, sıklıkları her μm^2 de 9'dan 13 'e ulaşmaktadır.

Fenestralar dinamik yapılardır. Yani çapları ve sıklıkları, farklı hormonlar, ilaçlar, toksinler, hastalıklar veya hücre dışı matriksdeki değişikliklere göre değişmektedir. Örneğin; pantetin, asetilkolin ve etanol çaplarını genişletirken, nikotin, uzun süreli etanol alımı, adrenalın, noradrenalin veya serotonin, endotelial porositelyi azaltmaktadır.

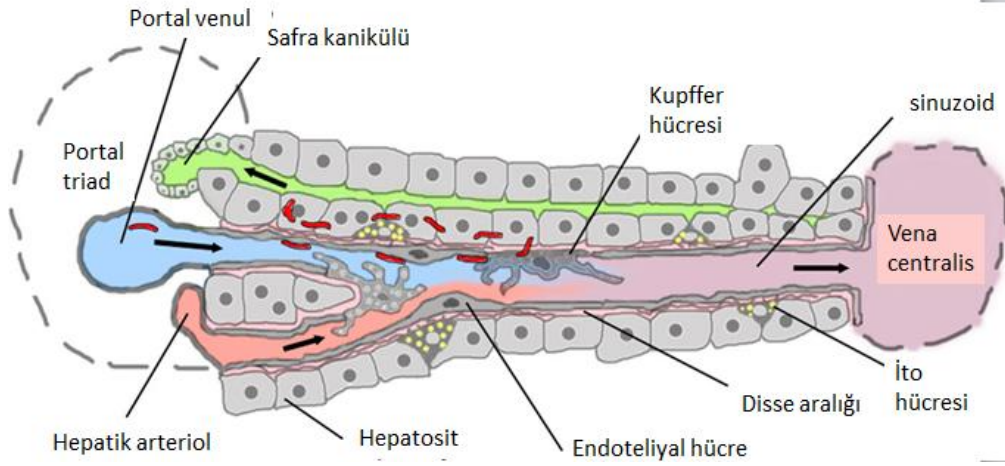
1983 de Oda ve ark. komşu fenestralarda aktin filamanlarının olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarla sadece aktin değil, miyozin ve kalmodulin'in de olduğu gösterilmiştir.

İlk kez 1986 da fenestralar etrafında "kalsiyum-kalmodulin-aktomyozin sistemi" nin olduğu ve fenestral çap regülasyonunda bu sistemin anahtar rol oynadığı gösterilmiştir.

Nikotinle oral olarak beslenen farelerde veya günde 2 paket sigara içen insanlarda, KC'in kalbursu plaklarındaki porosite azalmakta, serum kolesterol seviyeleri artmaktadır.

Her ne kadar defenestrasyon işlemi hepatotoksinlerin ortamdan uzaklaştırılması ile reversible bir işlemmiş gibi görünsede, endotelial bazal membran oluşumundan sonra bu işlem irreversible hale dönüşmektedir. Çünkü fibrozis öncesi bu endotelial hücreler basal lamina içermezler, fibrozisle birlikte basal lamina oluştuğu için Disse aralığına geçiş olamaz.

Disse aralığı = perisinuzoidal aralık; sinüzoid duvarı ile hepatositler arasında bulunan 0,3- 0,5 μm genişliğindeki aralıktır. Bu aralıktaki sıvı sinüzoid içindeki kan plazması içeriğinden oluşmaktadır. Disse aralığı hepatositlerin oksijen ve besin ihtiyaçlarının karşılandığı tek, ilk ve son aralıktır. En önemli görevlerinden birisi konjesyon durumunda karaciğerin artmış kan basıncına dayanmasını sağlamaktır. Bunu da hepatositlerin yüzeyindeki mikrovilluslar yapmaktadır. Bu aralıkta bulunan plazmaya Hepatosit ve diğer parankimal hücreleri yani atıkları karıştığı için artık bu sıvıya lenfa adı verilebilir. Disse aralığı konjesyon durumunda 10 ile 15 kat kadar genişleyebilmektedir. Bu aralıktaki lenfanın akım yönü lobülün merkezinden periferine doğrudur (Gündüz, 2006; Demir, 2006; Standring, 2016). (Şekil 2. 10)



Şekil 2. 10: Karaciğerin histolojik yapıları

2.4. Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer yapı ve fonksiyonu gereği olarak adaptasyon yeteneği en yüksek, aynı zamanda endokrin ve ekzokrin salgı yapan bir organdır.

Karbonhidrat metabolizması: Karaciğer kan glukoz konsantrasyonunun yaklaşık 90 mg/dl seviyesinde tutulmasını sağlar. Ancak glukoz seviyesi düşerse hepatositler glikojen deposundan glukozu serbestleştirerek kana verirler. Tersine glukoz seviyesi artarsa glikojen ve yağa dönüştürerek depolarlar.

Safra salgılanması: safra, su, elektrolitler, safra pigmentleri ve safra tuzlarından oluşmaktadır. Safra tuzları bağırsaklarda lipidleri emülsiyon haline getiren, kolesterol ve lipidleri solüsyon halinde tutan maddelerdir. Karaciğer kolesterol, lesitin, yağ asitleri ve safra tuzlarından oluşan bir sıvı olan safra sekresyonu yaparak sindirime katılmaktadır.

Protein sentezi: hepatositlerde çeşitli plazma proteinleri (albumin, fibrinojen, protrombin ve koagülasyon faktörleri V, VII ve IX) ve ayrıca hücre için gerekli olan lipoproteinler, glikoproteinler, ve non-immun globülinler sentezlenir.

Depolanma Foksiyonu: yağda eriyen A, D, E ve K vitaminleri ile B12 ve B9 vitaminlerini kandan absorbe eder ve depolar. Bunun yanında vücuttaki demiri ferritine dönüştürür ve depolarlar.

Detoksifikasyon ve İnaktivasyon: Böbrekten atılamayan pek çok zararlı ürün hepatositlerde oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon yolu ile zararsızlaştırılır.

Makrofaj Sistemi: Bağırsak kapillerlerinden akan kan bağırsaklardan birçok bakteriyi de beraberinde götürür. Hepatik venöz sinüslerde yer alan büyük fagositik makrofajlar olan Kupffer hücreleri, sinüzoidlerin içinden geçen kanı etkili bir şekilde temizlemektedirler.

Metabolik Fonksiyonları: Karaciğerin büyük miktarlarda glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glikoza çevirme ve glikogenez gibi karbonhidrat metabolizması üzerinde özgün fonksiyonları vardır. Karaciğer, diğer vücut fonksiyonları için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonunu yapar. Kolesterol, fosfolipid ve protein sentezi, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi yapar. Protein metabolizması üzerinde ise amino asitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, plazma proteinlerinin oluşumu ve vücuttaki metabolik olaylar için önemli olan amino asitlerin birbirine dönüştürülmesi gibi önemli fonksiyonları bulunur (Sodeman, 1991; Çavuşoğlu vd., 2011; Standring, 2016).

2.5. KARACİĞER YAĞLANMASI

Karaciğerde yağlanma görülen bütün durumları kapsayan genel bir kavram olarak düşünülmelidir. Hepatit C veya Hemokromatozis gibi yağlanmanın sıklıkla görüldüğü bazı hastalıklarda karaciğer yağlanmasının mevcudiyetinden bahsedilebilir ancak bu gibi durumlar yağlı karaciğer hastalığı olarak değerlendirilemez (Sonsuz, 2011). Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), çeşitli ilişkili bozuklukları tanımlamak için kullanılan şemsiye bir terimdir (Jonathan, 2011). Kendi içerisinde bazı alt grupları barındırır.

1. Steatoz: (Nonalkolik karaciğer yağlanması): Bu hastalarda karaciğerde yağlanma görülmekte, fakat iltihabi infiltrasyon bulunmamaktadır.

2. NASH (NASH): Karaciğerde yağlanma ile birlikte alkolik karaciğer hastalığında olduğu gibi hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve bazı olgularda Mallory cisimcikleri, megamitokondria, fibrozis gibi bulguların mevcut olduğu hastalıktır (Sonsuz, 2011). Erişkinlerde geniş bir bulgu yelpazesi vardır; makrovesiküler veya nadiren aktif inflamasyon bulunmayan aktif inflamasyonlu mikrovesiküler steatoz, hafif ile orta derecedeki fibrozis veya siroz. İnflamasyon yoksa basit bir steatozis olarak kabul edilir, çünkü NASH inflamasyon ve / veya fibrozis içerir. İnflamasyon bulguları arasında, hepatositlerin dejenerasyonu veya fokal hepatosit balonlaşması yer alır. Hafif NASH'de makrofajlar mevcut tek inflamatuvar hücre olabilir, ancak daha aktif lezyonlarda nötrofiller genellikle dejenere olan hepatositlere bitişik olarak bulunur. Mallory cisimcikleri (alkolik hiyalin) hepatositlerde bulunabilir. Eğer mevcut değilse, ubikuitin için

histolojik boyama bu özelliği ortaya çıkarabilir. İnflamasyon ve fibrozis perivenüler zonda tipik olarak en şiddetlidir (Roberts,2005).

En erken safha hepatik steatozudur ve hepatosit sitoplazmasında lipid damlacıkları olarak TG'nin birikimi ile karakterizedir. Steatoz, yağsız, sağlıklı bireyler için (yani gr karaciğer başına > 55 mg) 95 persentili aşan karaciğer TG seviyesi veya hepatositlerin %5'inden fazlasındaki sitoplazmik TG damlacıklarının varlığı olarak tanımlanır. Hepatik steatoz genellikle kendi kendine sınırlıdır, ancak NASH'ye (alkolsüz steatohepatit) ilerleyebilir (Jonathan, 2011). NASH, hepatosit hasarının (hepatosit balonu ve hücre ölümü), inflamatuvar infiltratın ve / veya kollajenin çökmesinin (fibrozis) varlığı ile basit steatozdan ayırt edilir. Steatozun NASH'dan önce gelip gelmediği veya steatoz ile NASH'nin farklı bozukluklar olup olmadığı bilinmemektedir. NASH, sırayla siroza ilerleyebilir; NASH'li bireylerin %10 ila %29'u 10 yıl içerisinde siroz oluşturur (Argo ve Caldwell, 2009). Sirozda, hepatositler esas olarak tip 1 kollajenden oluşan yara dokusu ile değiştirilir. Kollajen, karaciğer hasarıyla aktive olan karaciğer rejenerasyonunda önemli bir rol oynayan stellat hücreler tarafından üretilir. Siroz sonunda karaciğer kanserine ilerleyebilir; NASH ile indüklenen siroz hastalarının %4 ile %27'sinde hepatoselüler karsinom gelişir (Starley vd, 2010). Karaciğer TG içeriği, noninvazif görüntüleme yöntemleri ile nicelleştirilebilir, ancak NAFLD evresini belirlemek için karaciğer biyopsileri gereklidir.

Karaciğerde TG birikimine neden olan faktörler ve steatozdan steatohepatite geçişler ve insanlardaki siroz net bir şekilde tanımlanmamıştır. İnsanlardaki steatozdan steatohepatite geçişin belli özelliklerini gösteren fare modelleri, bu durumun gelişimine katkıda bulunabilecek muhtemel patolojik mekanizmalar hakkında bilgi sağlamıştır, ancak insanlardaki bu yolların göreceli rolü kesin olarak belirlenmemiştir (Hebbard ve George,2011).

2.5.1. Epidemiyoloji

Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), batı ülkelerinde yetişkin nüfusun %30'unu, diabetes mellitus ve / veya obez olan hastaların %60-80'ini etkileyen önemli bir sağlık problemidir (Ratziu vd.,2000;Ratziu vd.2010). 2011 Ulusal Sağlık ve Beslenme Sınav Anketi, NAFLD'nin obezite ve tip 2 diyabet ile ilişkili olduğunu belirten 1988-1994 araştırmasından bu yana, NAFLD, obezite ve tip 2 diyabet oranlarının zamanla koordineli olarak arttığını bildirmiştir (Younossi vd.,2011). Buna ek olarak, çocuklarda ve ergenlerde NAFLD prevalansının giderek arttığı ve yaklaşık %10 olduğu bildirilmiştir (Patton vd.,2006; Shicwimmer vd.,2006). NASH'li yetişkinlerin yaklaşık %20-25'inde 10 yıl içinde karaciğer sirozu geliştiği, (Yasutake vd., 2014) sirozlu NASH hastalarının %8.6'sında 12 yılda hepatoselüler karsinom geliştiği (Krawczyk vd., 2009) bu oran % 11.3'lere çıktığında 5 yıl içinde oluştuğu bildirilmiştir (Yatsuji

vd., 2009). Yeni bir meta-analizde, NASH'li hastalar basit steatozlu hastalarla karşılaştırıldığında, karaciğer ile ilişkili ölüm oranlarında daha yüksek bulunmuştur (Musso vd., 2011). Buna ek olarak NAFLD, kardiyovasküler hastalık (KVH) için bir risk faktörü olarak düşünülür, çünkü NAFLD'li birçok hastada metabolik bozukluklar geliştirir (Angulo vd.,2002). Biyopsi ile kanıtlanmış NAFLD olan ve ortalama 13.7 yıl boyunca takip edilen 129 hastayı kapsayan bir çalışmada, kardiyovasküler olaylardan kaynaklanan mortalitenin karaciğerle ilgili mortaliteden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte NASH'li kardiyovasküler hastalarının mortalitesinin referans popülasyonuna göre iki kat daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde, ortalama 28 yıldır izlenen İsveçli NAFLD hastalarının bir kohort çalışmasında, KVH 'li NAFLD (OR = 1.69) ile KVH'li NASH (OR = 1.86) olan hastalar karşılaştırıldığında, NASH olan hastalar için mortalite risklerinin daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Başlangıçta KVH teşhisi konmamış 2103 hastada, ortalama 5 yıl boyunca takip edilen diğer bir örnek, iç içe geçmiş, vaka-kontrol çalışması NAFLD varlığının artan KVH riski ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (OR = 1.84) ve bu ilişki klasik risk faktörlerinden bağımsız çıkmıştır (Tarcher vd., 2005).

2.5.2. NAFLD / NASH Histopatolojik Özellikleri

Hepatoselüler steatoz NAFLD'nin belirleyen faktördür ve hepatositlerin %5'inden fazlasındaki steatoz, NAFLD tanısı için gereklidir (Brunt ve Tiniakos, 2009; Yeh ve Brunt ,2007; Bondini vd., 2007). Hepatoselüler steatoz iki tipe ayrılır: makrovesiküler ve mikrovesiküler. Makrovesiküler steatozda, tek, büyük bir yağ damlacığı veya daha küçük tanımlanmış yağ damlacıkları, hepatositlerin sitoplazmasını dışarı çeker ve çekirdeği çevreye doğru iter. Mikrovesiküler steatozda, hepatositlerin sitoplazması, minik lipid damlacıkları ile doludur ve çekirdek, hücrenin merkezinde bulunur. NAFLD'deki steatoz genellikle makrovesikülerdir. Bununla birlikte, mikroskobik steatoz da mevcut olabilir. NAFLD'li hastalardaki biyopsilerin yaklaşık %10'unda mikrovesiküler steatozun var olduğu bildirilmiştir (Tandra vd., 2011). NAFLD'deki steatoz, 3. zonda başlar, ancak şiddetli steatozda panasinar steatoz görülebilir. Steatozun giderek artan şiddetinin, lobüler inflamasyon, zon 3 fibrozis ve kesin steatohepatit ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (Chalasanı vd., 2008).

Panasinar steatoz, balonlaşma, Mallory-Denk cisimcikleri (MDB) ve daha ileri fibroz ile zon 3 steatozu karşılaştırıldığında zon 3 steatozu daha sık ortaya çıkmıştır (Chalasanı vd., 2008).

NASH'da intralobüler inflamasyon mevcuttur. Genellikle hafiftir ve karışık inflamatuvar hücre infiltratı (lenfositler, nötrofiller, eozinofiller ve Kupffer hücreleri) içerir. Polimorf hücreler bazen balonlaşmış hepatositleri çevreler (genellikle bir MDB içerir). Bu lezyona "satellitöz" denir (Takahashi ve Yoshihisa, 2014).

Parçalanmış lobüler mikrogranulomalar (Sinüzoidal Kupffer hücre agregaları) ve lipogranülomlar (yağ damlacıklarının yanı sıra iltihaplanma hücrelerinin ve kolajen karışımlarını içeren) NASH'de sıklıkla görülmektedir. NAFLD / NASH'da portal inflamasyon genellikle yoktur veya hafiftir ve çoğunlukla lenfositlerden oluşur. Portal inflamasyon orantısız derecede şiddetli olduğunda, diğer karaciğer hastalıklarının (hepatit C ve otoimmün hepatit gibi) eşlik edebileceği düşünülmelidir. NAFLD / NASH tedavisinden sonraki iyileşme evresinde portal kronik inflamasyon lobüler özelliklere göre artabilir veya düşebilir (Brunt, 2012). Kronik portal inflamasyon (hafiften daha fazla), steatoz, balon ve gelişmiş fibrozisin miktarı ve yeri ile ilişkilendirilmiştir (Brunt vd., 2009; Rakha vd., 2010). Bu nedenle, tedavi edilmemiş NAFLD'de hafif kronik portal enflamasyonun üstünde olması ileri hastalıkların bir işaretidir. Hepatosellüler balon, nadir görülen sitoplazması şişmiş hepatositler olarak karakterize edilir ve hepatosellüler hasarı yansıtır. Balonlu hepatositlerde yağ damlacıkları ve / veya MDB'ler gözlemlenebilir. Hepatosellüler balonlaşmanın intermediyat filament sitoskeletonunun değişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Balonlu hepatositlerde, iki hepatosit keratin sitokeratini 8 ve 18 dağılır ve artık sitoplazmada görülmez. Bunun yerine çevrelere dağılmıştır (Brunt, 2010).

Hematoksilen ve eozin ile boyanan slaytlarda balonlu hepatositlerin tanınması zor olabilir (H ve E), sitokeratin 8/18 immün boyanın kaybı, balonlu hepatositlerin objektif bir markeri olabilir (Lackner, 2008). Fibrozis NASH'da fibrozisin karakteristik örneği perisinüzoidal / perisellüler alanda görülen fibrozisdir ve tipik olarak 3. zonda başlar. Mason trichrome veya retikulin boyama, fibrozisin değerlendirilmesinde yararlı olabilir.

NAFLD'deki fibrozis genellikle aktif bir nekroinflamatuvar reaksiyon ile gözlenir. Bununla birlikte, aktif lezyonsuz fibrozis de ortaya çıkabilir ve bu gibi durumlarda önceden steatohepatit atakları görülmektedir (Tiniakos, 2010). NASH ilerledikçe, portal / periportal fibrozis, köprü fibrozisi ve karaciğer sirozu meydana gelebilir (Argo vd., 2009). İleri fibrozis veya sirozda steatoz ve nekroinflamatuvar reaksiyonlar kaybolabilir ve bu durum yanık NASH olarak bilinir (Caldwell vd., 2009). Bu semptomları olan hastalara kriptojenik siroz tanısı konur ve NAFLD / NASH'ın kriptojenik sirozun önde gelen nedenleri olduğu tahmin edilmektedir (Caldwell vd., 1999; Poonawala vd., 2000; Struben vd., 2000). NASH ile ilişkili siroz en sık makronodüler veya karışıktır (Brunt ve Tiniakos, 2010). Glikojenlenmiş çekirdekler, periportal hepatositlerde sıklıkla gözlemlenen vakuolize çekirdeklerdir ve genellikle NAFLD'de görülürler. Bu çekirdeklerin varlığı NASH ve alkolik steatohepatit (ASH) arasında ayırım yapmak için yararlıdır, çünkü bunlar ASH'de nadiren görülür (Pinto vd., 1996).

Mallory cisimcikleri hepatositlerin sitoplazmasında bulunan eozinofilik düzensiz şekilli agregalardır. Bu yapılar genellikle 3. zondaki balonlaşmış hepatositlerde gözlenir ve esas olarak sitokeratin 8 ve 18, ubikuitin ve p62'den oluşur (Zatloukal vd., 2004; 2007;). Balonlaşmış hepatositlerde

Mallory cisimcikleri mevcut olduğunda, immünohistokimyasal olarak sitokeratin 8 ve 18 agrega olarak tanımlanabilirler (Brunt, 2010). Bununla birlikte, Mallory cisimciklerinin varlığı çok gerekli olmamakla birlikte varlığı NASH'nın teşhisi için yararlıdır. Mallory cisimciklerinin varlığı sadece NASH'a özgü değildir, alkolik hepatit, kronik kolestaz ve HCC dahil diğer karaciğer hastalıklarında da gözlenmektedir (Denk vd., 2000). Alkolik hepatitte Mallory cisimcikleri balonsuz hepatositlerde de gözlenir (Tablo 2.1.).

Demir birikimi NAFLD / NASH'de demir birikimi genellikle hafiftir ve hepatositler, retiküloendotel sistemin sinüzoidal astar hücreleri veya her ikisinde de ortaya çıkabilir (Brunt, 2010). Nelson ve ekibi (Nelson vd., 2011) retiküloendotelial sistemde demir birikimi olan NASH hastalarının, hepatositlerde demir birikimi olan hastalara kıyasla ileri fibrozise sahip olma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çelişkilidir ve NASH'da demir birikiminin önemini aydınlatmak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Megamitokondriyum Megamitokondri, hepatositlerin sitoplazmasında yuvarlak veya kristal şeklinde yapılardır. En sık mikrovesiküler steatozlu hepatositlerde görülürler. NASH'daki megamitokondriyalar tüm bölgelerde eşit olarak dağıtılır ve benzer şekilde düşük ve yüksek evre gruplarında bol miktarda bulunurlar (Le vd., 2004). Megamitokondriyanın NASH'de lezyonları iyi anlaşılmasına rağmen, lipid peroksidasyonundan kaynaklanan hasarın sonucu olduğu veya adaptif bir değişimi temsil ettiği düşünülmektedir (Brunt, 2010).

Diğer bir bulgu olan duktular reaksiyon, portal yol arayüzünde ductular proliferasyona neden olmaktadır. Bu durum periportal bölgedeki progenitör hücrelerden kaynaklanır ve poliferasyona nötrofiller ve stromal değişiklikler de eşlik eder (Brunt, 2010). NASH'de ductular reaksiyonun derecesi fibrozis ile ilişkilidir (Richardson vd., 2007).

2.5.3. NASH Değerlendirmesi ve Sıralama

Brunt ve ekibi (Brunt vd., 1999), hepatoselüler steatozu, balon derecesi ve inflamasyon (intralobüler ve portal) derecesine dayalı NASH'in nekroinflamatuvar sınıflarını grade 1 (hafif), grade 2 (orta) ve grade 3 (şiddetli) olarak sınıflandırmışlar (Tablo 2.2.). Aynı zamanda, fibrozisin yeri ve derecesine dayalı olarak evreleme için bir puanlama sistemi önermişlerdir; 1. evre; 3. zon perisinüsoidal fibroz, 2. evre; evre 1 ile portal fibroz; 3. evre, ikinci evre ve köprü fibrozisi; ve evre 4, siroz (Tablo 2.3.). NASH Klinik Araştırmalar Ağı (NASH CRN) daha sonra evre 1'i 3 kategoriye sınıflandırmıştır: evre 1A, 3 zonda hafif perisinüsoidal fibrozis; Evre 1B, 3. zonda orta derecede perisinüsoidal fibroz; ve evre 1C, sadece portal / periportal fibroz (Kleiner vd., 2005). Evre 1C fibrozis, zaman zaman çocuklarda veya şiddetli obez hastalarda görülür. Buna ek olarak

NASH CRN, klinik araştırmalarda kullanılmak üzere NAFLD Aktivite Skorunu (NAS) tasarlamıştır (Kleiner vd., 2005). Bu skor, basit steatoz da dahil olmak üzere tüm NAFLD spektrumu için kullanılabilir. Skor, steatoz (0-3), lobüler inflamasyon (0-3) ve balonlaşma (0-2) için skorlanarak toplam olarak hesaplanmış ve 0 ila 8 aralığında değerler verilmiştir. NAS'nin temel amacı, NASH için tanısal kriterler yerine, zamanla değişen histolojik değişikliklerdir. Ancak bazı alışmalar, $NAS \geq 5$ 'in NASH'nin histolojik tanısı için bir kriter olarak, $NAS \geq 5$ 'in eşik değerlerini kullanmıştır, çünkü $NAS \geq 5$ 'in NASH tanısı ile korele olduğu ve biyopsilerin skorları ≤ 2 "NASH değil" olarak teşhis edilmiştir. Son zamanlarda Brunt ve arkadaşları NASH CRN çalışmalarında 976 yetişkinden alınan biyopsileri gözden geçirmişler ve kesin NASH'ye sahip biyopsilerin yalnızca %75'inde, buna karşılık sınırdaki NASH'nin %28'i ve "NASH" olmayan biyopsilerin %7'sinde $NAS \geq 5$ bulmuşlardır. Ayrıca $NAS \geq 5$ olan olguların %3' "NASH" değil, $NAS \leq 4$ olan olguların %29'u NASH olarak bulunmuştur. Bu nedenle araştırmacılar kesin NASH tanısının veya NASH yokluğunun NAS'ın eşik değerleri ile her zaman korelasyon göstermeyeceği sonucuna varmışlardır (Takahashi ve Yoshihisa, 2014).

Tablo 2.1 NASH için histopatolojik anomaliler (Takahashi ve Yoshihisa, 2014)

Histopatolojik anomaliler

Gerekli bileşenler ;

- Steatozis (makro > mikro, 3. zonda vurgulanır)
- Lobüler inflamasyon (karışık, hafif; dağınık polimorfonükleer lökositler ve mononükleer hücreler)
- Hepatoselüler balonlaşma (steatotik karaciğer hücrelerinde, genellikle 3. zonda en belirgin olan)

Genellikle mevcut; ancak teşhis için gerekli olmayanlar;

- Perisinusoidal fibroz (3. zonda)
- Hepatosellüler glikojenlenmiş çekirdekler (1. zonda)
- Lipogranulomalar (lobüller halinde, boyutları değişir, ancak genellikle küçüktür)
- Asidofil cisimleri veya periyodik asit Schiff lekeli Kupffer hücreleri Yağ kistleri
Teşhis için gerekli olabilir ancak mevcut olabilir
- Mallory-Denk cisimcikleri (balonlu hepatositlerde)
- Demir birikimi (hepatositlerde veya sinüzoidal astar hücrelerinde)
- Megamitokondri (hepatositte)

Tablo 2.2. Non alkolik steatohepatit için derecelendirme ve evreleme sistemi (Takahashi ve Yoshihisa, 2014)

Non alkolik steatohepatit için derecelendirme ve evreleme sistemi	
Derecelendirme ve evreleme	
Derece	
Derece 1 (Hafif)	Steatoz: % 66'ya kadar Baloncuk: zaman zaman 3.zon'da Intralobüler inflamasyon: dağınık polimorflar ± lenfosit Portal enflamasyon: hayır veya hafif
Derece 2 (Orta)	Steatoz: herhangi bir derece Balon: belirgin, çoğunlukla 3. zon'da Intralobüler inflamasyon: polimorflar ve kronik inflamasyon Portal enflamasyon: hafif ila orta
Derece 3 (Şiddetli)	Steatoz: panacinar Balon: ağırlıklı olarak 3. zon'da balon ve karışıklık bariz Intralobüler inflamasyon: dağınık polimorflar hafif kronik inflamasyon Portal enflamasyon: hafif veya orta
Evre	
Evre 1	3. zon'da perisinusoidal / perisellular fibrozis, fokal veya geniş
Evre 2	Zon 3 perisinusoidal / perisellular fibrozis + fokal veya geniş periportal fibroz
Evre 3	Zon 3 perisinusoidal / perisellular fibrozis + portal fibroz + köprülü fibrozis
Evre 4	Siroz

Tablo 2.3. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skorunun bileşenleri (Takahashi ve Yoshihisa, 2014)

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skorunun bileşenleri	
Madde Skor	Tanım
Steatozis	
< 5%	0
5%-33%	1
> 33%-66%	2
> 66%	3
Lobüler inflamasyon	
odak yok	0
200 × alan başına 2 odak	1
200 × alan başına 2-4 odak	2
> 200 × alan başına 4 odak	3
Balonlaşma	
yok	0
Birkaç balon hücresi	1
Pek çok hücre/belirgin balonlaşma	2

2.5.4. Biyokimyasal özellikler / laboratuvar çalışmaları

Steatoz'lu hastaların %80'inde normal aralıkta aminotransferazlar olmasına rağmen, bazı NAFLD'li hastalarda tanı olarak hafif yükselmiş aminotransferaz varlığından bahsedilmektedir (Adams ve Angulo, 2007). Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) seviyesi dalgalıdır, NASH'li hastaların üçte ikisi zaman içinde herhangi bir noktada normal seviyelere sahiptir (Dam-Larsen vd., 2004; Adams ve Lymph, 2005). Alkalın fosfataz hafifçe yükselebilir. Normalden iki kat fazla olan aminotransferaz seviyesinde, farklı popülasyonlarda septal ve köprü fibrozisi görülmüştür (Ratiu vd., 2000; Papdia vd.,2004). Hiperbilirubinemi ve düşük albumin varlığı ileri derece karaciğer hastalığının göstergesidir (Oh vd., 2008).

AST ve ALT arasındaki oran tahmini olarak değerlendirilmiştir. Kronik karaciğer hastalığında sinüzoidlerde fibrozis arttıkça AST klirensinin azalması ile AST/ALT oranı artmaktadır (Seth vd., 1998). Birçok başka araştırma, ileri biyopside fibrozisde bu oranın (AST / ALT oranı) > 1.33 olmasıyla arasında bir ilişki bulmuştur (Oh vd., 2008).

Bu bulguların yanında, NAFLD'li hastaların %5-10'unda yüksek transferrin doygunluğu görülmektedir (Adams vd., 2006). Karaciğer hastalığının diğer nedenlerini dışlamak için eksiksiz bir laboratuvar değerlendirmesi yapılmalıdır. Alkol alımının olup olmadığı bilgisini veren klinik öykü, teşhis için önemli rol oynamaktadır. Kadınlar için günlük 20 gr / gün alkol tüketimi ve erkekler için 30 gr / gün veya daha fazla günlük tüketimi araştırmalarda dışlayıcı ölçütler olarak kullanılmaktadır; ancak bu oranların geçerliliği bilinmemektedir (Oh vd., 2008).

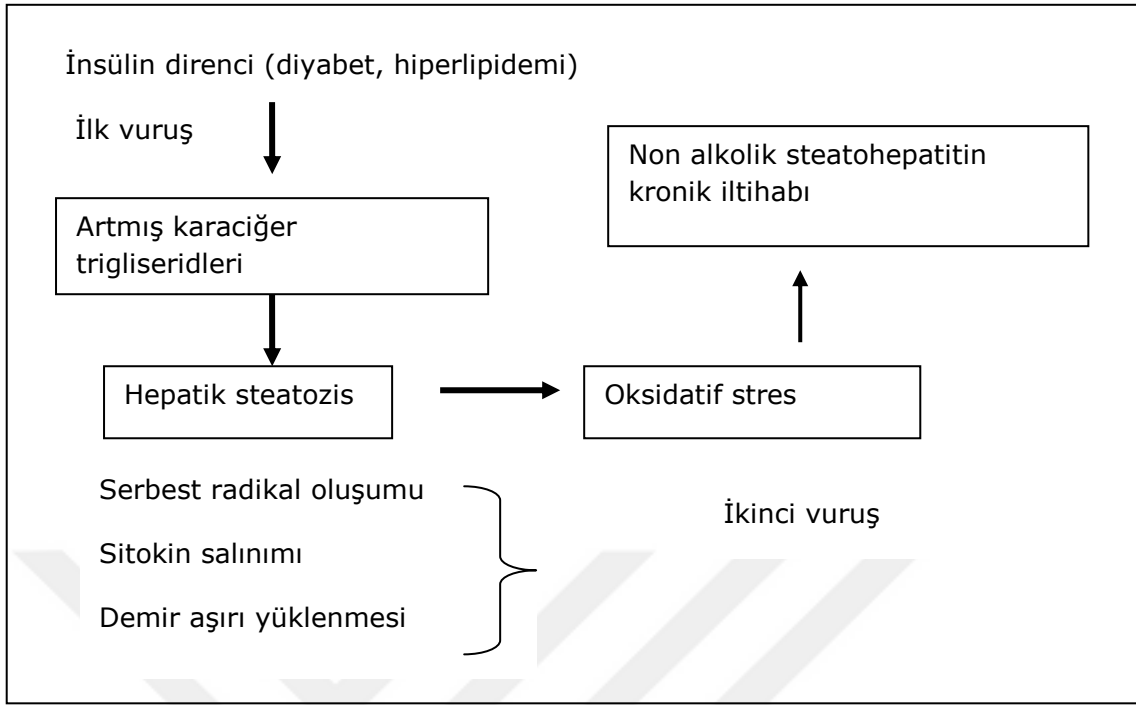
2.5.6. Patogenez

Nonalkolik steatohepatit (NASH), hepatositlerde trigliserid birikimiyle başlamaktadır. Daha basit düşünüldüğünde, hastalığın başlangıcının trigliserid sentezi yıkımı (veya karaciğerden uzaklaştırılması) arasındaki dengenin bozulması olduğu ifade edilebilir. Bununla birlikte çok farklı nedenlerle oluşabilen karaciğer yağlanması tek ve basit bir patogenetik süreç içerisinde açıklanması mümkün değildir. Yapılan çalışmalar sonucunda insülin direnci, sitokin regülasyonundaki anormallikler, oksidatif stres, mitokondrial disfonksiyon, gibi faktörlerin hastalığın gelişiminden sorumlu olabildiği düşünülmektedir (McClain vd., 2004).

A. NAFLD Hiperinsülinemisinin Patogenezisi

Hastalığın patogenezi uzun yıllardır "İki hit" hipotezi olarak adlandırılan bir model içerisinde açıklanmaya çalışılmıştır. Bu kuramın bazı boşlukları yapılan tüm araştırmalara rağmen kapatılabilmemiş değildir. İki hit hipotezinde, karaciğer hastalığını oluşturan birinci darbe insülin direnci olup, hepatositlerde trigliserid birikiminden sorumlu olan faktördür. Hastalığın diğer unsurları olan inflamasyon ve fibrozis yağlanmış karaciğere etki eden 2. bir darbe ile gelişmektedir (Tablo 2.4.), (Sonsuz, 2011).

Tablo 2. 4.NASHin patogenezi. "iki hit" teorisi.



İlk vuruş, hepatik steatozise yol açan insülin direncidir. Yağlı karaciğer, ikinci kez isabet eden oksidatif stres ile başa çıkmakta daha az yeteneklidir ve bu da kronik karaciğer iltihabına neden olur. Karaciğer hasarına neden olan faktörler, serbest radikal oluşumu, sitokin salınımı, aşırı demir yükü ve değişmiş mitokondriyal enerji üretimidir.

Hiperinsülinemi, insülin direnciyle bağlantılı olarak, hastalık mekanizmasının önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir (Tankurt vd.,1999, Pagano vd., 2002). Pek çok hastada NAFLD şu an 'sendrom X' olarak bilinen metabolik sendromun bir parçası gibi görünmektedir (Roberts,2005). Karaciğerdeki insülin direnci ile periferik dokulardaki farklılıklar NAFLD'nin bazı özelliklerini açıklayabilir. Kaslar ve yağ dokusunda, karaciğer ile karşılaştırıldığında daha büyük insülin direnci, serbest yağ asitlerinin mobilize edilmesine ve serbest yağ asitlerinin hepatoselüler depolanmasına yol açar. Hepatositlerdeki artmış plazma serbest yağ asitleri ve / veya artmış serbest yağ asidi konsantrasyonları muhtemelen steatoz ve inflamasyon gelişiminde önemli bir rol oynar (de Almeida vd., 2002). Serbest yağ asitleri dokularda oldukça tahrip edicidir ve lipid peroksidasyonu ve mitokondriye hasar yoluyla, hücre içi membranlara zarar verir ve böylece hepatik serbest yağ asitlerinin b-oksidasyonunda azalma meydana gelir. İnsülin, serbest yağ asitlerinin oksidasyonunu engeller ve bu nedenle hiperinsülinemi, serbest yağ asidi hepatotoksitesini arttırabilir. Son bulgular, hepatosit hasarına yol açan hücre içi mekanizmalarda anahtar oyuncu olarak hepatoselüler glukoz, trigliserid sentezi ve yağ metabolizmasını düzenleyen SREBP-1c (sterol yanıt element bağlama proteini-1c)'yi etkiler (Roberts,2005). SREBP-1c'nin hiperinsülinemiye bağlı olarak artması, muhtemelen trigliseridlerin ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin artmış hepatoselüler üretimini ve dolayısıyla NAFLD'nin karakteristik olan hipertrigliseridemisini açıklar.

NASH patogeneziyle ilgili güncel kavramlar, inflamasyonu ve fibrozisi açıklamak için ikinci bir faktöre ihtiyaç duyduğunu ileri sürmektedir (Chitturi, 2002). Aday faktörler arasında, mitokondriyal disfonksiyon, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi sitokinlere bağlı fonksiyonel değişiklikler, artan toksisite (hepatoselüler sitokrom P450 yoluyla) veya hepatositlerde azalmış sitoproteksiyon yer alır. Obez yetişkinlerde, devam eden düşük dereceli inflamasyon, esasen C-reaktif protein ve serum fibrinojeni ile sistemik inflamasyon için hassas markerler olarak belgelenmiştir (Roberts, 2005).

B. Adipositokinler

Adipositler birden fazla sitokin salgılar. Bunlardan TNF-alfa, PAI ve IL-6 metabolik sendrom, adiponektin, leptin ve resistin bazılarıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile karaciğer yağlanmasında ve steatohepatitlerde yağ dokusu ile ilişkili sitokinlerin rolünü gösteren bulgular sunulmuştur. Bu sitokinlerden adiponektin ve leptin insülin duyarlılığını artırıcı yönde etkili iken resistin, TNF- α ve IL-6 İD ise ortaya çıkan metabolik düzensizlikleri artırıcı etkilere sahiptir (Sonsuz, 2011).

C. Adiponektin

Karaciğerde adiponektin ve adiponektin reseptör II düzeylerinin düşük olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Adiponektin düzeyi ve gen ekspresyonu obezlerde ve Tip II Diyabetlilerde de azalmış bulunmaktadır. Böylece gerek adiponektin, gerekse diğer sitokinlerle ilişkili verileri değerlendirirken bulguların karaciğer yağlanması için spesifik olduğu yanılığısı oluşmamalıdır. Adiponektin, kaslarda ve karaciğerde beta-oksidasyonu'nu arttırır. Aynı zamanda hepatik insülin hassasiyetini düzelterek hepatik glukoz çıkışını düzenler. Lipogenezde önemli olan Acyl-CoA karboksilazın allosterik inhibitörü olan AMP-kinazı aktive eder. Böylece lipogenezi azaltarak ve beta-oksidasyonu'nu arttırarak karaciğer steatozunu azaltır. Ayrıca karaciğerdeki TNF-alfa oluşumunu inhibe eder. NASH' de karaciğer histolojisinin harabiyeti adiponektin miktarı ile ters orantılıdır (Sonsuz, 2011).

D. Leptin

Beyaz yağ dokusunda sentezlenen tokluk faktörü olan leptin, iştahı azaltmak ve enerji tüketimini artırmak için hipotalamik reseptörlere bağlanır. Yapılan araştırmalarda NASH patogenezinde rol oynadığı bulunmuştur (Chitturi, 2002). Genetik olarak obez, diyabetik fareler (ob / obmice) leptinin sentezini önleyen bir mutasyona sahiptir ve bu nedenle bunlarda obezite görülür. SREBP-1'in fazla ekspresyonundan ötürü insülin direncine ve yağlı karaciğerlere sahip olan lipoatrofik diyabetik farelerde leptin seviyeleri de düşüktür. Leptin ile tedavi, bu farelerde insülin direncini ve karaciğer yağlanmasını azaltır. Leptin direnci X sendromunun bir özelliği olarak tanımlanmıştır (Roberts,2005).

E. Rezistin

Rezistin primer olarak yağ dokusunda üretilen protein yapısında bir sitokindir ve insülin direncinde önemli bir rolü olabilir. Fare modellerinde rezistin ekspresyonundaki artış glukoz intoleransı, hiperinsülinemi ve serbest yağ asidi miktarında supresyon eksikliği yapmıştır.

Resistin, 108 amino asit ihtiva eden bir protein molekülü yapısındadır. Obez hayvan modellerinde serum resistin düzeyinin artmış olduğu bilinmektedir. NAFLD'da resistin düzeylerinin artmış olduğu ve hastalığın ağırlığı ile korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (Steppan vd., 2001; Pagano vd., 2006).

TNF- α , IL-8, IL-6: NASH'li olgularda TNF- α , IL-8, IL-6 düzeylerinin normalden yüksek olduğu ancak bu artışın alkolik steatohepatitlerden daha düşük seviyede olduğu bilinmektedir (Choi ve Diehl, 2005). TNF- α üretimini belirleyen TNF gen polimorfizmi ile NAYKH arasında güçlü bağlantılar bulunduğu gösterilmiştir. TNF- α 'nın karaciğer yağlanması ile ilişkili hastalık formlarına dönüşmesinde belirleyici olan 2. darbeyi oluşturduğu düşünülmektedir (Sonsuz, 2011).

F. Oksidatif stres

NAFLD'nin steatozisinden NASH'nin nekroinflamatuvar durumuna ilerleme mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır; ancak muhtemelen pro-inflamatuar mediatörler üretiminde artış rol oynar. Yağ dokusu, NASH ile ilişkili enflamasyon patogeneğinde rol alan adipositokinleri üreten, metabolik açıdan aktif bir dokudur. Adipositokin yolları NASH tedavisinde potansiyel ilaç geliştirme için çeşitli hedefler sunmaktadır (Oh vd., 2008).

G. Genetik faktörler

Genetik bir temel belirlemeye yönelik girişimler, yağ dokusu oluşumunda rol oynayan genlerin incelenmesi, insülin direncinin geliştirilmesi, alkolik karaciğer hastalığı veya ilgili metabolik hastalıkların incelenmesini içerir. Metabolik sendrom X'de (Roberts,2005), kortizonu kortizol haline getiren 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaz 1 kodlayan gen, lipodistrofi sendromlarından ve diğer insülin reseptörlerinin anormal metabolik hastalıklarından sorumlu genler bulunur ve önem teşkil ederler.

Polimorfik olan ve diğer hepatik bozukluklar için değiştirici protein olarak işlev gören Apolipoprotein E, NAFLD'de değiştirici gen olarak işlev görebilir. İlk veriler, MTP geninde (Bernard vd., 2000), PPARA 3'ü kodlayan PPAR-a'da ve mitokondrial manganez süperoksit dismutazda (MnSOD) düşük aktiviteli bir promotor poliforizminin rol oynadığını ortaya koymuştur. Bağışıklık tepkilerinde genetik değişkenlik de önemli olabilir. NAFLD ile ilişkili TNF-a geninin promotor bölgesinde bir polimorfizm

mevcuttur, ancak mekanik rolünün daha iyi açıklığa kavuşturulması gerekmektedir (Valenti vd., 2002). Altta yatan metabolik anormallikler hastalık düzenleyiciler olarak görev yapabilir. Örneğin, kalıtsal hemokromatozda anormal gen olan HFE için heterozigotluk, daha geniş çapta bir hepatik fibroz ile ilişkilidir. Bunun yanında NAFLD'li hastalarda a1-antitripsinin kısmi eksikliği yaygın olup patojenik rolü belirsizdir (Roberts,2005).

2.5.7. Hepatik Steatozun Moleküler Mekanizması

A. Yağ asitleri alımı

Plazmada serbest yağ asitleri (FFA) karaciğer tarafından alınabilir, ve karaciğerdeki TG sentezi için önemli kaynaklar olarak görev yaparlar. Normalde, plazma FFA, açlık koşullarında katekolamin gibi beta adrenerjik reseptör agonistleri tarafından indüklenen lipoliz yoluyla beyaz adipositler tarafından üretilir (Arner, 2005). Bu süreç, protein kinaz A (PKA) bağımlı fosforilasyonu düzenler. Hormone Sensitive Lipase (HSL), bu yolu teşvik etmek için lipolizde önemli bir hız sınırlayıcı enzimdir. Bu yol, beslenme koşullarında insülin ile tersine çevrilir. FFA'nın serbest bırakılması sınırlanır ve bu da dokuda *de novo lipogenezi* indükler. Obezite ile bağlantılı insülin direncinde, lipoliz adipositlerde hiperaktivasyona uğrar ve plazma FFA'sında artış görülür (Delarue ve Magnan, 2007).

Buna ek olarak, obezite sıklıkla lipit bakımından zengin beslenme alımıyla ilişkili olduğundan, karaciğerde TG sentezi için daha yüksek öncül düzeyleri gözlemlenmesi beklenir. FFA için ana plazma membran taşıyıcıları yağ asidi taşıyıcı protein (FATP), caveolinler, yağ asidi translokazı (FAT) / CD36 ve yağlı asit bağlama proteini (FABP) dir. Memelilerde yağ asidi alımı ve yağ açıl-CoA sentetaz fonksiyonu için ortak bir motif içeren 6 FATP üyesi bulunmuştur (Doege ve Stahl,2006).

Aile üyeleri arasında, FATP2 ve FATP5 karaciğerde yüksek seviyede eksprese edilir ve normal fizyolojik süreç için büyük FATP olarak kullanılır. Gerçektende, FATP5 knock out fareleri, bu FATP izoformunun insandaki obeziteyi karşılaması için klinik bir kanıt olmamasına rağmen diyetle indüklenen obezite ve hepatik TG birikimine direnç göstermiştir. Caveolinler, caveolin 1, 2, 3 olarak adlandırılan üç protein ailesi üyesinden oluşur. Protein dolaşımı ve lipid damlacıklarının oluşumu için önemli olan caveolae olarak adlandırılan membran yapılarında bulunur.

Caveolin-1 knock out fareleri, karaciğerde daha düşük TG birikimi sergilemiştir ve obezite altında TG sentezinde bu proteinin önemini gösteren diyetle indüklenen obeziteye direnç göstermiştir. FAT / CD36 ise, yağ asidi yayılmasını kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla hızlandıran bir transmembran proteindir. Normalde, bu protein karaciğerde fazla değildir, ancak diyetle indüklenen obezite ile arttırılır. CD36'nın karaciğer ekspresyonu, NAFLD hastalarında hepatik TG içeriği ile pozitif korelasyona

sahiptir ve bu taşıyıcı ile bu hastalığın potansiyel önemi vurgulanmıştır. FABP'ler, FFA'ların intrasellüler transportunu kolaylaştıran sitozolik lipid taşıyıcı proteinlerdir (Koo, 2013).

Dokuz izoform arasında, FABP1 ve FABP5 karaciğerde yüksek oranda eksprese edilir. Karaciğere özgü FABP1 knock out olan fareler, diyetle indüklenen obeziteye karşı direnç göstermiştir, ancak sağlıklı TG birikimi, wild type farelerinkinden farklı değildir, bu durum, diğer FABP'lerin katkılarının, bu durumdaki hepatik TG birikiminde kritik olabileceğini düşündürmektedir (Newberry vd., 2003).

Gerçekten de karaciğerdeki FABP4 ve FABP5 ekspresyonu, kardiyovasküler rahatsızlığı olan hastalarda karaciğer yağlı filtrasyon ile korelasyona uğramıştır.

Bu yağ asidi taşıyıcılarının, hepatik FFA yükselişindeki rollerini fizyolojik koşullar ve patolojik koşullar altında entegre etmek için daha ileri çalışmalar gereklidir (Koo, 2013).

B. De novo lipogenezis

Glikoliz (glukozun asetil-CoA'ya dönüşümü), doymuş yağ asidi sentezinde kilit hız sınırlayıcı enzimler arasındadır. glikolizde glikokinaz ve karaciğer tipi piruvat kinaz, yağlı asit sentezinde asetil-CoA karboksilaz (ACC) ve yağlı asit sentaz (FAS), uzun zincirli yağ asidi elongazı 6 (ELOVL6) ve stearoil TG bulunur. FAS oluşumunda monounsaturatamik yağ asitleri ve gliserol-3-fosfat açıltransferaz (GPAT), lipinler ve açıl-CoA; diasilgliserol asiltransferaz (DGAT) oluşumunda stearoil -CoA desaturaz (SCD) vardır. ACC yağ asidi biyosentezindeki sınırlayıcı enzimi ve bu yolda son adımı katalize eder (Abu vd., 2005).

ACC, yağ asidi biyosentezinde önemli bir hız sınırlayıcı aşamayı katalizlamakla kalmaz, aynı zamanda karnitin palmitoil transferaz 1 (CPT1) için bir inhibitör olan malonil-CoA'nın sentezi ile yağlı asit oksidasyonunun kontrolünde rol alır. Farelerde karaciğere özgü izoformun (ACC1) inhibisyonuyla, eş zamanlı olarak yağ asidi biyosentezini inhibe edilmiş ve karaciğerde yağ asidi beta oksidasyonunu aktive edilmiş, farelerde karaciğer TG düzeylerini düşürür. SCD1, katalizi yapan mikrozomal bir enzimdir (Abu vd., 2005).

Bununla birlikte, farelerde FAS'ın karaciğere özgü knock out edilmesi, yağ asidi beta oksidasyonunu inhibe edip, karaciğer malonil-CoA içeriğindeki artışa bağlı olarak yüksek karbonhidrat diyeti üzerine yağlı karaciğer fenotiplerinin oluşmasını sağlayabilir (Koo, 2013).

Doymuş yağlı asil-CoA'lardan tekli doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin oluşumu (Eg, palmitoil-CoA'nın (16: 0) palmitoleoil-CoA'ya (16:

1 n-7) ve stearoil-CoA'nın (18: 0) Oleoil-CoA (18: 1 n-9)) dönüştürülmesi ağırlıklı olarak karaciğerde gerçekleşir.

Farelerde SCD1 tükenmesi lipogenezin azalması ve yağ asidi beta oksidasyonunun artması nedeniyle batı diyetinde hepatik steatozun tersine dönmesine neden olmuştur (Koo, 2013).

DGAT, diasilgliserolün (DAG) asilasyonunu katalize ederek TG sentezinin son adımını katalize eder.

Obez farelerde hepatik izoform DGAT2'nin inaktivasyonu, bu proteinin de novo lipogenezindeki önemi için in vivo kanıt gösteren karaciğer TG içeriğinde önemli azalma ile sonuçlanmıştır (Yu vd., 2005).

C. TG sekresyonu

Karaciğerde, TG sekresyonu çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) oluşumu yoluyla sağlanır. VLDL, hidrofilik fosfolipidler ve apolipoprotein B (apoB) 100 ile kaplanan TG'ler ve kolesterol esterleri içeren hidrofobik çekirdek lipitlerinden oluşur. Karaciğerde ApoB 100 ve bağırsakta apoB 48, şilomikron oluşumu ile ilişkili iken, VLDL düzeneğinde kritik olan karaciğere spesifik bir ApoB'dir. VLDL montaj işlemi başlangıçta apoB 100'ün translasyonu ve translokasyonu sırasında granüllü endoplazmik retinakulum'da oluşur ve kısmen lipidlenmiş bir apoB 100 oluşumu ile sonuçlanır. Daha sonra pre-VLDL olarak adlandırılan kısmen lipidlenmiş apoB 100, bunun için golgi'ye nakledilir. Olgunlaşma ve ardından ekzositoz yoluyla karaciğerden salınır. ApoB 100 (hipo-betalipoproteinemi) ve MTP'de (abetalipoproteinemi) mutasyon geçiren hastalarda hepatik steatoz bildirilmiştir ve bu proteinlerin insanlardaki lipid homeostasisindeki önemini ortaya koymaktadır (Tanoli vd., 2004).

Anabolik hormon insülin, VLDL montajı ve salgılanmasının düzenlenmesinde kritik önem taşır. İnsülin belki de bir otofajiye bağımlı yolak kullanarak apoB 100'ün parçalanmasında rol oynar. Ayrıca, insülin, fosfatidilinositol 3 kinaz / Akt-bağımlı regülasyon yoluyla MTP'nin transkripsiyonunu inhibe eder. Akt, transkripsiyon faktöründeki FoxA2'yi fosforileştirir ve inhibe eder, bu da, transkripsiyon seviyesinde MTP'nin ekspresyonunu aktive etmek için kritik bir forkhead box faktörüdür. (Koo ve Montminy, 2006).

İnsülin direnci üzerine, bu sürecin bozulması, artmış TG salınımı yoluyla hipertrigliseridemi ile sonuçlanır. Bununla birlikte, TG salınım hızı, artmış VLDL salınımına rağmen hepatik steatoz ile sonuçlanan bu durumda TG sentezinin hızını takip edemez. Hem hipertrigliseridemi hem hepatik steatoz gösteren NAFLD hastalarında da benzer fenotip gözlenmiştir (Choi ve Ginsberg, 2011).

Karaciğerin FFA'ya uzun süreli maruz kalması, karaciğerdeki ER stresini ve diğer oksidatif stresini artırarak apoB 100'ün bozulmasına, VLDL ayrılmasının azalmasına ve hepatik steatozun kötüleşmesine neden olur (Koo, 2013).

2.6. GÖRÜNTÜLEME MODELLERİ

2.6.1. Ultrasonografi (USG)

Karaciğerin yağ infiltrasyonunu belirlemek için güvenli, radyasyondan arınmış, kolay erişilebilir ve maliyeti az bir yoldur. Muayene 2-5 MHz dışbükey dönüştürücü kullanılarak yapılabilir. Normal karaciğer parankimi, renal korteks ve dalganinkine eşit veya biraz daha yüksek ekojenite ile homojen bir eko-izolasyona sahiptir. Karaciğer, yağ infiltrasyonuna bağlı olarak renal korteks ve dalaktan daha yüksek bir ekojenite gösterir (Vals vd. 2006).

Optimum ayarlarda, ekojenlik yoğunluğunun görsel analizine dayanarak çeşitli steatoz dereceleri (0-3) önerilmiştir. Sadece ekojenlik arttırıldığında grade I, ekojen karaciğer, portal damar dallarının ekojenik duvarlarını örttüğünde grade II olup, ekojenik karaciğer, diyafragma anahatlarını gizlediğinde, grade III yağ infiltrasyonu olur (Saadeh, 2002). Ancak bunlar gözlemciler arası değişime tabidir. Hepatik steatozu saptamada USG'nin duyarlılığı %60-%94 aralığında değişmektedir. (Saverymuttu vd., 1986; Joseph vd., 1991).

Geçici elastografi / Fibroscan ve akustik radyasyon kuvveti impulsu (ARFİ) elastografisi geleneksel USG sistemine entegre edilebilir. Bunlar, karaciğer sertliğinin derecesini derecelendirmek için yeni uygulamalardır (Singh vd., 2013).

2.6.2. Sonoelastografi İlkesi

Sonoelastografi, hızlı ve noninvazif bir görüntüleme yöntemi olup bu yöntemle dokuların viskoelastik özellikleri incelenmektedir. Yağ infiltrasyonundan etkilenen karaciğerin sertliğinin tespit edilmesini sağlar. ARFI ve geçici elastografi gibi teknikleri içerir. Sonoelastografi teknikleri dokulardan sinyal toplama metodlarına göre dokuların strain (gerinim) değerlerinin ve dokularda oluşan shear dalgalarının hızlarının ölçüldüğü strain elastografi (SE), akustik radyasyon kuvveti impulsu görüntülenmesi (ARFI), shear dalgası elastografisi (SWE) ve transient elastografi (TE) olarak da sınıflandırılabilir. Ultrason elastografi karaciğer, safra kesesi, dalak, pankreas, böbrek, prostat ve uterusu kullanılabilir. Bu görüntüleme tekniği en sık karaciğerde fibrozis skorlarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Onur ve Göya, 2013) ARFI görüntüleme, gerçek zamanlı B modunda görüntüleme gerçekleştirirken elastik özellikleri açısından incelenecek bir

anatomik bölgeyi hedeflemeyi içerir. Ölçülen kesilme dalgası hızı, dokunun intrinsik ve tekrarlanabilir bir özelliğidir. Birden fazla lokasyondaki kesme dalgası cephesini gözlemleyerek ve bu ölçümleri geçen süre ile ilişkilendirerek kayma dalgası hızı nicelleştirilebilir. Dalga boyu, sesin dalga boyundan $1 / 100$ 'ün üzerinde hassastır. İzleme kırımları, itme palsı yolunun bitişiğinde uygulanır. Bu kırımlar, geçen kesme dalgası cephesi saptanana kadar sürekli iletilir. Makaslama dalgasının üretilmesi ile tepenin saptanması arasındaki zaman kayma dalgası hızını hesaplamak için kullanılır. Geçici elastografide kesilme dalgasının yayılımını izlemek ve doğrudan doku sertliği (veya elastik modül) ile ilişkili olan hızını ölçmek için bir darbe-yankı edinimi yapılır. Sonuçlar kilopascal (kPa) olarak ifade edilir. Doku ne kadar sert olursa, kesilme dalgasının yayılması da o kadar hızlı olur (Singh vd., 2013).

2.6.3. Bilgisayarlı tomografi (BT)

Steatosis, BT'de karaciğer zayıflamasına neden olur ve taramalarda dalak zayıflamasıyla karşılaştırılarak nicel olarak gösterilebilir. Karaciğer-dalak zayıflama oranı <0.8 olan, orta ila şiddetli steatoz tanısı için yüksek spesifikasyona (%100) sahiptir. Transplant donörlerinde hepatik steatozun değerlendirilmesinden, kontrastsız BT'nin $\geq\%30$ steatozu teşhis etmede, %100 spesifikasyon ve %82 duyarlılıkla çok iyi sonuç verdiği sonucuna varılmıştır (Park vd., 2006).

Dalak zayıflaması ile karaciğer zayıflaması arasındaki farkın hesaplanması da steatozu değerlendirmek için kullanılabilir. Dalağın zayıflaması normal bir bireyde karaciğerden yaklaşık 8-10 HU daha düşükken, > 10 HU'lık bir karaciğer-dalak zayıflama farkı hepatik steatozun güçlü bir belirtisidir (Piekariski vd., 1980).

BT, operatöre bağımlı olmayan hızlı bir tekniktir. Düşük doz protokolleri ile radyasyona maruziyet en aza indirilebilir. Ayrıca, hepatik yağın miktarını belirlemek için enerjik BT kullanılabilir. İki tüp potansiyelinde, yani 80 ve 140 kVp'lik alımları içerir. Doku kompozisyonu tahmini, farklı maddelerin zayıflama özelliklerinin farkından dolayı mümkündür. Hepatik steatozda, düşük enerji seviyesinde karaciğerin BT atenüasyonunda bir azalma vardır. Tüp potansiyeli arttıkça yağ zayıflaması artar. Çalışmalar, boru potansiyelinin 80'den 140 kVp'ye yükselmesiyle >10 HU'lık bir zayıflama değişiminin $>\%25$ 'lik bir yağ infiltrasyonunu düşündürmektedir (Raptopoulos vd., 1991).

2.6.4. Manyetik rezonans görüntüleme (MR)

MR, mikroskobik bir miktarda bile karaciğer yağını bulgulamak için radyasyonsuz bir yöntemdir. Kimyasal kayma görüntüleme (CSI), proton spektroskopisi ve MR elastografi gibi çeşitli teknikler kullanılabilir. CSI'nin

hassasiyeti ve özgüllüğü %90 ve %91 iken, spektroskopinin sensitivitesi ve spesifikasyonu %91 ve %87'dir. Karaciğer sertliğini ölçmek için MR elastografi kullanılabilir. Bununla birlikte MR, nispeten zaman alıcı ve masraflı bir işlemdir (Singh vd., 2013).

2.7. İleri Teknolojik Götüntüleme Mikroskopları

2.7.1. Multifoton mikroskopi

Multifoton mikroskopi (MPM), yoğun dokuları ve canlı hayvanları görüntüleme için kullanılan floresans mikroskopisinin en popüler uygulamasıdır (Zipfel vd., 2003), MPM, karaciğerin genel görünümünü elde etmek için birkaç sanal biyopsi alma potansiyeline sahip olmakla birlikte (Goetz vd., 2008 a) fibrozis gibi karaciğer hastalıklarını nicelleştirme potansiyeli hakkında dinamik bilgi sağlar (Goetz vd., 2008b). MPM, doğrusal olmayan (veya çok ışıklı) işlemlerle üretilen optik sinyalleri kullanan bir optik görüntüleme yöntemleri ailesini tanımlamak için kullanılan bir terimdir (He vd., 2010). MPM, iki foton uyarım floresan (TPEF), ikinci harmonik görüntüleme (SHG) ve Coherent anti-Stokes Raman saçılımı (CARS) mikroskoplarını içerir (Zipfel vd., 2003).

Geleneksel konfokal mikroskobunda, ışının yoğunluğu odak düzleminin üstünde ve altında eşittir ve bu da, numunenin, iğne deliği tarafından reddedilen odak düzleminin dışına floresan üretmesine neden olur. Bu durum, görüntü kalitesini ve doku sağlığını etkileyerek, fotoblokaj ve fotodamarja maruz bırakılmasına yol açar. Multifoton mikroskopi ise bunu önlemektedir, çünkü numunenin çok daha küçük bir alanı, uyarıcı ışık kaynağı tarafından uyarılmakta ve odaklama dışı ışık üretilmemektedir, sadece fokus noktasına kısıtlama getirir (Emptage, 2001; Stutzmann ve Parker, 2005). Görüntü penetrasyon derinliğinin en üst düzeye getirildiği yakın kızılötesi aralığında MPM'nin 700 ila 1000 nm'lik uyarılma dalga boyundan dolayı doku saçılması ve absorpsiyonu en aza indirilir (Masters ve So, 2001; Hoover ve Squier, 2013). MPM'nin en önemli uygulaması canlı hayvanların bozulmamış dokularının yüksek çözünürlüklü fizyolojisi, morfolojisi ve hücre-hücre etkileşimlerini görüntülemektir. Her ne kadar moleküler düzeyde hücre fonksiyonu kantitatif olarak inceleyemese de, floresan life time görüntüleme mikroskopisi (FLIM) ile kombinasyon halinde kullanıldığında (Niesner vd., 2008) MPM, fluoroforları örtüşen spektral özelliklerle tanımlayabilir ve florofor için spesifik olan ömürleri ölçebilir, floresan ömrü elektronun uyarılmış halden taban durumuna kadar olan tüm olası dönüş yollarının hız sabitlerini karşılıklı toplayabilir.

2.7.2. Two foton uyarım floresan mikroskobu

Geleneksel histoloji ve biyomedikal görüntüleme ile karşılaştırıldığında, two foton uyarım floresan (TPEF), üç boyutlu optik kesit alma, subselüler mekansal çözünürlük, kalın örneklerin derin penetrasyonu ve minimum numunelerin imhası gibi pek çok avantaj sunmaktadır (Lee vd., 2013). TPEF'i doku ve hücre morfolojilerini görüntüleme için uygun hale getirir (Lin vd., 2011). Fibrozisli bir karaciğerin TPEF görüntüleri, belirgin olarak farklı bir morfolojiyi gösterir. Hepatosit otofloresansı, normalde ve fibroziste benzerdir, otofloresanın karaciğer fibrozisinin hassas bir göstergesi olmadığı düşünülmektedir.

Bununla birlikte, yıldız hücrelerinin dağılımı farklıdır. Düşük büyütme kullanarak, hücresel yapılardan yoksun geniş bölgeler görünür hale gelir ve stellat hücreler hasar bölgelerinde histolojik görüntülerle tutarlı şekilde çoğalmaya başlar (Liu vd., 2005). Bu değişiklikler yüzey de dahil olmak üzere karaciğer boyunca gerçekleşir (Le vd., 2004). Stellat hücreler olası flor ışıldama bozulması nedeniyle pigmentlerin renklerini kaybetmesi durumu için bir önlem temin edebilir, çünkü UV ışığına 10 sn maruz kaldıklarında yok olurlar. Aynı zamanda, stellat hücrelerin Disse aralığındaki yerleri bilindiği için kan akışı sırasında nereye gidecekleri konusunda morfolojik bir kılavuz görevi üstlenirler (Roberts vd., 2008). Karaciğerin kolajen ile fibrozis düzeylerini saptamak ve ölçmek için SHF görüntüleme yöntemi daha uygundur (Camilla vd., 2014)

2.7.3. Laser speckle

Nispeten yeni olan laser speckle kontrast görüntüleme (LSCI) tekniği (Mahé vd., 2012; Roustit ve Cracowski, 2012) tarafından sağlanan tam alanlı (mikro) vasküler ölçümlerin uygulanması, alanlar arası ve kişiler arası değişkenlik etkileşimi azaltabilme özelliğine sahiptir (Rousseau vd., 2011; Tew vd., 2011). Çalışma tekniği, lazer ile aydınlatılan bir biyolojik doku yüzeyinden geri dağılmış ışık tarafından oluşturulan parazit modelindeki (benek=speckle) dalgalanmaların ölçülmesine dayanır (Boas ve Dunn, 2010; Fercher ve Briers, 1981). Bu dalgalanmaların analiz edilmesi, dokudaki hareketli saçılan parçacıkların hareketi hakkında bilgi sağlar. Ayrıca, LSCI yüzey taramasına gerek duymadan, yüksek uzaysal ve zamansal çözünürlüğe sahip temassız gerçek zamanlı tam alan görüntüleme sağlar. LSCI uygulamaları deri, beyin, retinal ve böbrek perfüzyonunu içerir ve genellikle lazer speckle perfüzyon üniteleri ile yorumlanır (Bezemer vd., 2010; Boas ve Dunn, 2010). Karaciğer mikro sirkülasyonu ile ilgili kısıtlı sayıda çalışmalar da mevcuttur (Sturesson vd., 2013).

Laser speckle kontrast görüntüleme (LSCI), yakın zamanda pazarlanan bir tekniktir ve leke kontrast analizine dayanır (Basak vd., 2012). Yüksek kare hızı LSCI, mükemmel uzaysal ve zamansal çözünürlüklerle, geniş alanlarda temassız, tam alan görüntüleme sağlar ve

teorik olarak lazer doppler akışmetri ve lazer doppler görüntüleme avantajlarını birleştirir (Puissant vd., 2013; Roustit vd., 2010). LSCI uygulamaları, nörolojik hastalıkların klinik öncesi çalışmaları ve dermatolojik (Kernick ve Shore, 1999), nörocerrahi ve endoskopik çalışmalar da dahil olmak üzere klinik uygulama alanlarıdır (Boas ve Dunn, 2010; Dunn, 2012).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney hayvanları ve Barınma Koşulları

Çalışmamızda 250-300 gr ağırlığında toplam 28 adet Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar İstanbul Medipol Üniversitesi Tıbbi Araştırma Merkezi (MEDİTAM)'dan temin edildi ve hayvanların bakımı burada yapıldı. Çalışmamız için 14/04/2014-17 sayılı etik kurul kararı alındı.

3.2. Deney Grupları

Deney Grupları kontrol ve deney olmak üzere önce iki gruba ayrıldı. Daha sonra deney grupları ve sham grupları kendi aralarında 1 haftalık ve 2 haftalık şeklinde tekrar ikiye ayrıldı. Bir haftalık deney grubuna bir hafta boyunca portal kanülden intralipid %20 maddesi enjekte edildi. Bir haftalık sham grubuna ise portal kanülden serum fizyolojik (SF) enjekte edildi. İki haftalık sham grubuna iki hafta boyunca portal kanülden intralipid %20 maddesi enjekte edilirken sham grubuna iki hafta boyunca SF enjekte edildi. Kullanılan deney grupları, süreleri ve sıçan sayıları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deney grupları ve deneysel yaklaşım.

Deney no:	Deney metodu:	Grup	Deney süresi	Sıçan sayısı
1	Portal ven-intralipid	Deney	7	7
2	Portal ven -SF	Sham	7	7
3	Portal ven-intralipid	Deney	14	7
4	Portal ven- SF	Sham	14	7

3.3. Cerrahi İşlemler

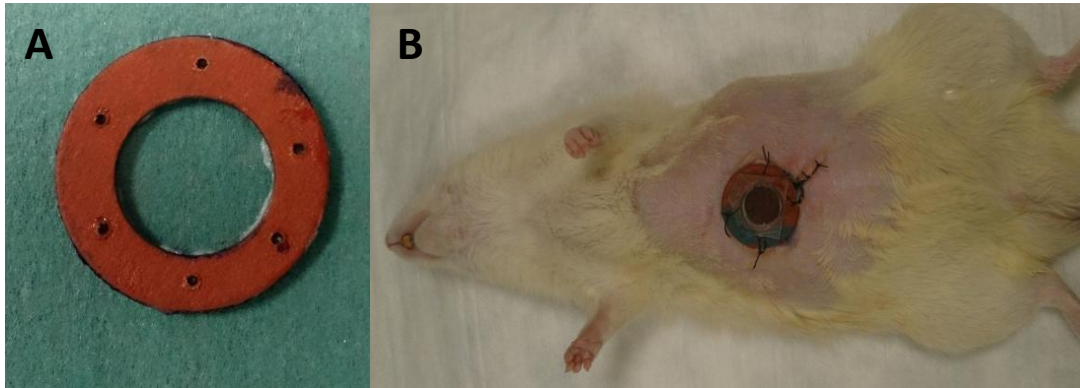
Oluşturduğumuz steatoz modelinde, öncelikle portal vene intralipid verebilmek amacıyla kalıcı kanül yerleştirildi. Bu amaçla, sıçanlar önce, 1 ml. Rompun %2 w/v ve 3 ml. Ketalar karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Cerrahi müdahale öncesi sıçanların abdominal bölgesi traşlanıp, midline insizyon bölgesi belirlenerek processus xyphoideus'dan aşağı doğru abdomen açıldı (Şekil 3.1.). Deri ile m. rectus abdominis'in ön fasyası birbirinden ayrılarak sol tarafta deri altına bir cep oluşturuldu. Proc. xyphoideus klemplenip yukarı kaldırıldı. Peritoneal kaviteye girdikten sonra portal ven ince bağırsaklardan sola doğru ayrılarak lig. falciforme hepatis ve proc. xyphoideus uzaklaştırıldı. Kesilen yerde oluşan keskin kenarın dokuyu kesmemesi için diyafram ile karaciğer arasına pamuk konuldu (Ritsma vd., 2013). Bir ucu port chamber'a bağlı olan kanül (UNO mouse port MMP-4S, 4 fransız silikon katater) peritoneal kaviteden abdominal duvara doğru yerleştirildi (Gervaz vd., 2005). V. portae hepatis ile v. gastrica dextra'nın birleşim yerleri belirlendi. Kan akışının engellenmemesi için bu işlemler en fazla 5

dakikada tamamlandı. Daha sonra kataterin ucu 45 derece olacak şekilde kesilerek portal venin içine dikkatlice girildi. Kanül yerinin doğruluğunu sağlamak için kanülden içeri 1 ml heparinize edilmiş salin verildi. Kanül kenarları doku yapıştırıcı ile damara yapıştırıldı (Gervaz vd., 2005). Kanülün bağlı olduğu hazne oluşturduğumuz cebe yerleştirildi.



Şekil 3.1. Deney grubundaki sıçanların cerrahi müdahale için hazırlanması ve portal vene kanül yerleştirilmesi. (A) Traş ve insizyon, (B) Kateterin hazırlanması, (C) Kanülün portal vene yerleştirilmesi

Steatoz modeli geliştirilen sıçanların canlı halde multifoton mikroskop altında incelenmesinin sağlanabilmesi amacıyla Şekil 3.2'de gösterilen abdominal görüntüleme penceresi geliştirildi. Yapıştırıcı, fiberglass halka (Şekil 3.2A) içerisine kulak çubuğu ile sürüldü. Lamel pencereye oturtulduktan sonra basınç uygulanarak yapışması sağlandı. Su girişini önlemek için pencere ve lamel arasına yapıştırıcı eklendi. Yapıştırıcının kuruması için hazırlanan pencere en az iki saat air flow kabinde bekletildi. Lamelde kalan fazla yapıştırıcı %100 aseton ile silinip, asetonun uzaklaşması için de %70 etanol sürüldü. Su geçirgenliğini ölçmek için cam kısmı dokuya gelecek şekilde pencerenin üzeri su ile dolduruldu, en az 5 dk. en fazla 30 dk. test edilerek, ardından pencereler air flow kabinde, UV altında her iki tarafı da 10 dk olacak şekilde bekletildi. Sonra 121-134 °C'de etilen oksitte 1-4 saat 40-55°C'de bekletilip sonra 72 saatlik soğutma periyoduna alındı. Daha sonra pencereler kullanılmak üzere steril 50 ml lik tüplerde bekletildi.



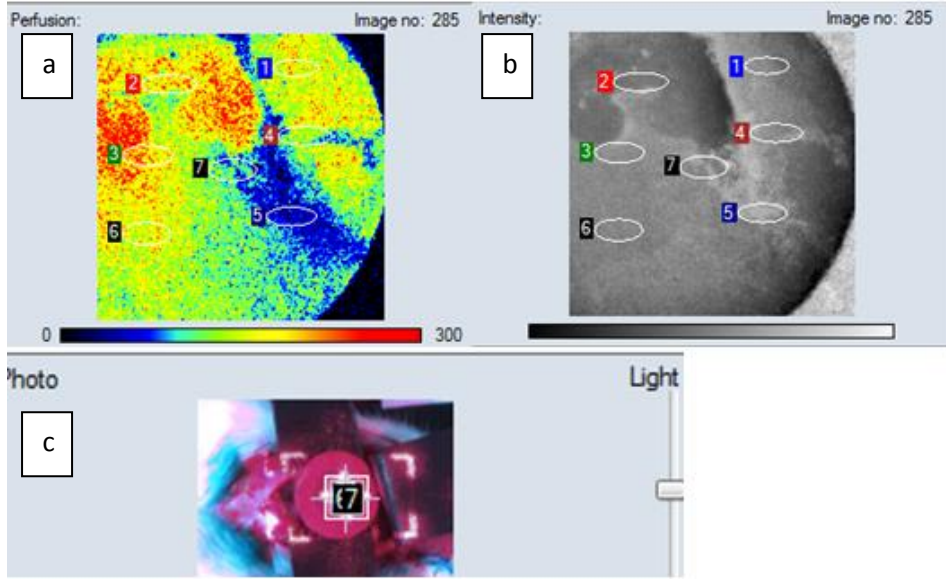
Şekil 3.2: Laboratuvarımızdaki malzemeler ile geliştirdiğimiz (A) abdominal görüntüleme penceresi ve (B) portal vene kanül yerleştirilmiş sıçana yerleştirilmesi.

3.4. İntralipidin verilmesi

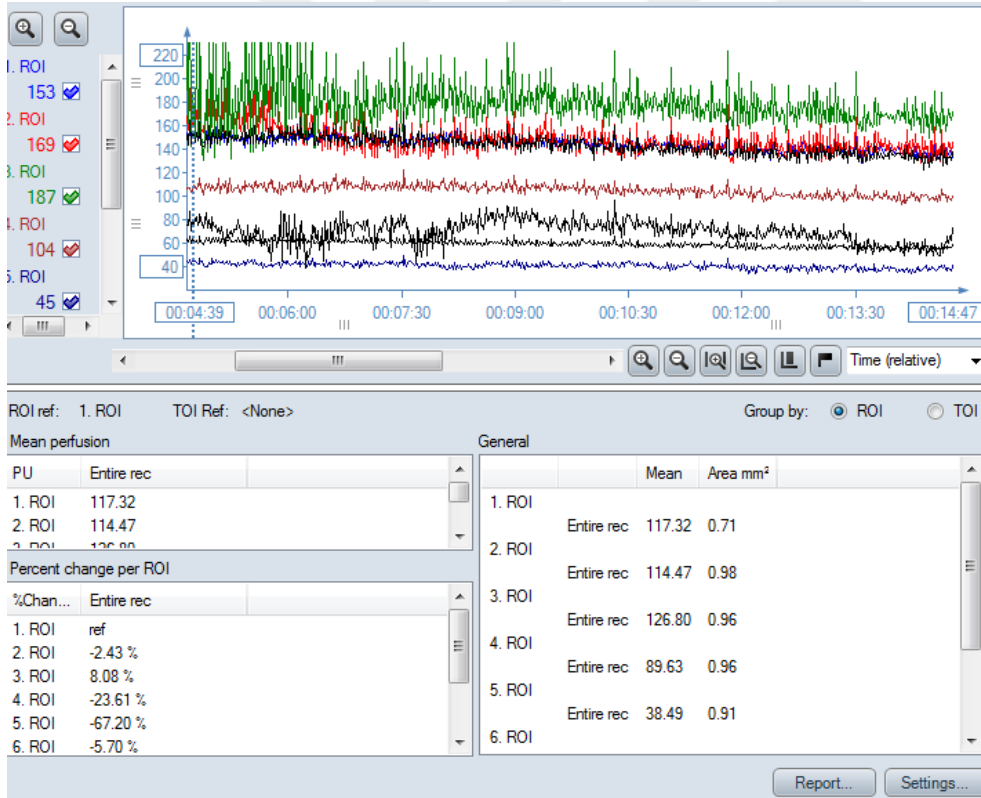
Cerrahi işlemlerden sonra sıçanlarımıza yerleştirdiğimiz deri altındaki port vasıtası ile portal venden intralipid %20 (Sigma) maddesi (fosfolipid ile dengelenmiş soya yağı), deney gruplarına (Deney no: 1,3) deney süresi boyunca her gün 2,4 gr yağ/kg şeklinde verilerek steatoz'un oluşması hedeflenirken, sham gruplarına (deney no: 2,4) deney süresi boyunca her gün aynı oranda %0,9'luk SF verildi. (Meisel vd., 2011; Kalish vd., 2013).

3.5. Steatoz modeli geliştirilen sıçanların canlı olarak mikroskopik incelemesi

Çalışmamızda oluşturduğumuz steatoz'u sıçan canlıyken görüntülemek çalışmamızın en önemli basamaklarından birisiydi. Bu basamakta multifoton mikroskobundan görüntü alınması için, v. portae hepatis'ten intralipid verilen gruplar, 1 ml. Rompun %2 w/v ve 3 ml. Ketalar karışımının intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi altına alındı, sonra "rhodamine isothiocyanate dextran (RİT)" 700 (10 mg/kg) ile %20 intralipid karıştırılarak verildi. Diğer floresan madde olan "fluorescein isothiocyanate (FİT)" (100 mikrolitre saline içine 50 mikrolitre) ise sıçanın kuyruk veninden verildi. Bu işlem önce deney süresi 7. günde biten gruplara daha sonra 14. günde biten gruplara uygulandı (Le vd., 2011). Görüntüleme sırasında sıçanlardan şekiller çekildi. Böylece bu floresan boyalar sayesinde karaciğerdeki metabolik aktivite değerlendirildi. Aynı zamanda hayvanlar anestezi altındayken laser speckle mikroskobu ile karaciğerdeki kan akımı değerlendirildi. Anesteziye alınan hayvanlar laser speckle mikroskobunun altına yatırıldı. Sıçan ile mikroskop objektifi arasındaki mesafe ayarlanıp ölçüme başlandı (Şekil 3.3.). Bunun için her sıçanın aynı lobu üzerinde ölçüm yapılmak için aynı alanlar kullanıldı. Bütün sıçanların 5. ve 10. dakikaları arasındaki görüntüleri alınarak değerler kaydedildi (Şekil 3. 4).



Şekil 3. 3: Laser speckle mikroskopunda karaciğerlerin görüntüleme işlemi gösterilmektedir. a: perfüzyon miktarı, b: perfüzyon miktarının ölçüldüğü karaciğer kısımları, c: sıçan karaciğerinin fotoğrafı.



Şekil 3. 4: Beşinci ve 10. dakikalar arasındaki ortalama perfüzyon değer örneği gösterilmektedir.

3.6. Steatoz modeli sıçanların, biyokimyasal, western blot, mikropılaka floresan okuyucu, histolojik ve morfometrik yöntemlerle incelenmesi

Deney gruplarının süreleri sonunda sıçanlara önce 1 ml. Rompun %2 w/v ve 2 ml. Ketalar karşımının intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi altına alındı sonra kalpten kan alınarak ötenazi uygulandı ve karaciğer dokusu alındı (Meisel vd., 2011; Kalish vd., 2013). Kanlar ise, 4400 rpm de 5 dk. santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Alınan dokular kuru buz üzerinde dondurularak kriyostat ile kesit alınımına kadar serumlar ile birlikte -80°C dolaplarda saklandı.

3.6.1. Biyokimyasal Analiz

Önceden alınan serumlardan AST, ALT, değerleri tespit edildi. Örnekler için sıçan eliza kitleri kullanıldı (Sigma). Solüsyonlar deney kitlerindeki protokollere uyularak hazırlandı.

ALT Deney Prosedürü:

Kit İçeriği: Tablo 3.2. de yer almaktadır.

Tablo 3.2. Alt kit içeriği

ALT tamponu	25 mL
OxiRed probe (DMSO içinde)	200 µL
ALT enzim karışımı (Liyofilize halde)	1 vial
ALT substratı (Liyofilize halde)	1 vial
Pirüvat standartı (100 nmol/µL)	100 µL
ALT pozitif kontrol (Liyofilize halde)	1 vial

A. Reaktif Hazırlanışı:

1. ALT enzim karışımı: Vial içide liyofilize halde olan ALT enzim karışımı 220 µL distile su içinde çözüldü.

2. ALT substratı: Vial içinde liyofilize halde olan ALT substratı 1,1 mL ALT tamponu içinde çözüldü.

3. ALT pozitif kontrol: Vial içinde liyofilize halde olan ALT pozitif kontrolü 100 µL distile su içinde çözüldü.

4. ALT tamponu, OxiRed probe ve pirüvat standartı kullanıma hazır şekilde kit ile birlikte gelmiştir.

B. Standart Hazırlanışı:

1. Standartlar 4 saat stabil şekilde kalabilmektedir.

2. Kolorimetrik deney için 5 µL pirüvat standartı 495 µL ALT tamponu içinde çözüldü. 1 nmol/µL konsantrasyonuna sahip stok standart elde edildi.

3. 1 nmol/µL konsantrasyonuna sahip standarttan aşağıdaki tablodaki şekilde değişik konsantrasyonlara sahip standartlar oluşturuldu (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. ALT konsantrasyon tablosu

Standart	Standart hacmi (µL)	Tampon çözelti (µL)	Kuyucuk içindeki son standart hacmi (µL)	Kuyucuk içindeki alanin transaminaz konsantrasyonu
1	0	60	20	0 nmol/kuyucuk
2	6	54	20	2 nmol/ kuyucuk
3	12	48	20	4 nmol/ kuyucuk
4	18	42	20	6 nmol/ kuyucuk
5	24	36	20	8 nmol/ kuyucuk
6	30	30	20	10nmol/ kuyucuk

C. Deney Yapılışı:

1. Standart, örnek ve opsiyonel olarak koyulabilen pozitif kontrolden 20 µL önceden belirlenen kuyucuklara koyuldu.

2. Her kuyucuğun üzerine 100 µL reaksiyon karışımı ilave edildi.

a. Reaksiyon Karışımının Hazırlanışı:

Tablo 3.4. Reaksiyon karışım tablosu

ALT tamponu	86 µL
OxiRed Probe	2 µL
ALT enzim karışımı	2 µL
ALT substratı	10 µL

3. En son 570 nm'de kinetik ölçümle absorbans ölçümü yapılır. 37°C'de 10 dakika beklendikten sonra 60 dakika boyunca her 2-3 dakikada bir absorbans ölçümü yapıldı ve eğim grafiği çizdirildi.

AST Deney Protokolü

Kit içeriği

Tablo 3.5. AST kit içeriği

AST enzim karışımı	1 vial (liyofilize edilmiş halde)
A AST Tamponu	1 şişe (10 mL)
AST pozitif kontrol	1 şişe (15 U)
NAD	1 vial

AST reaksiyon karışımının hazırlanması

1. Kit ile beraber gelen NAD vialinin içine 100 µL distile su eklendi. Bu sayede 100X konsantrasyona sahip NAD solüsyonu hazırlandı

2. 10 µL AST tamponu, AST enzim karışımı şişesine eklendi ve karıştırıldı. Bu karışım oda sıcaklığında stabil olmadığından, hazırlandıktan sonra 2 saat içinde kullanılması gerekmektedir.

A. Seri dilüsyonların hazırlanması (AST standart (1'den 300 mU/mL))

1. 100 U/mL AST standart solüsyonu hazırlamak için istenilen miktarda AST pozitif kontrol solüsyonu Dulbecco's fosfat tamponu (DPBS) içine eklendi. Hazırlanan karışım +4°C'de saklandı.

2. Hazırlanan 100 U/mL AST standart solüsyonundan 3 µL alıp 997 µL içinde %0,1'lik Bovine serum albümin (BSA) bulunduran DPBS içine ilave edildi ve karıştırıldı. 300 mU/mL AST standart solüsyonu elde edilmiş oldu.

3. 300 mU/mL AST standart solüsyonu 1:3 oranında seri dilüsyon yapılarak 100, 30, 10, 3, 1, 0.3 ve 0 mU/mL konsantrasyonuna sahip standartlar oluşturuldu.

B. Deneyin Yapılışı:

1. 50 µL standartlar ve numuneler belirlenmiş kuyucuklara koyuldu.
2. 50 µL AST reaksiyon karışımı herbir kuyucuğa eklendi.
3. 37°C'de 20-30 dakika bekletildi.
4. Multi-mode reader da flouremetrik yöntem ile okuma yapıldı. (Ex/Em = 530 – 570/590 – 600 nm)

3.6.2. Floresan Boyamalar

Nile red boyama; boyama için önce stok solüsyon hazırlandı. Bunun için 100µg/ml nile red, aseton da çözdürüldü ve 1ml'lik stok için %75 gliserol olacak şekilde oranlandı. Hazırlanan solüsyon kesit üzerine damlatıldı. 15 dk. beklendi ve sonra konfokal mikroskopta görüntü alındı.

Bodipy boyama; 1,3 mg Bodipy, 1ml DMSO'da çözdürüldü. Ardından 1:2,500 olacak şekilde PBS eklendi ve stok solüsyon oluştu. Solüsyon kesitler üzerine damlatıldı. İki dk. sonra kesitler üzerindeki boya akıtıldı ve kesitlerin üzerine DAPI damlatıldı ardından mounting media ile üzeri kapatılan kesitler 1 saat kurumaya bırakıldı. 1 saatin sonunda konfokal mikroskoptan görüntüler alındı.

3.6.3. Histolojik inceleme

Histolojik değerlendirme için dondurulan karaciğer dokularından kryostatta 8 µm boyutunda kesitler alındı. Boyamalardan biri spesifik yağ boyası olan Oil -O-Red ile yapıldı. Bu boya ile fluresans mikroskopu altında yağlanmanın olup olmadığı değerlendirildi.

3.6.4. Oil Red O boyama

Kesitler -80'den çıkarıldıktan sonra %10'luk soğuk formaldehitte 5-10 dk. bekletildi. Sonrasında 3 defa distile su ile yıkandı ve kuruması için 1 dk. bekletildi. Ardından %100'lük propilen glikolde 5 dk. bekletildi. Sonra 60 ° fırında bekletilmiş oil red o ile kesitler 8-10 dk. bekletildi. Daha sonra dokular %85'lik glikolde 5 dk bekletidi. 2 kere distile su ile yıkandı, 30 saniye hematoksilende bekletildikten sonra 3 dk. akan çeşme suyunda bekletildi. Ardından distile su ile yıkanarak aqueosus mounting media ile üzerlerine lamel kapatıldı.

3.6.5. Hematoksilen- Eosin boyama

5 µm boyutunda alınan kesitlere hematoksilen ve eosin boyama yapıldı. Balonlaşmanın olup olmadığı, yağlanmanın makroveziküler mi mikroveziküler mi olduğu değerlendirildi.

Kesitler önce düşen alkol serisinden geçirildi sonra distile su ile yıkandı. Ardından 10 dk. hematoksilende bekletildi ve 10 dk. çeşme suyunda yıkandı. Sonra 1 dk. eosinde bekletildi ve distile su ile yıkandı. Yükselen alkol serisine 10 'ar kez batırılıp çıkarıldıktan sonra üzerleri lamel ile kapatıldı.

3.6.6. Masson trichromea boyama

Bir diğer boyama ise Masson Trichromea ile yapıldı. Boyama için dokulardan kryostat ile 8 µm boyutunda kesitler alındı. Boyanan kesitler ile karaciğer dokusunda oluşmuş fibrozis değerlendirilmiştir.

1. Kesitler deiyonize suya bırakıldı.
2. Ardından önceden ısıtılmış Bouin's Solüsyonunda 56 ° C'de 15 dakika boyunca bırakıldı.
3. Sonra, Coplin kavanozunda bulunan musluk suyundaki (18-26 ° C) soğutuldu.
4. Daha sonra sarı renk bitene kadar akan musluk suyunda yıkandı.
5. Weigert'in Demir Hematoksilen Solüsyonunda 5 dakika boyunca boyandı.
6. Akan musluk suyunda 5 dakika boyunca yıkandı.
7. Ardından deiyonize suyla yıkandı.
8. Biebrich Scarlet-Acid Fucynin'de 5 dakika boyunca boyandı.
9. Tekrar deiyonize suda yıkandı.
10. Kesitler, Fosfo-durultuk / Fosfomolibdik Asit Çözeltisine 5 dakika bekletildi.
11. Sonra Aniline Blue Solution'a 5 dakika bekletildi.
12. Ardından 2 dakika boyunca %1'lik Asetik Asit içine yerleştirildi.
13. Son olarak durulandı, alkol ile kurutuldu, ksilen içinde temizlendi ve üzerleri kapatıldı.

3.7. Morfometrik İnceleme

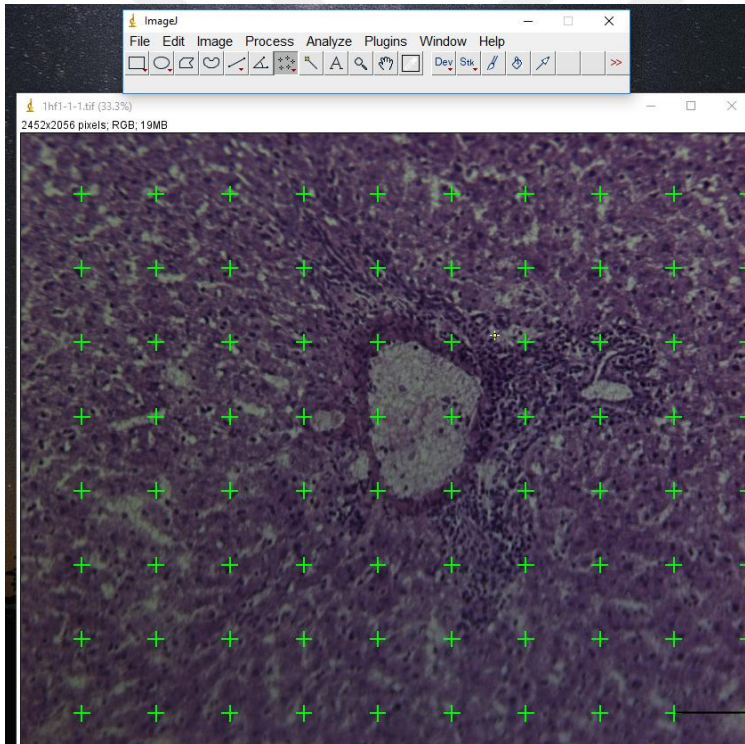
Çalışmamızda kantitatif sonuçlar elde etmek için morfometrik değerlendirmeler yapıldı. Bunun için sıçanlardan kan alımının akabinde, çıkarılan karaciğer lobları 6-8 adet bölümlere ayrılarak sistematik örnekleme yöntemine göre doku parçaları alındı (Altunkaynak ve Özbek, 2009). Her hayvan için 1 cm³'lük doku parçası alındı. Ardından alınan bölümler -80 °C donduruldu. Dondurulan doku parçalarından daha sonra kryostatta 5 µm'lik kesitler alındı. İnceleme yapılacak olan kesitler

sistemik örneklemeye yöntemiyle seçildi (her 16 kesitten birisi alınarak). Buna göre: rastgele seçilen ilk kesit 6. kesit olup, sonraki örnek kesitler her defasında 16 rakamı eklenerek seçildi (Örneğin: 6, 22, 38, 54, 70). Örneklenen tüm kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyandı.

Bu kesitler üzerinde ortalama vena centralis çapı ve sinüzoid/karaciğer parankimi oranı (Vv) hesaplandı.

A. Sinüzoid/Karaciğer parankimi oranı (Vv)

Her hayvandan sistemik örneklemeye yöntemiyle 100-110 farklı alanda Zeiss Axio zoom (Axio zoom 16 Model Floresan Görüntülemeli Stereo Araştırma Mikroskobu) mikroskopuyla 160x de resimler çekildi. Çekilen resimlerin image j programıyla (IJ 1.46r) sinüzoid/karaciğer parankimi oranları hesaplandı (Şekil 3.5).



Şekil 3. 5: İmage j’de sinuzoid /karaciğer oranı (Vv) ölçümü

B. Ortalama v. centralis çapı ölçümü

Çapları hesaplanacak v. centralisler için tarafsız sayım çerçevesi (Unbiased counting frame) kullanıldı. Sayım çerçevesinin içersine düşen v. centralis’ler ile bu çerçevenin sağ ve üst çizgileri üzerine düşen v.

centralis'lerin ortalama çapları ölçülürken; sol ve alt çizgileri üzerine düşen v. centralis'lerin ölçümleri yapıldı (Mhlfeld et al., 2010).

Buna göre her hayvandan sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle 110-100 adet v. centralis apı Zeiss Axio zoom mikroskopuyla 160x de resimler çekildi. Elde edilen görüntüler image j mikroskopuyla değerlendirildi (Şekil 3.6.). Resimler pixellerden oluştuğundan önce 1 pixelin kaç m 'ye denk geldiği programa kalibrasyon için girildi. Böylece programla v. centralis'lerin büyük (a) ve kk (b) apları m olarak ölçüldü. Sonra bu değerler aritmetik ortalama formülüne yerleŐtirilerek v. centralisler'in ortalama çapları bulundu (Nairn vd., 1989).

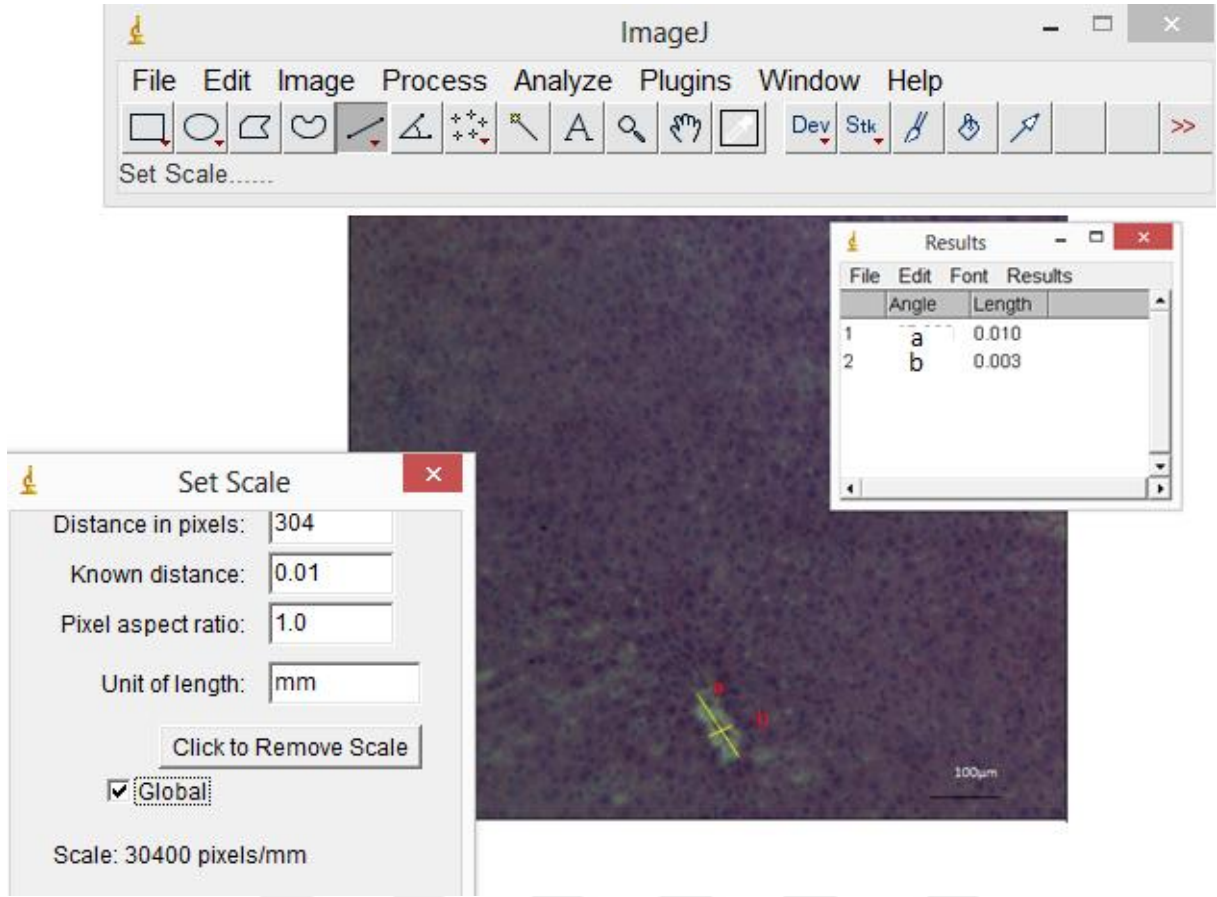
Ortalama ap= \sqrt{axb}

a: Büyük ap

b: Büyük çapın orta noktasından dik olarak geçen ap

3.8. Verilerin incelenmesi ve istatistiksel analizler

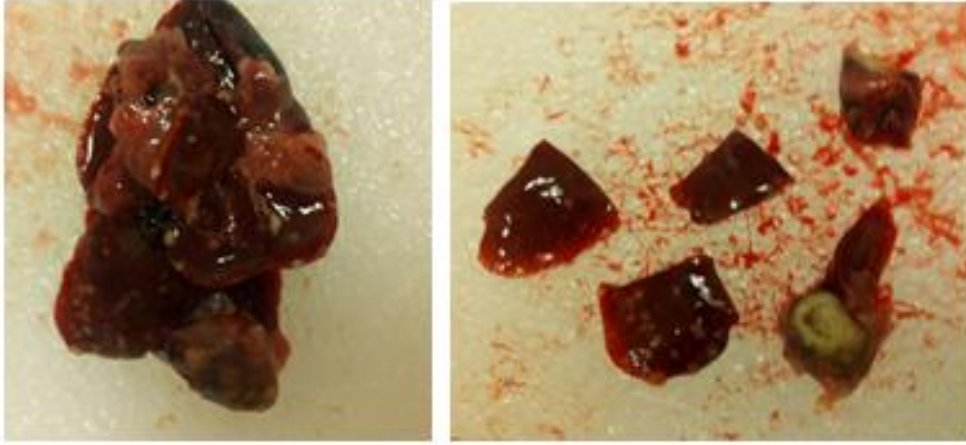
Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. DeęiŐkenlerin dağılımı Kolmogorov Simirnov Test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Mann-whitney u test kullanıldı. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları sağlanmadığında fischer test kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanıldı.



Şekil 3. 6. İmage j'de ortalama çap ölçümü.

4. BULGULAR

Bir haftalık deney grubunda çoğunlukla mikroveziküler ağırlıklı makroveziküllerin de olduğu steatozis gözlemlendi. Hepatoselüler balonlaşmaya rastlanmadı. Lobüler inflamasyonlar vardı. İki haftalık deney grubunda; steatozis makroveziküler ağırlıklı idi. Lobüler inflamasyon vardı. Hepatoselüler balonlaşmaya rastlandı. Bunun yanında perisinüzoidal fibroz ve portal fibrozis mevcuttu. Lipogranülomlar büyük boyuttaydı (Şekil 4.1). Sham grubunda ise steatozis balonlaşma ve lobüler inflamasyon görülmedi. Deney grupları için NAFLD skorlaması ve steatohepatit derecelendirmesi Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1: Lipogranülom ve 2 haftalık deney grubundan karaciğerin makroskobik görüntüsü

Tablo 4.1. Deney gruplarının non alkolik steatohepatit için derecelendirilmesi ve evrenmesi.

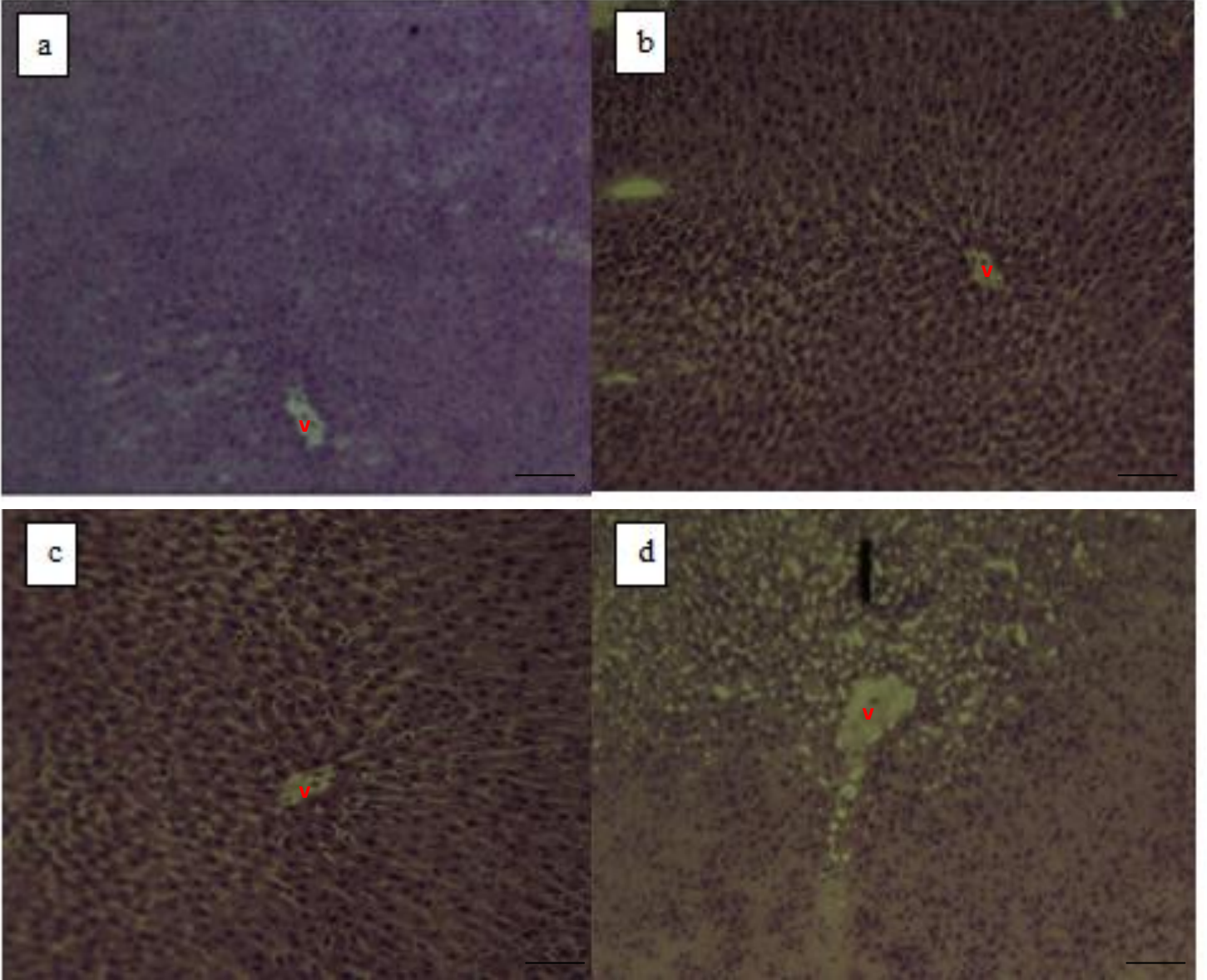
Deney adı	Derece	Evre
1 haf. 1	1	0
1 haf. 2	1	0
1 haf. 3	1	1
1 haf. 4	1	1
1 haf. 5	1	1
1 haf. 6	1	0
1 haf. 7	1	0
2 haf. 1	3	3
2 haf. 2	3	3
2 haf. 3	3	3
2 haf. 4	3	3
2 haf. 5	3	3
2 haf. 6	3	3
2. haf.7	3	3

Tablo 4.2. Deney gruplarının non alkolik yağlı karaciğer hastalığı aktivite skoru bileşenleri.

Deney adı	Steatozis skor	Lobüler inf. Skor	Balonlaşma Skor
1 haf. 1	1	0	0
1 haf. 2	1	0	0
1 haf. 3	1	1	0
1 haf. 4	1	1	0
1 haf. 5	1	1	0
1 haf. 6	1	0	0
1 haf. 7	1	0	0
2 haf. 1	2	2	1
2 haf. 2	2	2	1
2 haf. 3	2	2	0
2 haf. 4	2	2	0
2 haf. 5	2	2	1
2 haf. 6	2	2	0
2. haf.7	2	2	1

Morfometrik Bulgular

Bir ve 2 haftalık deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çapları aynı haftalık sham grubu sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösterdi ($p<0.05$) (Şekil 4.2). Buna göre: 1 haftalık deney grubu sıçanlarda bu değer $8.052 \mu\text{m}$ iken; 1 haftalık sham grubu sıçanlarda $5.706 \mu\text{m}$ olarak hesaplandı. 2 haftalık deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çapı $10.737 \mu\text{m}$ olarak bulunurken; bu değer 2 haftalık sham grubu sıçanlarda $5.898 \mu\text{m}$ olarak saptandı (Tablo 4.3 ve 4.4).



Şekil 4.2.: a: 1 haftalık sham v. centralis, b:1 haftalık deney grubu v. centralis, v. centralis; c: 2 haftalık sham v. centralis, d: 2 haftalık deney v. centralis, v: V.centralis (HE boyama, X160, bar: 100µm) Bir haftalık kontrol ve deney grubu sıçanlarda v. centralis'in ışık mikroskopik görüntüleri

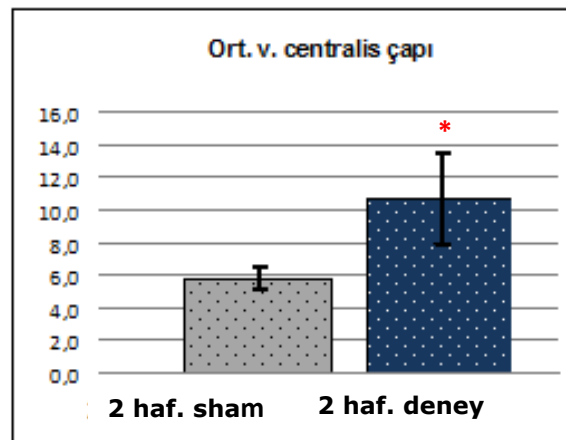
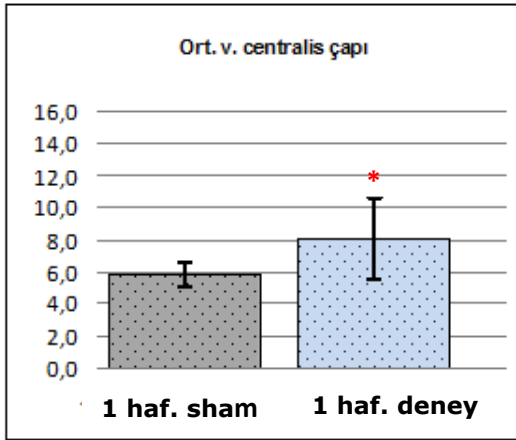
Tablo 4.3: 1 ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çap değerleri (μm) ($p < 0.05$).

1 haf. sham	Çap μm
1	5,6
2	5,427
3	4,513
4	6,681
5	6,89
6	5,87
7	5,99
Ort.	5,706

2 haf. sham	Çap μm
1	5,359
2	5,056
3	5,12
4	6,976
5	6,89
6	5,758
7	6,128
Ort.	5,898

1 haf. deney	Çap μm
1	6,636
2	7,201
3	5,92
4	12,57
5	6,183
6	9,898
7	8,943
Ort.	8,052

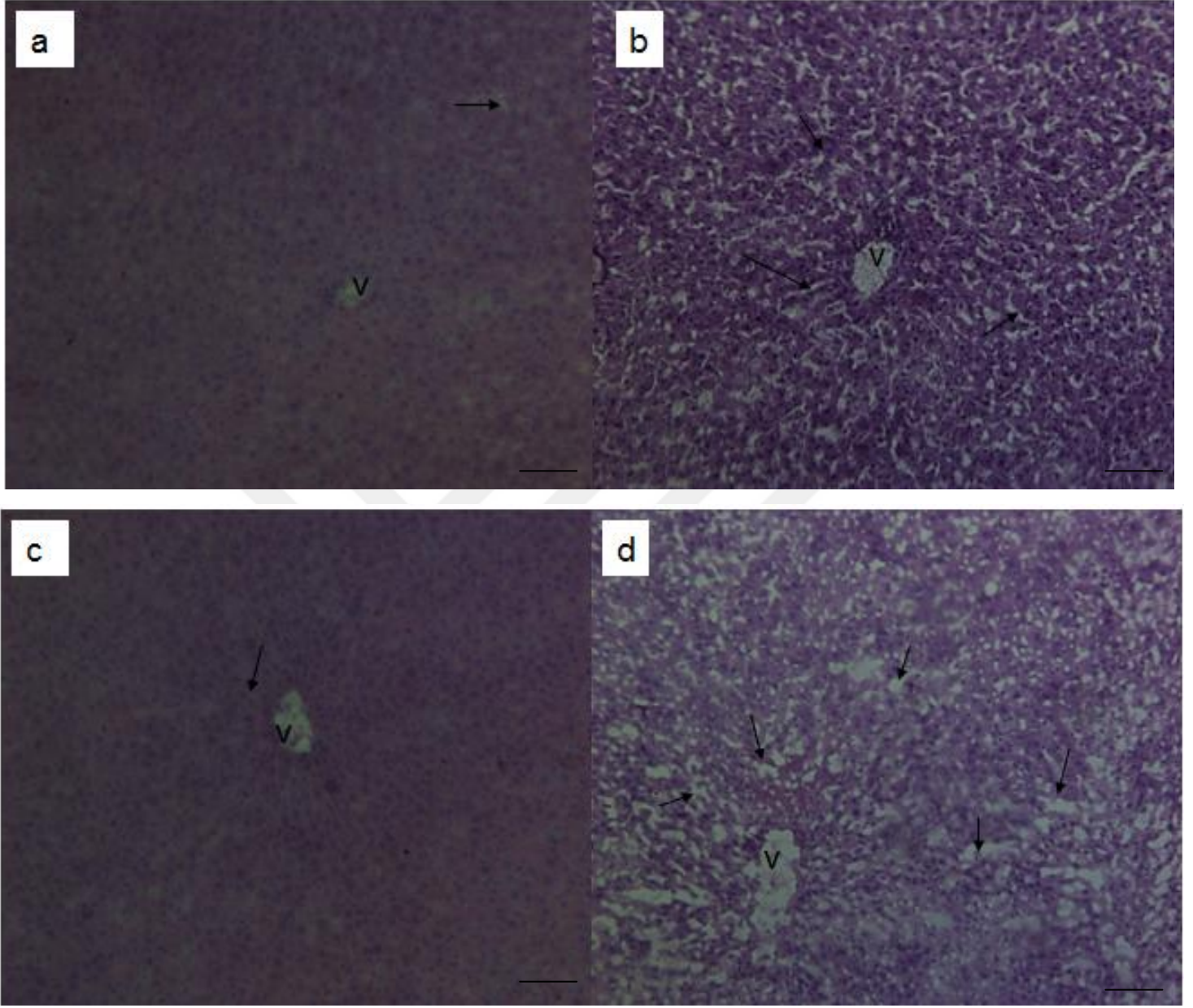
2 haf. deney	Çap μm
1	7,084
2	12,309
3	9,211
4	15,421
5	12,369
6	9,007
7	9,756
Ort.	10,737



Tablo 4.4: 1 ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda ortalama v. centralis çap grafiği ($p < 0.05$).

Karaciğerlerdeki sinüzoid/karaciğer parankimi oranlarına bakıldığında; 1.haftalık deney grubunda sinüzoidal genişleme oranları sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). İkinci hafta deney grubunda ise sinüzoidal genişleme hem sham grubuna hem de 1 haftalık deney grubuna göre oldukça yüksekti ($p < 0.05$). Bir haftalık deney grubunda Vv 14,8 iken 2 haftalık deney grubunda Vv 22,4 olarak tespit edildi. Bir haftalık deney grubunda da sham grubuna göre parankiminin azaldığı ve sinüzoidal aralığın arttığı tespit edildi. Böylece 2 haftalık deney grubunun

parankimasının ciddi oranda azaldığı ve sinüzoidal aralığın arttığı görüldü (Tablo 4.5 ve 4.6), (Şekil 4.3)

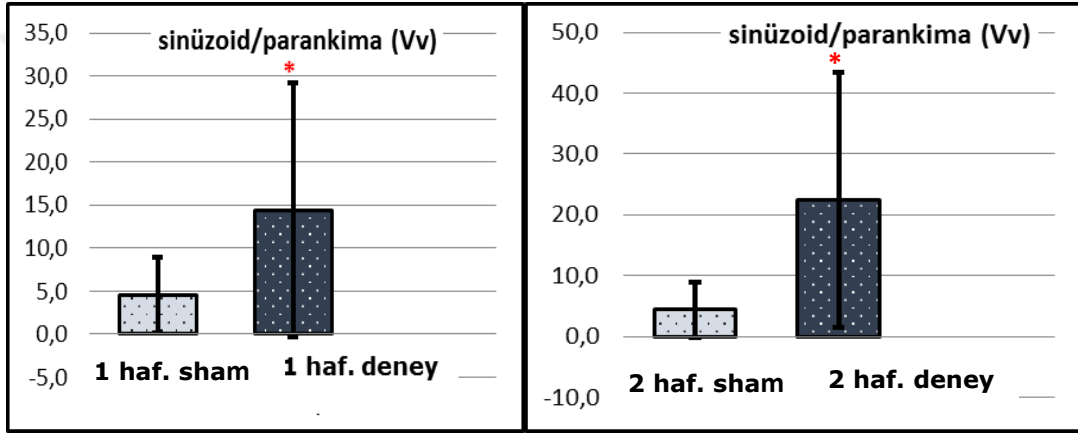


Şekil 4.3: a: 1 haftalık sham, b:1 haftalık deney grubu,c: 2 haftalık sham, d: 2 haftalık deney grubu parankima/sinüzoid oranı (HE boyama, X160, bar: 100μm,). Bir ve 2 haftalık sham ve deney grubu sıçanlarda sinüzoidlerin ve karaciğer parankiminin ışık mikroskopik görüntüleri. Ok: sinüzoidleri göstermektedir

Tablo 4.5: 1 ve 2 haftalık sham ile deney grubu sıçanlarda sinüzoid/karaciğer parankimi oranları (Vv).

1 haf. sham	Vv	1 haf. deney	Vv
1	4,6	1	14,7
2	2,3	2	3,6
3	7,1	3	14,5
4	6,0	4	20,6
5	2,3	5	17,8
6	4,5	6	12
7	4,5	7	18,2
Ort.	4,4	Ort.	14,4

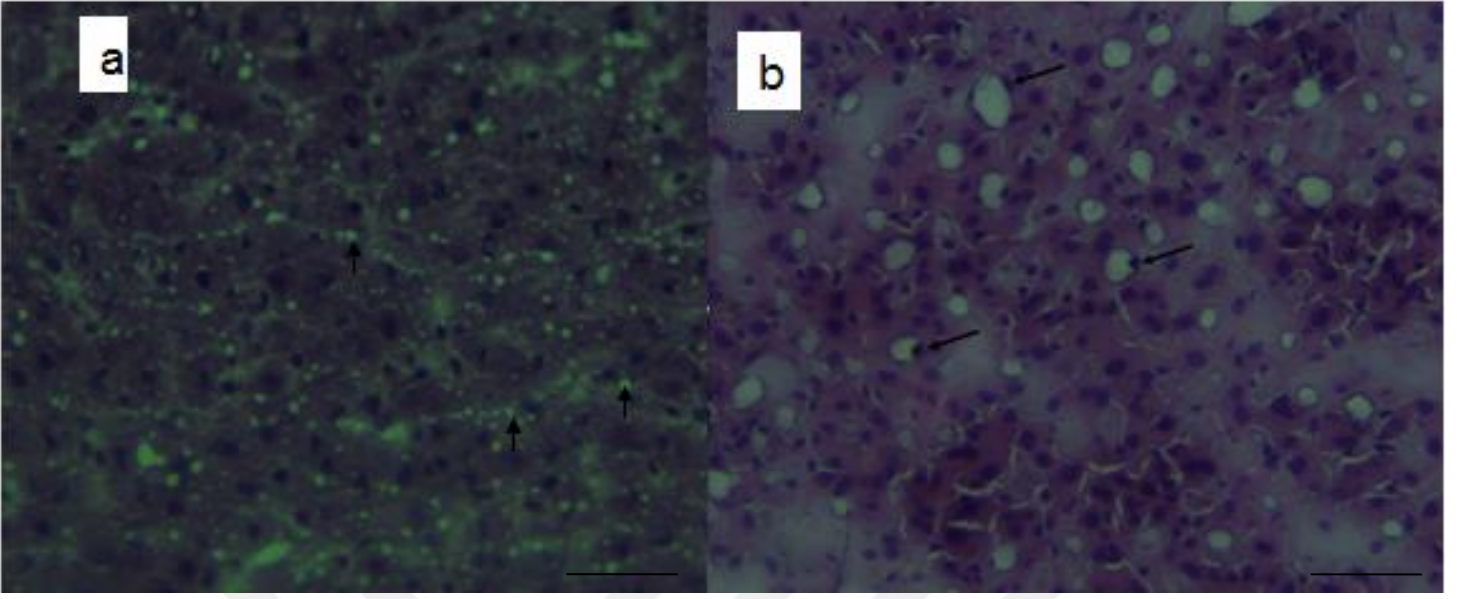
2 haf. sham	Vv	2 haf. deney	Vv
1	5,7	1	29,3
2	2,5	2	25,3
3	4,9	3	19,9
4	4,3	4	18,5
5	4,4	5	21
6	4,4	6	23,8
7	4,4	7	19
Ort.	4,4	Ort.	22,4



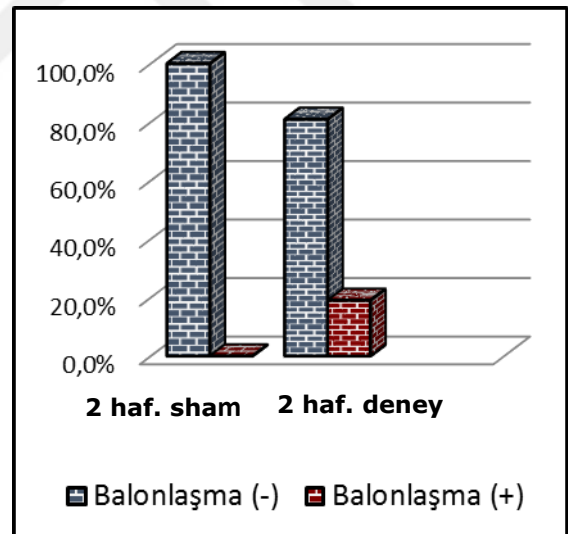
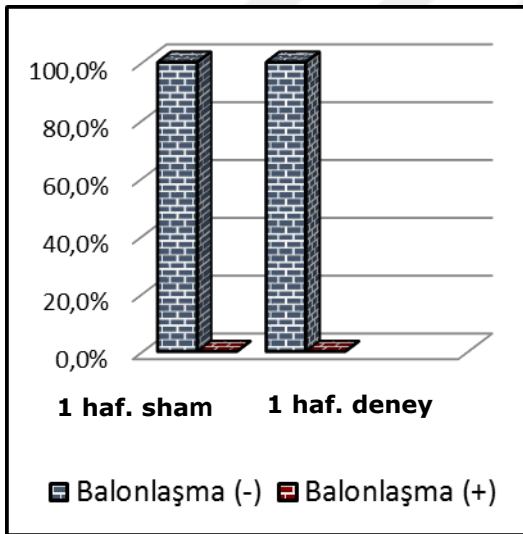
Tablo 4.6: 1 ve 2 haftalık sham ile deney grubundaki sıçanlarda sinüzoid/karaciğer parankimi oranlarının grafiği (Vv) ($p < 0.05$).

Histolojik ve Floresan Boyama Bulguları

Balonlaşmaya 1 haftalık deney gruplarında nadir olarak rastlandı ancak 2 haftalık deney gruplarında balonlaşma gözlemlendi. İkinci hafta grubunda balonlaşma oranı birinci hafta grubundan ve sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). 1.hafta grubunda ve sham grubunda balonlaşma oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Tablo 4.7) (Şekil 4.4).



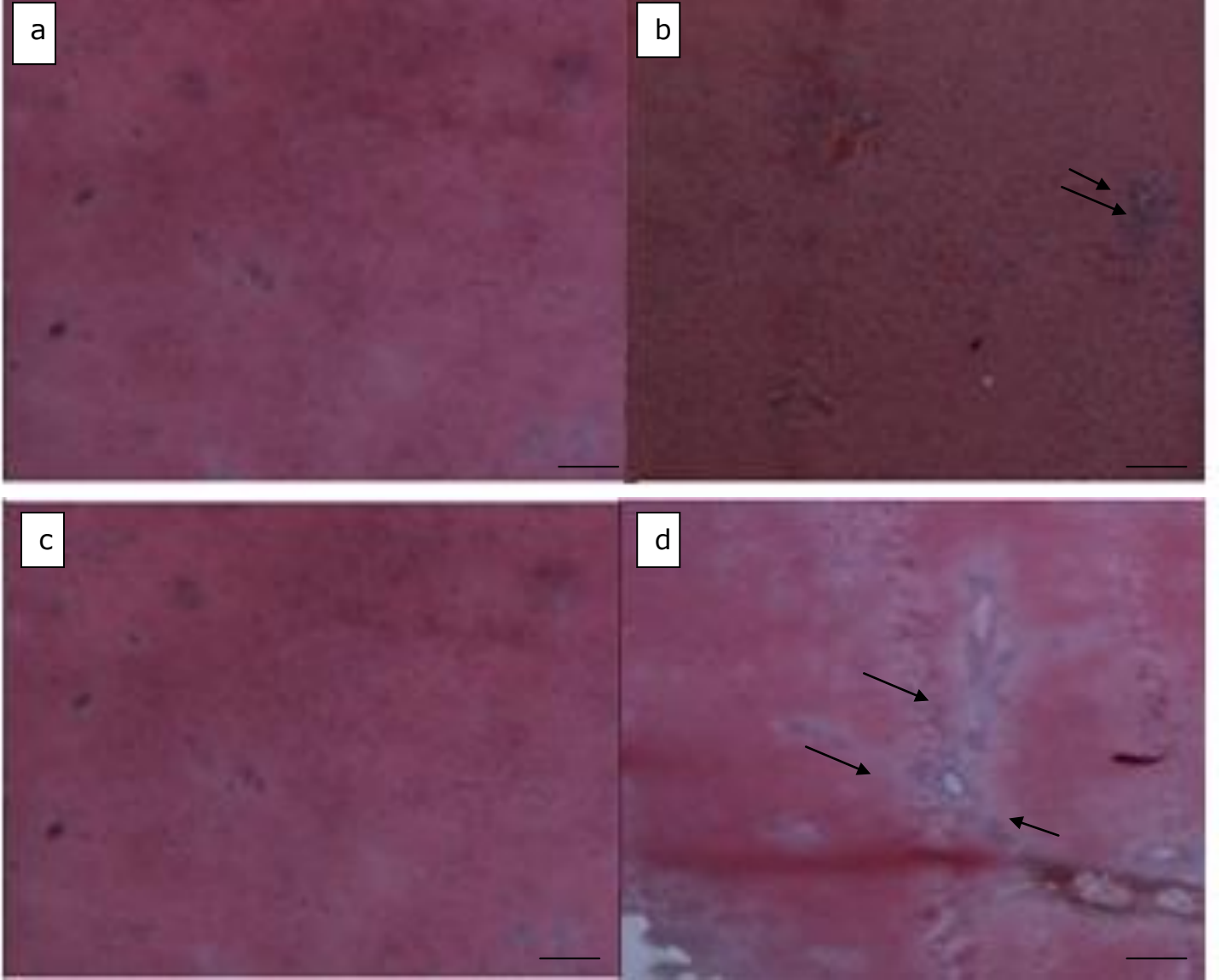
Şekil 4.4: a: 1 haftalık deney grubu ve b: 2 haftalık deney grubunda balonlaşmanın varlığı. Kısa siyah oklar mikroveziküler balonlaşmayı uzun siyah oklar makroveziküler balonlaşmayı göstermektedir (HE boyama 200X, bar: 100µm).



Tablo 4.7: 1 ve 2 haftalık sham ile deney grupları arasındaki hepatoselüler balonlaşma varlığını göstermektedir ($p < 0.05$).

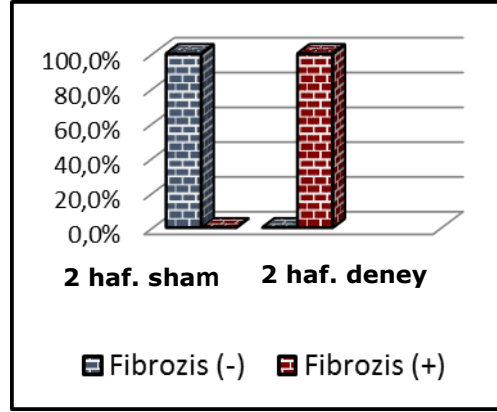
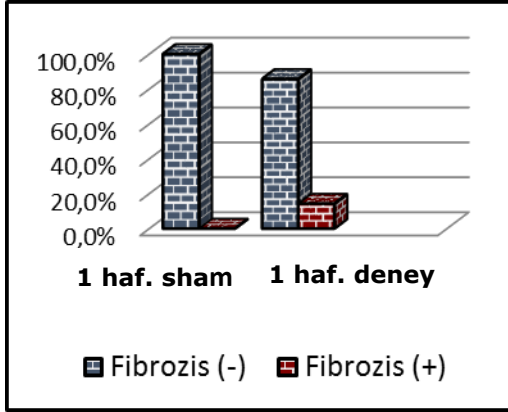
Masson trichrome ile boyanmış kesitlerde 1 haftalık deney gruplarında fibrozis çok gözlemlenmese de daha çok periportal alanda mevcuttu. İki haftalık deney gruplarında çoğunlukla periportal olmak üzere bazı sıçanlarda perisünizoidal fibroze rastlandı. İkinci hafta grubunda fibrozis oranı birinci hafta grubundan ve sham grubundan anlamlı olarak

daha yüksekti ($p < 0.05$). Birinci hafta grubunda fibrozis oranı sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$), (Tablo 4.8), (Şekil 4.5).

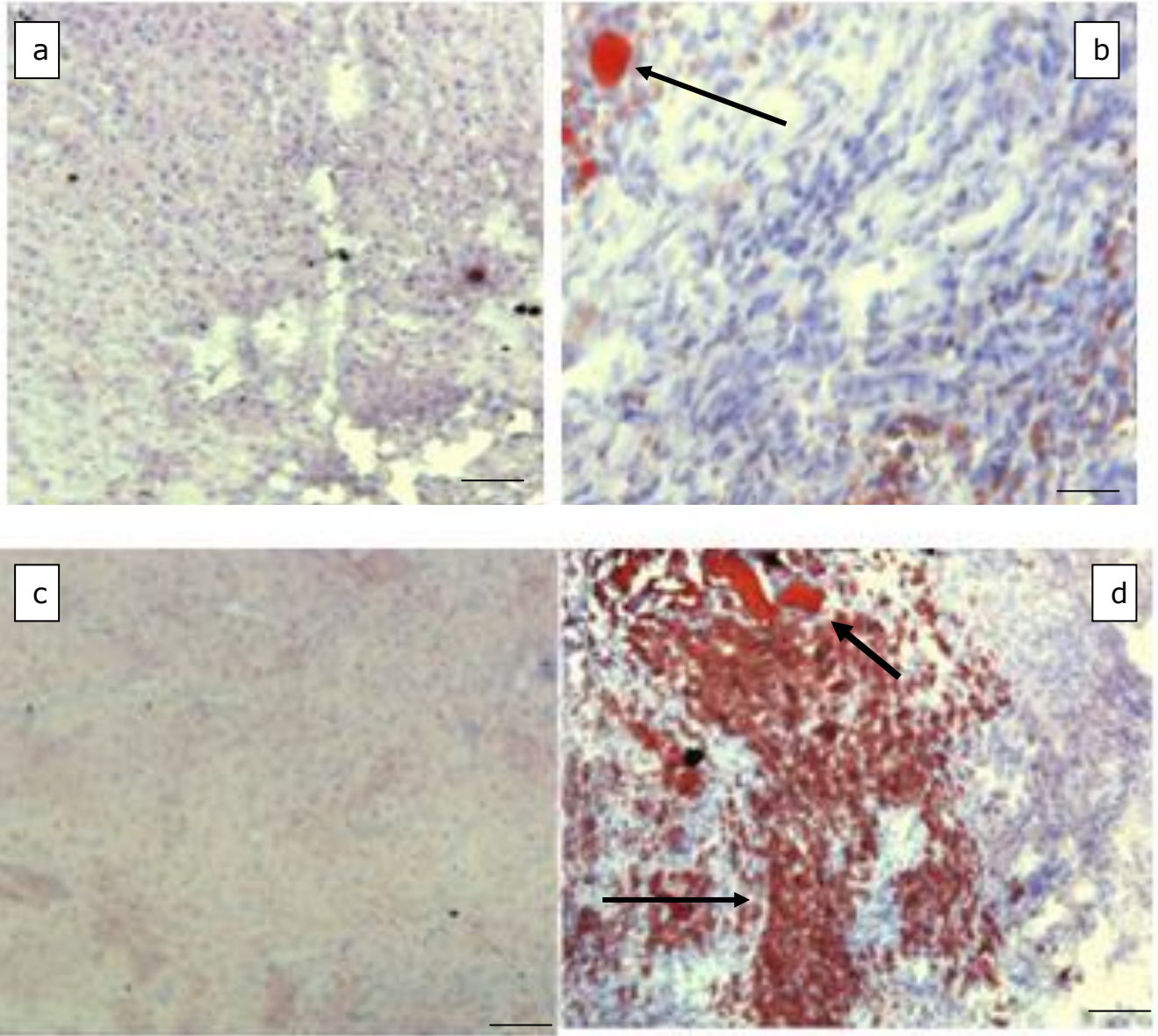


Şekil 4.5: a: 1 haftalık sham, b: 1 haftalık deney grubunda hafif periportal fibrozis gösterilmektedir, c: 2 haftalık sham, d: 2 haftalık deney grubu. perisinüzoidal ve periportal fibrozis gösterilmektedir (Mason trichrome boyama, 160X, bar: 100 μ m) siyah ok: fibrotik alanları göstermektedir.

Tablo 4.8: 1 ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında fibrozis düzeyini göstermektedir ($p < 0.05$).

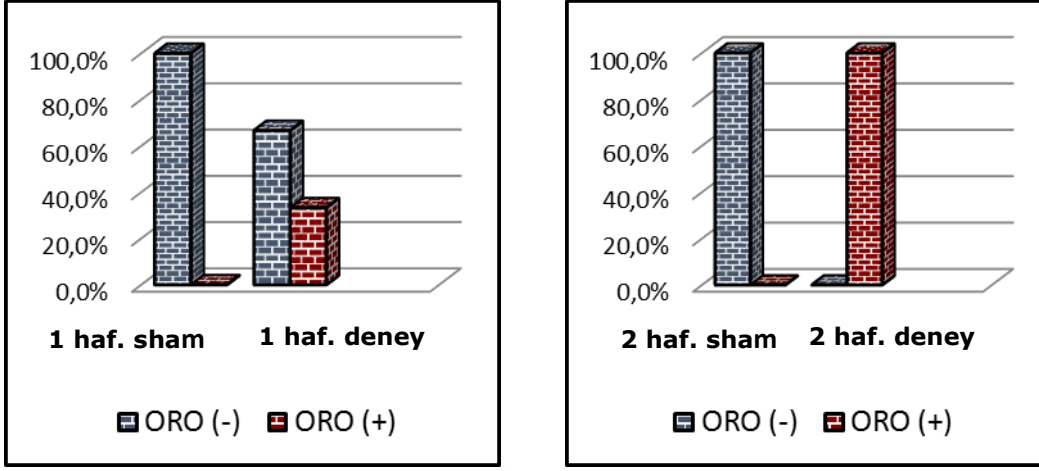


Oil red o ile yapılan boyama sonrasında 1 haftalık deney grubunda yağ granüllerinin oranı sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). İkinci hafta grubunda yağ granüllerinin görülme oranı birinci hafta grubundan ve sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Sonuçlar bize 2 haftalık deney grubunda sham lere ve 1 haftalık deney grubuna oranla daha fazla yağlanma olduğunu gösterdi (Tablo 4.9), (Şekil 4.6).

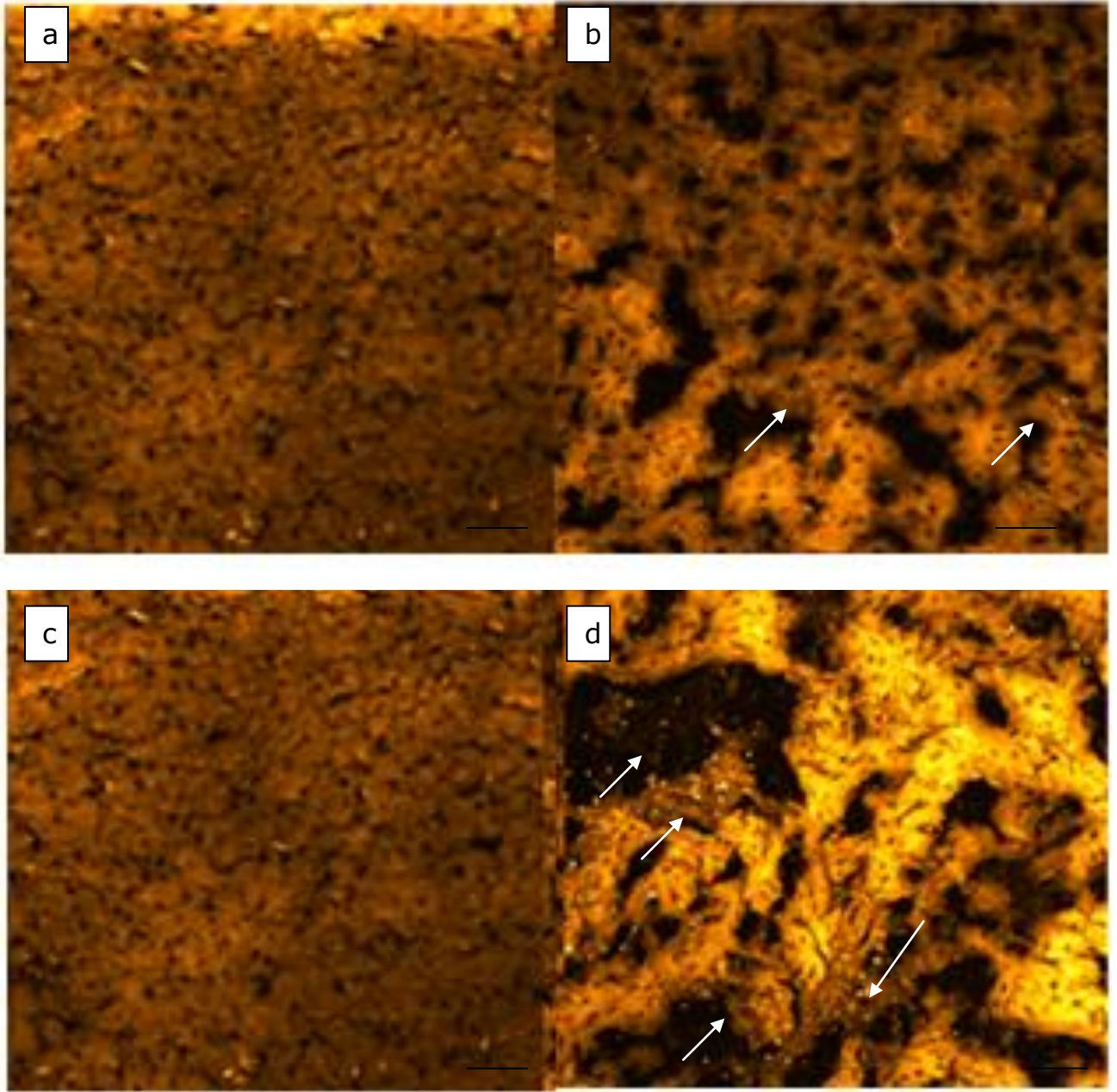


Şekil 4.6: a: 1 haftalık sham , b: 1 haftalık deney grubu ,c: 2 haftalık sham, d:2 haftalık deney grubu. Işık mikroskopunda gösterilmektedir. (Oil red o boyama, 160X, bar: 100µm) siyah oklar: yağ granülü göstermektedir

Tablo 4.9: 1 ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında yağlanma oranını göstermektedir ($p < 0.05$).

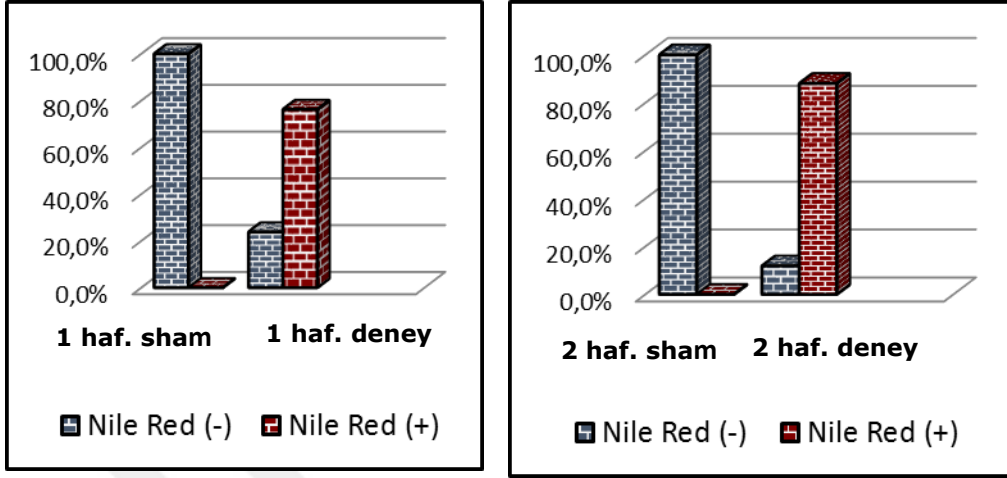


Birinci hafta ve ikinci hafta grubunda Nile red boyamada floresan ışımının görülme oranı sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.001$). 1.hafta grubunda ve 2.hafta grubunda Nile red oranı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Sonuçlar karşılaştırıldığında 2 haftalık deney grubunda 1 haftalık deney grubuna oranla daha fazla yağ asiti salınımı oluşmuştur (Tablo 4.10), (Şekil 4.7).

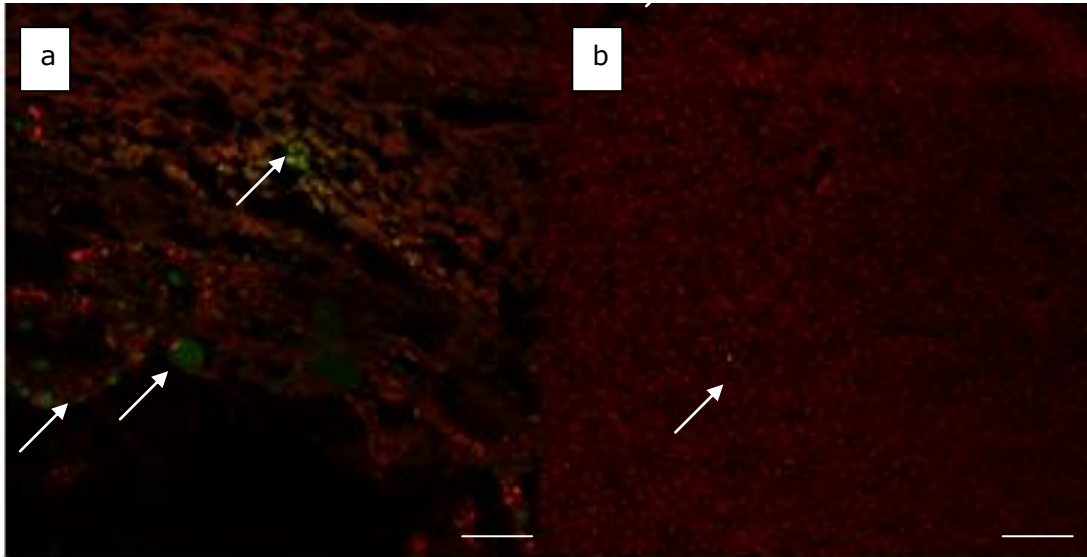


Şekil 4. 7: a: 1 haftalık sham, b: 1 haftalık deney grubu, c: 2 haftalık sham, d: 2 haftalık deney grubu. Beyaz ok: Altın sarısı şekilde ışımalar yağ asitlerini göstermektedir. (Nile red boyama, 100X, bar: 100µm konfokal mikroskop)

Tablo 4.10: 1 ve 2 haftalık sham ile deney gruplarında Nile red boyamada floresan ışımının düzeyini göstermektedir ($p < 0.05$) .

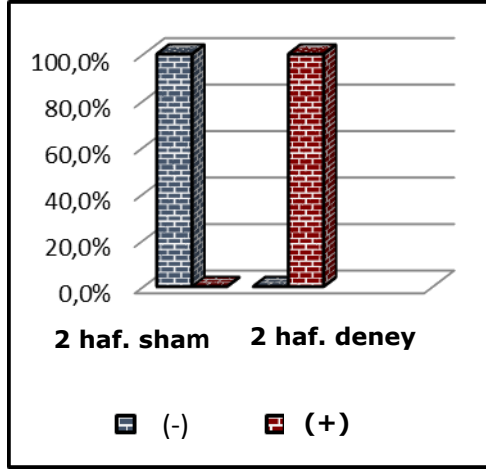


İkinci hafta grubunda Bodipy boyamada floresan ışımaya görülme oranı sham grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.05$). Bu sonuçlar 2 haftalık deney grubunda 1 haftalık deney ve sham gruplarına göre daha fazla intraselüler yağ birikiminin olduğunu göstermektedir (Tablo 4.11), (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: a: 2 haftalık deney grubu, b: sham grubu. Yeşil noktalar bodipy floresan boyanın ışımalarının görüldüğü odaklardır. İntraselüler yağ birikimini göstermektedir (Bodipy boyama; 100X, bar: 100 μ m, Konfokal mikroskop)

Tablo 4.11: 2 haftalık deney ve 2 haftalık sham gruplarında Bodipy boyamayla ışımının varlığı ($p<0.05$).



Biyokimyasal Bulgular

Deney gruplarında sham gruplarına göre ALT değeri artış göstermiş olmasına rağmen 1.hafta grubunda, 2.hafta grubunda ve sham grubunda ALT değeri anlamlı farklılık göstermemiştir ($p> 0.05$).

Bir haftalık deney grubunda sham grubuna göre AST artışı olsa da anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak 2 haftalık deney gruplarında sham gruplarına göre AST değerinde anlamlı olarak artış görülmüştür ($p<0.05$). Bu bulgu bize 2 haftalık deney grubunda hücre hasarının olduğunu göstermektedir (Tablo 4.12 ve 4.13).

Tablo 4.12. 1 haftalık sham ve deney grubundaki sıçanların AST-ALT değerleri

Grup	ALT (U/L)	AST (U/L)
1 haf. sham		
1	166,9	347
2	88,9	177,9
3	63,5	119,2
4	101	188,6
5	64	108,8
1 haf. deney		
1	72,9	150,6
2	50,2	110,7
3	139	408,6
4	63,1	224,2
5	68,4	188,5
6	116,4	261,4
7	61,3	175,1

Tablo 4.13: 2 haftalık sham ve deney grubundaki sıçanların AST-ALT değerleri

Grup	ALT (U/L)	AST (U/L)
2 haf. sham		
1	55,2	142,7
2	70,5	180,1
3	111,2	213,6
4	129,2	165,3
5	52,1	111,4
2 haf. deney		
3	89,7	222
4	69,4	163,9
5	77,9	292,1
6	139,7	378,9
7	210,7	659,9

Karaciğer Perfüzyon Bulguları

Sıçanların karaciğerlerinden kan akımı için yaptığımız laser speckle mikroskopuyla görüntüleme öncesinde 2 haftalık deney grubundan iki sıçan öldüğü için onlardan görüntü alınamadı. İki haftalık deney grubunda bazı alanlarda kan akımı 1 haftalık ve sham grubuna göre azalış göstermiş olsa da 1.hafta grubunda, 2.hafta grubunda ve sham grubunda kan akımı değişimi istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14: Karaciğerdeki kan akımının alanlara göre değişimi (Laser speckle velosimetri).

1haftalık Deney	1. alan	2. alan	3.alan	4.alan	5.alan	6. alan	7. alan	Ortalama
1 haf 1	57,72	75,96	108,53	99,49	90,91	95,06	118,7	92,3386
1 haf 2	117,32	114,42	126,8	89,63	38,49	110,64	56,27	93,3671
1 haf 3	190,12	186,1	214,25	244,95	141,39	108,12	228,84	187,681
1 haf 4	128,82	97,85	148,2	134,88	142,37	145,52	160,37	136,859
1 haf 5	128,82	97,85	148,2	134,88	142,37	146,52	160,37	137,001
1 haf 6	77,1	59,58	77,9	89,06	117,05	76,07	76,59	81,9071
1 haf 7	37,02	45	17,39	51,94	23,51	45,43	48,03	38,3314
2 haftalık Deney								
Deney 3	141,27	137,28	107,93	120,75	120,75	65,01	119,28	116,039
Deney 4	141,27	137,28	107,93	120,75	65,01	119,28	158,49	121,43
Deney 5	149,49	147,52	121,48	124,43	63,36	82,62	166,74	122,234
Deney 6	219,53	186,91	135,98	100,21	6,99	158,49		134,685
Deney 7	93,57	105,95	118,95	94,42	147,93	81,77	98,77	105,909
Kontrol								
Kontrol 1	263,13	259,75	248,67	230,91	171,2	185,95	212,16	224,539
Kontrol 2	180,47	172,58	176,91	166,69	165,09	164,44	167,31	170,499
Kontrol 3	208,95	44,49	141,34	95,46	200,53	161,77	184,19	148,104
Kontrol 4	259,39	13,58	176,56	334,19	125,19	184,61	206,19	185,673
Kontrol 5	160,84	93,72	170,51	164,51	157,94	185,2	184,79	159,644
Kontrol 6	108,26	29,98	59,7	81,75	8,75	209,3	54,67	78,9157
Kontrol 7	94,29	148,68	194,24	148,3	198,9	154,81	155,56	156,397

5. TARTIŞMA

NAFLD, metabolik sendromun hepatik belirtisidir ve dünyadaki en yaygın karaciğer hastalıklarından biridir. NAFLD kademeli olarak karaciğer inflamasyonu, fibrozis, siroz ve hatta hepatosellüler karsinoma ilerleyebilir. NASH'li hastalar ilerleyici fibrozis gelişme riski altındadır. Hastalık geçmişi 6 yıldan fazla olan vakaların %50'sinde fibrozis bildirilmiştir (Li vd., 2017). Araştırmacılar NAFLD'nin çeşitli patolojilere sahip heterojen bir hastalık olduğunu ve NAFLD'nin farklı fenotipli hastalarda, çeşitli hastalıklara neden olabileceği yönünde bir tanımda bulunmaktadır. Bununla birlikte, NAFLD patogenezinin karmaşık olduğu ve NAFLD için etkin bir ilaç tedavisi henüz kurulamadığı belirtilmektedir (Xu vd., 2014).

NAFLD ve NASH'a ait bilgiler, daha önce yapılan çalışmalar sonunda bu hastalık için uygun modellerin bulunması ile sınırlıdır. İlgili karaciğer patolojisinin uygun bir metabolik bağlamda geliştiği bir dizi kemirgen modeller tarif edilmiştir. Bu modeller, NASH üzerinde çalışan araştırmalar için anahtar rol oynamaktadır. Bunlar NASH'ın neden oluştuğundan ziyade basit steatozdan inflamasyona ve progressif fibrozis durumuna geçişine yani steatohepatitin oluşumuna yöneliktir.

Farklı kemirgen modelleri iki büyük gruba ayrılabilir. Birinci model olarak hastalığın diyetten sonra edinildiği modeller, ikinci model olarak farmakolojik manipülasyon ve karaciğer hastalığının kendiliğinden geliştiği genetik olarak modifiye edilmiş modellerdir. Bugüne kadar tek bir kemirgen model bile insanda bu hastalığın ilerleyiş süreçlerini açıklayamamış, ancak bu modeller insandaki hastalığın özelliklerini taklit edebilmektedir. Bu nedenle, araştırmacıların uygun kemirgen modellerini seçmeleri önemlidir (İmajo vd., 2013).

NAFLD / NASH gelişim mekanizmalarına yönelik klinik araştırmalar özellikle doku örneklerinin elde edilmesiyle ilgili etik hususların yanı sıra, interaktif patojenik yolların içinde olduğu bu hastalığın nedeni ve etkisi arasındaki karmaşıklığı tanımlamamasından dolayı sınırlı bilgi vermektedir (Day, 2002). Anlaşılacağı gibi NASH için tedavi edici seçenekler, etiyoloji ve patogenetik mekanizmaların tam belli olmaması nedeniyle istenilen gelişimi gösterememiştir (Wanless ve Shiota, 2004; Farrell ve Larter, 2006; London, 2007; Cohen vd., 2011). Kemirgen modelleri, bu durumdan sorumlu moleküler mekanizmaların anlaşılmasına yönelik kritik bilgiler sağlayabilir. Dahası, NAFLD / NASH'nin kemirgen modelleri bu hastalığın etyolojisini anlamak için önemlidir ve bu durum için etkin tedavilerin geliştirilmesi için oldukça yararlı modellerdir (Koteish ve Diehl, 2001; Fan vd., 2005; Larter, 2007). Son yıllarda, insan NAFLD / NASH patogenezinin andıran birçok yeni kemirgen modelleri tarif edilmiştir. Bu modeller, NAFLD / NASH'deki kilit konuları araştıran araştırmacılar için umut verici araçlar gibi gözükmemektedir (İmajo vd., 2013).

NAFLD / NASH, kemirgen hayvanlarda, karaciğer yağ alımında değişikliklere neden olan çok çeşitli faktörler kullanılarak basitçe modellenebilir. Bu durum yağ asitlerinin alınımında ve atılımında dengesizliklere neden olur. Alternatif olarak, hepatik kolesterolda bir artış, kemirgenlerde NAFLD / NASH'ye neden olabilir. Ayrıca, endotoksin ile indüklenen karaciğer enflamasyonu da NAFLD / NASH patogenezi için neden olabilir.

Kemirgenlerde NAFLD / NASH indüksiyon modellerinden bazıları aşağıda verilmiştir;

- (I) karaciğer yağ asiti artışı ile oluşan modeller
- (II) artmış de novo lipogenezi olan modeller
- (III) indirgenmiş oksidasyonlu modeller
- (IV) düşük-yoğunluklu lipoprotein (VLDL) sekresyonunu azaltan modeller
- (V) artmış hepatik kolesterollü modeller
- (VI) endotoksin ile indüklenen karaciğer enflamasyon modelleri

Bu modellerdeki verilerin açıkça desteklediği şey; hepatik steatozun gelişmesinde yağ asitlerinin karaciğer içi dolaşımındaki rolüdür (Donnelly vd., 2005). NAFLD'nin olduğu hastalarda yağ asitleri artmış ve hepatik tutulumlarıyla hastalık ortaya çıkmaktadır (Nehra vd., 2001). NAFLD'li hastalarda yağ asiti metabolizması, insülin direnci, dislipidemi ve TG düzeyleri arasında fizyolojik etkileşimler mevcuttur (Kim vd., 2000; Previs vd., 2000; Angulo, 2002; Petersen vd., 2005; Utzschneider ve Kahn, 2006; Abdelmalek ve Diehl, 2007; Koch vd., 2008). Buna ek olarak, yağ asitleri insülinle uyarılan glukoz alınımını inhibe eder (Blüher, 2002; Reddy ve Rao, 2006). Buna göre karaciğere artmış yağ asiti verilmesi NAFLD patogeneziyle ilişkili gibi gözükmektedir. Karaciğere artmış yağ asiti verilmesi temelli modeller; "Yüksek yağlı diyet alımını içeren modeller", "İştah artışı modelleri", "Yağ dokusunda bozuk lipid sentezi olan modeller", "Glukokortikoid artışı olan modeller ve" İnsülin direnci artırılmış modeller" olarak sayılabilir.

Yüksek yağlı diyetle beslenen modellerde, yüksek yağ içerikli bir yemek tüketildikten sonra önemli miktarlarda şilomikron-TG karaciğere verilir ve lizozomlarda lipoliz geçirilerek yağ asiti olarak salınır. Bu şekilde oluşan fazla miktarda yağ asitleri, steatoz, diyabet ve obezite oluşmasına neden olur (Donnelly vd., 2005). Bu modeller, NASH'ninkine benzer nitelikler üretmek için fizyolojik olmayan bir prosedür gerektirmediğinden dolayı yararlı ancak, minimal fibroz miktarı ve HCC yokluğu olduğu için sınırlı modellerdir.

Kronik olarak HFD'ye maruz bırakılan modellerde kullanılan C57 / BL6 fareleri, ad libitum yüksek yağlı diyetle beslendiklerinde obezite, hiperinsülinemi, hiperglisemi ve hipertansiyon geliştirdiği için insan metabolik sendromunu incelenmesinde iyi bir modeldir. Ancak bu farelerin diyet alımı normal yemekle sınırlandırıldığında fiziksel olarak normal ya da

zayıf kalmaktadırlar. (İto vd., 2006). Bu modellerde yakın zamanda yapılan uzun süreli bir çalışmada, glukoz toleransı ve erkek C57Bl / 6J farelerde hafif steatohepatit geliştiği gözlemlenmiştir (İto vd., 2007). Bununla birlikte, gelişmiş NASH'nin özellikleri olan şiddetli fibroz ve karsinom, uzun süre yüksek yağlı diyet maruziyetinden sonra bile ortaya çıkmamıştır.

İntragastrik olarak aşırı yağlı diyetle beslenen fare modelinde, farelere uzun süreli gastrotomi tüpü yerleştirilmiştir. Sıvı bir HFD ile aşırı beslenme yapılarak obezite ve insülin direnci oluşturulmuştur. Bu farelerin %46'sında, tümör nekroz faktörü (TNF) sinyali veya sitokrom P450 (CYP) 2E1 indüksiyonu yokluğunda artmış plazma alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri ile steatohepatit (hafif fibroz dahil) gelişmiştir (Denk vd., 2005). Bununla birlikte, bu modeli üretmek için gerekli prosedürün oldukça karışık olduğundan bahsedilmektedir.

Kısa süre önce yayınlanmış bir kemirgen besleme modelinde, tel raflar içine sıkıştırılarak hareketleri engellenmiş ve fruktoz şurubu, trans ve doymuş yağ asitleri ile zenginleştirilmiş "fast food" beslenme kompozisyonunu taklit eden bir beslenme tipi ile HFD oluşturulmuştur (Tetri vd., 2008). Sonuçta bu farelerde şiddetli obezite, glukoz intoleransı, hiperinsülinemi ve 16 hafta boyunca nekroinflamasyona sahip önemli hepatik steatoz gelişmiştir. Fruktoz bakımından zengin diyet, artan bakteriyel endotoksin bağırsak translokasyonu yoluyla proinflamatuvar sitokinlerin oksidatif stresine ve ekspresyonuna neden olmuş, portal kandaki endotoksin seviyesini yükseltmiş ve daha sonra Kupffer hücrelerinin aktivasyonuna neden olmuştur (Bergheim vd., 2008; Spruss vd., 2009; Kanuri vd., 2011; Tsuchiya vd., 2013). Nitekim, şeker açısından zengin bir diyetin, insanlarda NAFLD'nin gelişimi için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (Tappy vd., 2010) Bununla birlikte, bu modelde de şiddetli fibroz ve karsinom, uzun süreli maruziyete rağmen ortaya çıkmamıştır.

İştah artışı olan kemirgen modellerinde, diyetteki fazlalıklarının sonucunda karaciğerde yağ asiti artış göstererek steatoz ve metabolik sendroma neden olunmuştur (Garthwaite vd., 1980). Bu modeller içinden gıdaların alımını ve lipid metabolizmasını düzenleyen knockout MC4R'ye sahip farelerde, HFD verildiğinde steatohepatit ve hatta karaciğer fibrozisi ve hepatoselüler karsinom gelişmiştir (Balthasar vd., 2005; Itoh vd., 2011). MC4R'nin çeşitli patojenik mutasyonları, insanlardaki şiddetli erken başlangıçlı obezite ve NAFLD'yi büyük oranda göstermektedir. Bununla birlikte başka bir model olarak geliştirilen yağlı karaciğer Shionogi (FLS) - ob (FLS-ob) fareleri, çokgenik bir özellik sergiler ve dikkat çekici şekilde obezite ve diyabetik semptomlar geliştirirler. FLS-ob farelerde sadece hepatik steatoz gelişimi değil aynı zamanda fibrozlu steatohepatit gelişmiştir. Bu farelerde steatoz, FLS ve ob / ob farelerde olduğundan daha hızlı gelişir (Soga vd., 2010). Dahası, FLS-ob fareler, HCC'yi FLS farelerden daha erken geliştirirler. Bu iki model, insandaki NAFLD'ye en yakın modeller olsa da bütün bu gruba giren modeller, bilinen veya

bilinmeyen genetik anomalileri olan obezite modellerini içerir. Bu modeller NAFLD / NASH'yi incelemek için kullanıldığında, modellerin fizyolojik koşulların etkilerini yansıtmadığı belirtilmektedir.

Adipoz dokuda düzensiz lipid sentezi olan modellerde, yağ dokusunda düzensiz lipid senteziyle birlikte artmış yağ asiti akışı doğrudan portal sisteme yönlendirilir. Adipoz dokudan sistemik dolaşıma yağ asitlerinin salınım hızı, hormona duyarlı lipazın aşırı gen ekspresyonu (HSL) nedeniyle NAFLD'li obez hastalarda doğrudan artmaktadır (Nielsen vd., 2004). Yağ dokusunda bozuk lipid sentezi olan modeller, hepatik yağ asitlerindeki artışın sonucu olarak, insan NAFLD / NASH'deki duruma benzer şekilde steatoz sergilemişlerdir. Bununla birlikte, bu modeller yağ dokusundaki azalma nedeniyle obezite göstermez oysa obezite insan NAFLD / NASH için vazgeçilmez bir semptomdur. Bu nedenle, bu modeller, adipositokinlerin yağ dokusundan etkilenmemesi nedeniyle dezavantajları olan modellerdir.

Artmış glikokortikoidli modellerde, glikokortikoidler (GC), lipogenez uyarır ve lipolizi inhibe ederler. Bunlar abdomen, ense ve yüzde yağın birikmesinde büyük etkiye sahiptirler. Dolaşımda GC seviyesinin artmasıyla artan yağ asitleri, steatoz, iç organlarda yağ birikimi, insülin direnci, diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve artmış kardiyovasküler hastalık riski taşımaktadırlar. GC artışı olan modeller, steatozdan steatohepatiteye kadar çeşitli özellikler gösterir, ancak fibroz ve HCC gözlenmez.

İnsülinin sadece glikoz alımını düzenlemekle kalmadığı aynı zamanda yağ dokusu lipolizini ve hepatik glikoz üretimi sürecini baskıladığı bilinmektedir (Gilham vd., 2009). Dolayısıyla, insülin duyarlılığı hem sağlık hem de hastalık koşullarında glikoz dengesine en büyük katkıyı sağlamaktadır. Bu süreçlerden lipoliz, fizyolojik aralık içinde insüline en duyarlı olanıdır. Obez kişilerde ve diyabetli hastalarda maksimal etkinin %50'sini üreten insülin konsantrasyonu olarak tarif edilen insülin EC50, iki ila üç kat artar, bu da yağ dokusu lipolizinin, en azından kas ve karaciğerin insülinin etkisine karşı dirençli olduğunu gösterir. Karaciğer yağ dokusundaki insülinle uyarılan glikozun yok edilmesi, kasla karşılaştırıldığında kantitatif önem taşımazken, lipolizin insülin ile düzenlenmesi ve ardından gliserol ve yağ asitlerinin dolaşıma bırakılması, glikoz dengesi için büyük etkiye sahiptir. Sonuç olarak, yağ dokusunda insülinin antilipolitik etkisine karşı direnç, aşırı yağ asiti ve gliserol salınımı ile sonuçlanarak glikoz dengesi üzerinde zararlı etkiye sahip olur. Tüm bunlara rağmen, artmış insülin direnciyle oluşturulan modellerin iltihaplanma, fibrozis veya HCC göstermemesi gibi dezavantajları vardır (İmajo vd., 2013).

De novo lipogenezis (DNL), fazla olan karbonhidratların yağ asitlerine dönüştürülmesinden sorumlu metabolik yol olup, sonuçta gliserol 3-fosfat ile esterleştirilerek TG olmasıdır (Browning ve Horton, 2004). Aşırı glikoz,

yağ asiti sentezinin ana substratı olan asetil-CoA'ya metabolize olduğundan, yağ asiti yüksek karbonhidratlı yemeklere cevaben DNL'den de ortaya çıkabilir (Foufelle ve Fere, 2002). Asetil-CoA karboksilaz (ACC) ürünü olan Malonyl-CoA, sadece yağ asiti sentezi için bir substrat değildir, aynı zamanda uzun zincir yağ asitinin β oksidasyonu için mitokondriye girmesini düzenleyen karnitin palmitoiltransferaz 1'i (CPT1) inhibe eder (Trumblevd., 1995). Sağlıklı kişilerde DNL'nin total hepatik TG üretimine olan katkısı azdır ve salgılanan VLDL-TG'ye (1-2 g / gün) dahil edilen yağ asitlerinin %5'inden azını oluşturmaktadır. Bununla birlikte, NAFLD'li hastalarda DNL'nin total hepatik TG üretimine katkısı çok daha yüksektir ve salınan VLDL-TG'ye dahil edilen yağ asitlerinin %15 ila %23'ünü oluşturmaktadır. İnsülin duyarlılığı olan bireylerle karşılaştırıldığında, normal bir karaciğerde, TG içeriğine sahip olan insüline dirençli kişilerin, kas glikojen sentezi oranının çok daha düşük olduğu, yüksek karbonhidratlı yiyeceklerde alınan glükozun çoğunun karaciğer DNL'ye ve karaciğer TG sentezine doğru sapma gösterdiği görülmüştür. Artmış de novo lipogenezi ile oluşturulan modeller insülin rezistansı sergilese de, insan NASH'sinde yağ asiti seviyesinin artmış olması ve obezite göstermesi gerekir.

Yağ asiti oksidasyonu, mitokondri, peroksizomlar ve mikrozomlarda ortaya çıkar. Oksidasyon ya β oksidasyonu olarak COOH'ye bitişik ikinci karbon atomundan ya da ω oksidasyonu olarak terminal karbondan ilerleyebilir. β -Oksidasyon mitokondri ve peroksizomlarda meydana gelirken, mikrozomlarda ω -oksidasyonu oluşur (Bennett, 2009). İskelet kasında mitokondriyal yağ asiti β -oksidasyonunun hız sınırlayıcı aşamasını katalizleyen karnitin palmitoiltransferaz 1 (CPT1), dış mitokondriyal membranda bulunur (McGarry ve Brown, 1997). CPT1, uzun zincirli açıl-CoA'nın mitokondriye taşınmasını kontrol eder. Enerji yoksunluğunda up regüle enzim olan AMP aktive protein kinaz (AMPK), doğrudan asetil-CoA karboksilaz (ACC)'ye fosforillenir ve etkisiz hale getirilir, malonil-CoA oluşumunu azaltır bununla birlikte yağ asiti taşınmasının mitokondride artmasını ve ayrıca β oksidasyonunu sağlar. Böylece enerji dengesi geri yüklenmiş olur. Egzersiz ve iskelet kası kontraksiyonu AMPK'yi aktive eder, lipid oksidasyonunu uyarır, hem karaciğer hem de iskelet kasında lipid birikimini azaltır. β oksidasyonundaki bir azalma hepatik yağ asitlerinin artan birikimi nedeniyle steatoz ile sonuçlanır. Azaltılmış oksidasyonlu modellerde karaciğer tümörleri oluşmasına rağmen fibrozis gözlenmemiştir.

Trigliseridler, apolipoprotein B (ApoB) ile bağlanır ve daha sonra salgılanan bir lipoprotein partikülüne dönüşür (Hamelet vd., 2007). ApoB sentezi, yağ asiti, TG ve aynı zamanda mikrozomal trigliserid transfer protein'i (MTP) düzeylerinin yükselmesiyle, insülin tarafından inhibe edilmesiyle uyarılır (Gordon, 1997; Julius, 2003). Böylece, karaciğerde artmış yağ asiti artışı ve normal / azaltılmış insülin konsantrasyonları veya insülin direnci varlığında, olgun VLDL-ApoB'nin salgılanmasının artması beklenir. VLDL'ye dahil edilen TG'nin büyük kısmı de novo sentezinden

ziyade hücre içi depolama havuzlarından kaynaklanmaktadır (Gordon, 1997). İnsülin direnci olduğunda, artmış yağ asiti düzeylerine rağmen, TG karaciğerde tutulur ve bu şekilde steatoz oluşturur. Bu anahtar adım NAFLD'nin patogenezi ile ilgili olabilir. Aslında, salınan VLDL'deki serum TG seviyesinin, insan NASH'li hastalarda MTP mRNA seviyesi düştükçe azaldığı bildirilmiştir. Azaltılmış VLDL salgılamalı modellerde, yağ asiti artışı gözlenmemiş, bazılarında ise steatoz görülse de inflamasyon oluşmamıştır.

Hepatik kolesterol, diyetteki alım arttıkça veya eliminasyonu azaldığında birikir. Kolesterolün vücuttan atılmasının birincil yolu, safra yolu ile hem biliyer kolesterolün doğrudan kanaliküler atılımı hem de hepatik kolesterolün safra asidine dönüştürülmesinden oluşur (Vlahcevic vd., 1997). Hepatik kolesterol birikimi, yayılan protein yanıtının ve endoplazmik retikulum (ER) stresinin neden olduğu apoptozun aktivasyonu ile kalsiyum tükenmesine ve ER stresine neden olur. Dahası, hepatik kolesterol birikimi mitokondriyal glutatyon depolarını azaltabilir ve mitokondriyal glutatyon seviyelerini tekrar dolduran S-adenosil-L-metionin ile düzeltilir (Feng vd., 2003; Devries-Seimon vd., 2005). İnsan karaciğer örneklerinin lipid kompozisyonu analizleri, NAFLD veya NASH'li hastalarda hepatik kolesterol içeriğinde ciddi bir artış olduğunu ortaya koymaktadır (Bieghs vd., 2012). Ana süpürücü reseptör olan ve modifiye edilmiş kolesterol açısından zengin lipoprotein alımı için önemli olan CD36 ve makrofaj tutucu reseptör 1 (MSR1)'in, hücre içi kolesterol dağılımını etkileyerek NAFLD'deki inflamasyonun başlangıcına başlı başına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Puri vd., 2007). Bu sonuçlar, düzensiz kolesterol metabolizmasının NAFLD ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Hepatik kolesterolün artırılmasıyla yapılan IL-1 Ra knockout fareleri, aterosklerotik bir diyet ile beslenmenin 20. haftasını takiben, insan NASH'sindeki duruma benzer şekilde, çok sayıda iltihap hücresi içeren şiddetli steatoz ve perisellüler fibroz sergilediği gözlenmiştir.

Kronik inflamasyon, NASH patogenezinde önemli bir faktördür (Matteoni vd., 1999). Gram negatif bakterilerin önemli bir dış zar oluşturucu maddesi olan ve endoprotein olarak da adlandırılan lipopolisakkarid (LPS), hepatik inflamasyonun güçlü bir uyarıcısı olarak düşünülür. LPS, karaciğerdeki iltihaplanma, sitokin üretimi ve iltihap hücrelerinin birikmesine neden olabilir. Aslında NASH hastalarında LPS'nin karaciğer nötrofil infiltrasyonunun esas nedeni olduğu bildirilmiştir (Brunt vd., 2004). Buna ek olarak, önceki birkaç rapor, NASH hastalarında sağlıklı sham lere göre bağırsak geçirgenliğinin arttığı veya ince bağırsak bakteri çoğalmasının daha sık görüldüğü ifade edilmektedir (Burt vd., 1998). İlginç olarak, p53 adı verilen hücre döngüsünü düzenleyen bir tümör supresör proteinin de endotoxin ile indüklenen karaciğer inflamasyonu yoluyla NAFLD ile ilişkili hepatoselüler hasarın moleküler mekanizmalarına dahil olduğu bildirilmektedir (Yagahi vd., 2004). Bu düşük dozlu LPS ile indüklenen NASH modelde, yağ asiti seviyelerinde artış, obezite, insülin direnci, inflamasyon ve fibrozis görülmesine rağmen karsinom gözlenmemiştir.

NAFLD'nin, NASH da dahil olmak üzere, bilinen çeşitli kompleks biyokimyasal, metabolik ve klinik durumları, buzdağının su üstünde görünen kısmına benzetilebilir, yani bu konuda bilinmeyenler bilinenlere göre daha fazladır. Patogenetik mekanizmalar ve uygun tedavi yaklaşımları ile ilgili bilgiler çoğunlukla eksiktir (İmajo vd., 2013).

Kemirgen modeller, hastalık patogenezi çalışmalarında gerekli araçlardır. Ancak bu modeller, sadece insanda hastalığın patolojisini ortaya koymakla kalmayıp, hastalığın gelişim gösterdiği ve ilerleme sürecini de açıklayabilir özellikte olmalıdır.

NAFLD / NASH'in kemirgen modelleri aşağıda açıklandığı gibi birtakım problemlere sahiptir. İlk olarak, basit yağ değişiklikleri ve inflamatuvar infiltratlara ek olarak balonlaşma, hepatosit dejenerasyonu gibi gerçek steatohepatitin bazı özellikleri nadiren NAFLD / NASH kemirgen modellerinde gösterilmiştir (Matteoni vd., 1999; Brunt vd., 2004; Burt vd., 1998; Yagahi vd., 2004). İkincisi, varolan herhangi bir model, NAFLD / NASH hastalarında en sık görülen ölüm nedeni olan kardiyovasküler hastalık sergilememektedir. Üçüncüsü, genetik değişikliğe sahip modeller insan NAFLD / NASH'yi uygun şekilde yansıtmayabilir. Bu nedenle, klinik uygulamada karşılaşıldığı gibi mevcut NAFLD / NASH fenotip modellerini üreten hiçbir model mevcut değildir ve modellerin birçoğu, gross histolojik görünümü hariç, insan hastalığından farklıdır. Bu tutarsızlıklar ve ilerleyici fibroz steatohepatit için geliştirilen modellerin güvenilir olmaması, bu alandaki araştırmaları engellemektedir. Bu nedenle NAFLD / NASH ideal olan bir modeli geliştirmek için bilim adamları mevcut modelleri iyileştirmeye veya yeni modeller geliştirmeye devam etmelidir. Bunu yaparken, hastalığın patogenezi hakkındaki bilgiye daha fazla sahip olmalı, böylece insan NAFLD / NASH'sinin tam olarak anlaşılmasına ve etkili terapilerin geliştirilmesine yardımcı olmalıdır (İmajo vd., 2013).

Verilen örnekler dışında Kalish ve arkadaşları (2012), intraportal yolla yağ verildiğinde nasıl bir etki oluşacağına dair soru sorarak venöz damarlardan yağ verdikleri bir model oluşturmuştur. Ancak bu modelde yüksek glukoz içerikli diyet uygulanmış ve çalışmadaki bazı hayvanlarda sepsis olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonunda sadece steatohepatitin varlığından bahsedilmiştir. Bu çalışmanın yeterli olmadığını belirterek bu yönde (damar yoluyla) daha fazla çalışma yapılmasına dikkat çekmişlerdir.

Biz de çalışmamızda bugüne kadar yapılan diğer hayvan modellerini göz önüne k yeni bir hayvan modeli oluşturmayı amaçladık. Modelimizi v. portae hepatis üzerinden yaparak, bulduğumuz sonuçlar neticesinde NAFLD'nin oluşum mekanizmasının açıklanabilmesi için ileride yapılacak çalışmalara katkıda bulunmayı hedefledik. Kullandığımız intralipid %20 maddesindeki yağlar şilomikron düzeyinde olduğu için yağ metabolizmasında birinci kapiller sistem bypass edilmiştir. Daha önce v. portae hepatis'ten yağ verilerek özgün bir yağlanma modeli

oluşturulmadığından, bizim çalışmamız v. portae hepatitis'ten kanül takılıp, intraportal olarak yağ verilen ilk steatoz modeli olmuştur.

Multifoton mikroskopi görüntüleme tekniği, canlı hayvandan iyi kalitede görüntü almaya imkân sağlayan bir yöntemdir. Ancak canlı hayvandan görüntü almak sanıldığı kadar kolay değildir. Çoğunlukla çalışmalar beyin çalışmaları olduğundan firmalar tarafından bu çalışmalara uygun aparatlar yapılmıştır. Yapılacak diğer organ çalışmaları için bu durum, araştırmacıları oldukça zorlamaktadır. Hedeflerimizden biri benzeri az yapılmış olan NAFLD oluşmuş canlı sıçandan görüntü almak olduğu için geliştirdiğimiz yeni aparatlarla hedefimizi gerçekleştirebiliriz.

Sıçanlarımız makroskobik olarak değerlendirildiğinde, iki haftalık deney grubundakilerin hepsinde büyük ya da küçük lipogranülom gözlenmiştir (Şekil 4.1). Lipogranülomlar, NAFLD tanısı için çok gerekli değildir ancak NASH'de sıklıkla gözlenen bir bulgu (Bruno, 2012) olduğu için makroskobik olarak modelimizin olumlu sonuçlarının olabileceğini gösteren değerli bir veri olmuştur.

Histolojik kesitlerin morfometrik analizi, hem biyolojik dokularda hem de inorganik ortamdaki fazları veya materyallerin hacim fraksiyonunu minimum hatayla elde eden ve yakın geçmişte kullanılmaya başlanılan bir yöntemdir. Morfometrik yöntemler, ölçümler sonucunda elde edilen verileri tarafsız ve güvenilir yapmaktadır (Pierre vd., 2016).

Çalışmamızdaki morfometrik incelemelerde: ortalama v. centralis çapı hem 1 haftalık hem de 2 haftalık deney grubu sıçanlarda sham grup sıçanlara göre daha büyük bulundu. (Tablo 4.3 ve 4.4). İki haftalık ve 1 haftalık deney grupları karşılaştırıldığında ise (Şekil 4.2) 2 haftalık grupta, ortalama v. centralis çapının diğer gruba oranla daha büyük olması, bize portal venden yağ verildikçe ortalama v. centralis çapının arttığını göstermektedir. Bununla birlikte, portal alanda bulunan damar çaplarının 2 haftalık deney gruplarında 1 haftalık deney grubuna göre daha fazla genişleme gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışmamıza paralellik gösteren v. centralis çapı ile ilgili bu tarzda bir çalışmaya rastlanmamıştır. Shih ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları transplantasyon çalışmasında v. centralis çapının değişiminin, kan akımıyla bağlantılı olmadığına değinmişlerdir.

Morfometrik olarak sinüzoid/parankim oranı hesaplandığında; 1 haftalık deney grubundaki sıçanların sham grubuna göre sinüzoidal aralığının arttığı, aksine karaciğer parankimasının azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3). İki haftalık deney grubunda ise 1 haftalık deney grubuna oranla sinüzoidal aralığın daha da arttığı ve karaciğer parankimasının da daha fazla azaldığı tablolar (4. 5) ve (4,6) 'de gösterilmiştir. Deney süresi uzadıkça parankimanın azalıp sinüzoidal aralığın artması dikkat çekicidir. Noorafhsan ve arkadaşlarının (2005), diyabetli sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada sinüzoid hacmindeki değişimin hepatosit hacmindeki

değişikliklere bağladıklarını belirtmişlerdir. Altunkaynak ve arkadaşlarının (2009), dişi sıçanlarda yapmış oldukları yüksek yağ içerikli çalışmada sinüzoidal hacim artışının nekroz nedeniyle parankima kaybına ve hepatositlerin sayısal yoğunluğunun azalmasına bağlamışlardır. Yine Yahyazadeh ve arkadaşlarının (2017), yapmış oldukları yüksek yağlı diyet çalışmasında, yağlı diyet ile beslenmenin karaciğerde vasküler dilatasyona neden olduğunu, bunun sebebinin de iltihaplı değişiklikler olabileceğini belirtmişlerdir. Brancatelli ve arkadaşları (2018) ise sinüzoidal dilatasyonun nedenini artmış venöz basınca bağlamışlardır.

Hepatosit balonlaşması, hücre sitoplazmasının şişmesi ve vakuolizasyonu nedeniyle karaciğer lobüllerinin normal altıgen şeklinin kaybolduğu dejenerasyondur. Balonlaşma ve Mallory-Denk cisimcikleri karaciğer hücresi hasarını temsil eder ve NASH tanısını koymada kritik önem taşırlar (Sakamoto vd., 2017).

Çalışmamızda sadece 2 haftalık deney grubunda balonlaşma gözlenirken (Şekil 4.4), bir haftalık deney grubunda balonlaşmaya rastlanmamıştır (Tablo 4.7). Bu durum 2 haftalık deney grubunda steatohepatitin varlığına işaret etmektedir.

NASH, lobüler inflamasyon ve ilerleyici perisinüzoidal fibrozis ile karakterize NAFLD spektrumunun bir parçasıdır. NASH'i belirlemenin en yaygın yolu karaciğer fonksiyon testlerinin anormal sonuçlarıdır (Fan ve Qiao, 2009). Karaciğer fibrozisi, kronik karaciğer hasarına bağlı olarak çoğunlukla kolajenler olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin birikimi ve devamında siroz, portal hipertansiyon, karaciğer yetmezliği ve HCC ile ortaya çıkabilen bir karaciğer hastalığıdır (Lu vd., 2014).

Çalışmamızda 2 haftalık deney gruplarında inflamasyon tespit edilirken, 1 haftalık deney gruplarının çoğunluğunda gözlenmemiştir. İki haftalık deney gruplarındaki bu inflamasyon, daha çok lobüler infiltrasyon şeklinde oluşan inflamasyondur. Steatohepatitin önemli belirtilerinden biri olan bu durum, 2 haftalık deney grubunda steatohepatit oluştuğunun göstergesidir.

Fibrozisi göstermek için kullanılan Masson trichrome boyası ile kesitler boyandığında, 1 haftalık deney gruplarının bazılarında da fibrozisin mevcut olduğu gözlenmiştir. İki haftalık deney grubunda hem periportal hem de perisinüzoidal fibrozis mevcuttur (Tablo 4.8). Bir haftalık deney grubunda ise tek başına bazı bölgelerde periportal fibrozis görülmüştür (Şekil 4.5). Ancak 2 haftalık deney grubunda hem periportal hem de perisinüzoidal fibrozisin varlığının tespit edilmesi, oluşturduğumuz modelin steatohepatite gittiğinin bir göstergesidir.

NAFLD'deki steatozda yaygın olarak makroveziküler steatoz görülür ki bu tip steatozda büyük lipid damlası hepatositlerde sitoplazmayı kaplar ve çekirdeği çevreye kaydırır. Makroveziküler steatoz sıklıkla gözlenmekle birlikte, morfolojik olarak köpüklü görünen sitoplazma ile karakterize olan

mikroveziküler steatozun varlığı da ayrıca değerlendirilmelidir (Sakamoto vd., 2017).

Oil red o boyası ile boyanan kesitler değerlendirildiğinde, çalışmamızda deney gruplarında sham gruplarına göre yağ damlacıkları görülmüştür. Bir haftalık deney grubu ile 2 haftalık deney grubu karşılaştırıldığında, 2 haftalık grupta kesit üzerindeki yağ damlacıklarının yüzdesi 1 haftalık gruba göre daha yüksektir (Tablo 4. 9). Bunun yanısıra Hematoksilen-Eosin boyama yapılan kesitlerde yağ damlacıklarının büyüklükleri karşılaştırıldığında, 2 haftalık deney grubunda çoğunlukla makroveziküler ağırlıklı olmak şartıyla mikroveziküler yağ damlacıklarının da bulunduğu bir görüntü elde edilmiştir. Bir haftalık deney grubunda ise gruptaki birkaç sıçanda 2 haftalık gruba oranla daha az sayıda makroveziküler ağırlıklı yağ damlacıkları mevcutken, diğer sıçanlarda makroveziküllerin de bulunduğu ancak mikroveziküler ağırlıklı yağ damlacıkları mevcuttu (Şekil 4.6). Her ne kadar mikroveziküler yağ damlacıkları uzun dönemde zayıf bir prognoz gösterse de steatohepatit ve karaciğer hasarı gelişimi için büyük risk taşıdığı bilinmektedir (Choi vd., 2015). Çalışmamızda 1 haftalık deney grubundaki hayvanlarda bu bilgilerden yola çıkarak basit steatozun oluştuğunu ve steatohepatit riskinin de yüksek olduğunu söyleyebiliriz. İki haftalık deney grubundaki sıçanlarda ise şiddetli steatozun varlığı boyamalarla tespit edilmiştir.

Bütün bu histolojik bulgular beraber değerlendirildiğinde; 1 haftalık deney grubunda non alkolik yağlı karaciğer değerlendirilmesinde; hafif steatoz (>%5) yanında periportal inflamasyon gözlenmiş ve balonlaşma da mevcut değildir. Deney 2 de ise şiddetli steatoz (%33-%66), lobüler inflamasyon odak başına 2-4 odak şeklinde, bunun yanında kesitlerde birkaç balonlaşmış hepatositlere rastlanmıştır (Tablo 4. 2). Bu veriler göz önüne alındığında her iki deney grubunda NAFLD varlığından bahsedilmesi mümkündür. Non alkolik steatohepatit derecelendirilmesi yapıldığında, 1 haftalık deney grubunda sadece hafif steatozdan, 2 haftalık deney grubunda ise panacinar steatozdan bahsetmek mümkündür. Bir haftalık deney grubunda portal fibrozis haricinde fibrozis gözlenmediği için evreleme yapılamazken, 2 haftalık deney grubu evre 2 özelliklerini göstermektedir (Tablo 4. 1). Bu veriler ışığında bir haftalık deney grubumuzda sadece steatoz oluşmuş ancak 2 haftalık deney grubunun steatohepatite gittiği söylenebilir.

Canlı organizmalarda başlıca enerji kaynaklarından bir tanesi lipid olduğu için, lipid metabolizması vücutta hassas bir şekilde düzenlenir. Yağ dokularının yanı sıra, çoğu triasilgliserol ve kolesterol esteri olan nötr lipitler, lipid damlası veya lipid cismi olarak adlandırılan bir inklüzyon cismi içinde depolanır (Uchiyama ve Komiyami, 2013). Sitoplazmik lipid damlacıkları formundaki anormal intrahepatik yağ birikimi (steatoz), karaciğer metabolizmasının değişmesinin erken bir patofizyolojik özelliğidir. Lipid damlası, hücreSEL nötr lipidlerin depolanması ve metabolik düzenlenmesinde kritik rol oynayan organel benzeri yapılardır. İnsülin

direnci ve şiddetli karaciğer hastalığına potansiyel oluşturabilen bir progresyon gösterebilmektedir (Choi vd., 2015). Bu nedenle yağ damlacıklarını görüntülemek için yapmış olduğumuz Bodipy boyama ile yağ asiti alımı değerlendirildiğinde (Tablo 4.11) iki haftalık deney gruplarında belirli alanlarda ışına odakları tespit edilmiştir (Şekil 4. 8). Bu ışına bize 2 haftalık deney grubunda yağ asiti alımının ve birikiminin olduğunu göstermiştir.

Nile red boyama ile intraselüler yağ birikimini tespit etmek için boyanan kesitlerden mikroskop altında floresan ışına değerlendirilmiştir. Işımanın olduğu kesitlerden ışımının olduğu odak noktalarının çokluğu ve azlığına bakılmıştır (Tablo 4.10). Sonuçlara göre, 1 haftalık deney grubundaki bazı sıçanlarda daha az olmak üzere, 2 haftalık deney grubundaki sıçanlarda daha fazla sayıda ışımın odak noktaları tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Böylece 2 haftalık deney grubunda 1 haftalık deney grubuna göre daha fazla oranda intraselüler yağ birikiminin olduğu gözlenmiştir. Işımanın olduğu odaklar çoğunlukla portal alanın yakınında ya da çevresinde özellikle hücre infiltrasyonunun olduğu yerlerde daha fazla oradadır.

NAFLD'nin deneysel modelleri, NAFLD hastalarında da görülen sistemik endotel disfonksiyonu ve artmış kardiyovasküler risk sergilemektedir. İlginç olarak, Metabolik sendromda (MS) morbiditeye neden olan komplikasyonların çoğu vasküler kökenlidir (Huang, 2009). Bu da vaskülaritenin MS'te önemli bir hedef olduğunu düşündürmektedir. Karaciğerdeki enzimatik reaksiyonların son ürünlerinin birikimi karaciğer mikrovasküler hasarına, karaciğer fonksiyon bozukluğunu daha da arttırarak NAFLD progresyonuna katkıda bulunabilir. Enzimatik reaksiyonun son ürünleri, esasen ileri derecede glikasyon son ürünleri olduğu için reseptörün uyarılması yoluyla karaciğer hasarı, fibrozis ve inflamasyonu şiddetlendirdiği ve bunun da oksidatif ve inflamatuvar yolları aktive ettiği açıklanmıştır (Leung vd., 2014).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, NAFLD'nin mikrosirkülasyon değişimine değinilmiştir (Hirooka vd., 2015; Pereira vd., 2017). Bunun için çalışmamızda karaciğer kan akımının mikrosirkülasyonu için laser speckle ile kan akımı değerlendirilmiş, 1 haftalık gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmasa da, 2 haftalık deney grubunda karaciğer lobunun bazı bölgelerinde diğer gruplara göre kan akımının yavaşladığı gözlemlenmiştir (Tablo 4. 14). Sefalian ve arkadaşlarının (1999) yaptıkları çalışmada steatoz oluşmuş grupta mikrosirkülasyonun azaldığı tespit edilmiş ve bunun sonucunda hepatik yağ infiltrasyonun karaciğer kan akımını ve parankimal mikrosirkülasyonu yavaşlattığı şeklinde yorumlamışlardır. McCuskey ve arkadaşlarının (2004) diyetle oluşturdukları steatohepatit çalışmasında yağlanmadan fibrozise gidildikçe kan akımının azaldığı yönünde çalışmalarını yorumlamışlar. Pereira ve arkadaşlarının (2017) yüksek yağlı diyet ile yapmış oldukları NAFLD çalışmasında karaciğer kan akımının %47'ye kadar azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum bizim

çalışmamızla benzerlik göstermektedir. 2 haftalık deney grupları sham grubu ile karşılaştırıldığında kan akımının portal venden yağ verilen deney gruplarında sham gruplarına göre azaldığı görülmüş ve anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır. Sonucumuz diğer çalışmalar ile örtüşmektedir.

Deney gruplarının kan örneklerinden yapılan ALT değerlendirmesi sonucunda gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ancak AST sonuçlarına göre 1 haftalık deney grubu ve sham arasında fark bulunmazken 2 haftalık deney grubunun AST değerlerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu fark edilmiştir (Tablo 4. 12, 4.13). Sonuçlara bakıldığında 2 haftalık deney grubunun AST değeri sham grubuna göre anlamlı bulunmuştur. AST/ALT oranının 1,33 ve üzerinde olması steatoz göstergesidir (Oh vd., 2008). Hatta AST'nin artması fibrozis ile doğru orantılıdır (Çolak ve Tuncer, 2010). Bakıldığında bizim bütün gruplarımızda oran 1,33'ün üzerindedir. Şaşırtıcı olarak, kontrol gruplarımızda da bu oran yüksek çıkmıştır. İki haftalık deney grubunda özellikle AST'nin diğer gruplara göre yüksek olmasına bağlı olarak fibrozis oluşumunu gördüğümüz için geliştirdiğimiz bu modelin diğer steatohepatit modelleriyle benzer özellikte olduğunu göstermektedir (İmajo vd., 2013). Aynı zamanda AST artışı karaciğer dokusundaki hasar sonrasında kanda görülen belirleyici bir etmen olduğundan bu sonuç, çalışmamızın histolojik verilerini de doğrular niteliktedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verileri diğer modeller ile karşılaştırdığımızda, oluşturduğumuz modelde balonlaşma, steatohepatit ve fibrozise ilave olarak, hepatositlerde yağ asitleri varlığının da kesin olarak gösterilmesiyle, NAFLD çalışmaları için yeni bir yağlanma modeli oluşturduğumuzu söyleyebiliriz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

NAFLD'nin oluşum mekanizması günümüze kadar bütün çalışmalarda tartışılmış ve yapılan bütün modellerin insandaki spektrumun aynısını yansıtmadığı belirtilmiştir. Bu nedenle biz de, insandaki NAFLD'ye en yakın yeni bir model oluşturmak amacıyla yola çıktık.

Rutinde kullanılan Hematoksilen-Eosin ve Masson trichrome boyamalar haricinde yapmış olduğumuz diğer boyama teknikleri ile karaciğer yağlanması oluşup oluşmadığını kontrol ettik.

Deney gruplarında Oil red o boyası ile yağ damlacıklarının varlığını gösterdik. Nile red ve Bodipy floresan boyaları ile yağ asitlerinin salınımını ve intraselüler birikimini ileri teknolojik mikroskoplar ile tespit ettik. Böylece karaciğer yağlanmasında temelde olması gereken durumların bazılarını modelimizde sergilemiş olduk.

Oluşturduğumuz modeldeki elde ettiğimiz diğer genel parametrelerin sonuçları ile birlikte, parenteral modellerden başka, direkt olarak v. portae'dan yağ verilerek de NAFLD'nin oluştuğunu gözlemledik. Bu yeni modelle NAFLD oluşum mekanizması çalışmalarında yeni bir kapı açtığımızı düşünmekteyiz.

Bundan sonraki basamaklarda çalışacak araştırmacıların, NAFLD'nin son basamağı olan karaciğer karsinomu oluşumu üzerine ağırlık vermelerini tavsiye etmekteyiz. NAFLD'li kişilerde, kardiovasküler hastalıklar görüldüğünden (Targher vd., 2005) bu modelle yapılan yağlanmada, kardiovasküler hastalıkların varlığının tespit edilmesine ihtiyaç vardır. Aynı zamanda bizim modelimizin kullanılacağı başka çalışmaların NAFLD'nin gerek biyokimyasal gerek genetik gerekse ve moleküler değerlendirilmesiyle bu hastalığın oluşum mekanizmasıyla ilgili yeni bilgilerin oluşacağı kanaatindeyiz. Edinilen bilgilerin de gerekli ilaç tedavisinin geliştirilmesinde etkili olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abe, M. Miyake, T. Kuno, A. Imai, Y. Sawai, Y. Hino, K. Hara, Y. Hige, S. Sakamoto, M. Yamada, G. Kage, M. Korenaga, M. Hiasa, Y. Mizokami, M. Narimatsu, H. (2014). *Association between Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein and the fibrosis stage of non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol, 50(7):776-84.*

Abdelmalek, M.F. Diehl, A.M. (2007). *Nonalcoholic fatty liver disease as a complication of insülin resistance. Med. Clin. N. Am., 91, 1125-1149*

Abrams, GA. Kunde, SS. Lazenby, AJ. Clements, RH. (2004). *Portal fibrosis and hepatic steatosis in morbidly obese subjects: A spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology.;40(2):475-83.*

Abu-Elheiga, L. Matzuk, M.M. Kordari, P. Oh, W. Shaikenov, T. Gu, Z. (2005). *Mutant mice lacking acetyl-CoA carboxylase 1 are embryonically lethal. Proc Natl Acad Sci U S A;102:12011-12016.*

Adams, LA. Lymp, JF. St Sauver, J. (2005). *The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. Gastroenterology; 129(1):113-21.*

Adams, LA. Talwalkar, JA. (2006). *Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. J Clin Gastroenterol; 40: S34-8. 129: 113- 21*

Adams, LA. Angulo, P. (2007). *Role of liver biopsy and serum markers of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. Clin Liver Dis; 11: 25-35.*

de Almeida, I.T., Cortez-Pinto, H., Figaldo, G., Rodreigues, D. Camilo, M.E. (2002). *Plasma total and free fatty acids composition in human non-alcoholic steatohepatitis. Clinical Nutrition 21, 219-223*

Alisi, A. Manco, M. Panera, N. Nobili, V. (2009). *Association between type two diabetes and non-alcoholic fatty liver disease in youth. Ann Hepatol; Suppl 1: S44-S50*

Altunkaynak, BZ. Ozbek, E. (2009). *Overweight and structural alterations of the liver in female rats fed a high-fat diet: a stereological and histological study. Turk J Gastroenterol.;20(2):93-103*

Angulo, P. (2002). *Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med; 346: 1221-1231*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Argo, CK. Caldwell, SH. (2009) *Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. Clin. Liver Dis.; 13:511.*

Argo, CK. Northup, PG. Al-Osaimi, AM. Caldwell, SH. (2009). *Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non- alcoholic steatohepatitis. J Hepatol; 51: 371-379*

Arıncı, K. Elhan, A. (2006).Anatomi 1. 2 Cilt. (4. Baskı). Güneş Tıp Kitabevi

Arner, P. (2005) *Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab; 19:471-482*

Asrih, M. Jornayvaz, F.R. (2014). *Diets and nonalcoholic fatty liver disease: The good and the bad. Clinical Nutrition,33, 186-190*

Basak, K. Manjunatha, M. Dutta, P.K. (2012). *Review of laser speckle-based analysis in medical imaging. Med. Biol. Eng. Comput.; 50 (6), 547-558.*

Başaklar A.C. (Ed). (2011). Medikal Embriyoloji 1 Cilt. (11. Baskı). Palme Yayıncılık

Balthasar, N. Dalgaard, L.T. Lee, C.E. (2005). *Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. Cell, 123, 493-505.*

Bekaert, M. Verhelst, X. Geerts, A. Lapauw, B. Calders, P. (2016). *Association of recently described adipokines with liver histology in biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. Obes Rev.;17(1):68-80*

Bennett, M.J. (2009). *Pathophysiology of fatty acid oxidation disorders. J. Inherit. Metab. Dis., 33, 533-537*

Bergheim, I. Weber, S. Vos, M. (2008). *Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: Role of endotoxin. J. Hepatol., 48, 983-992*

Bernard, S. Touzet, I. Personne, V. Lapras, P. J. Bondon, F. Berthezène, P. M. (2000). *Association between microsomal triglyceride transfer protein gene polymorphism and the biological features of liver steatosis in patients with type II diabetes. Diabetologia 43, 995-999.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Bezemer, R. Legrand, M. Klijn, E. Heger, M. Post, I.C. van Gulik, T.M. Payen, D. Ince, C. (2010). *Real-time assessment of renal cortical microvascular perfusion heterogeneities using near-infrared laser speckle imaging. Opt. Express* 18; 15054–15061

Bieghs, V. Verheyen, F. van Gorp, P.J. Hendriks, T. Wouters, K. Lütjohann, D. Gijbels, M.J. Febbraio, M. Binder, C.J. Hofker, M.H. (2012). *Internalization of modified lipids by CD36 and SR-A leads to hepatic inflammation and lysosomal cholesterol storage in Kupffer cells. PLoS One*, 7, e34378

Bjornsson, E. Angulo, P. (2007). *NON-alcoholic fatty liver disease. Scand.J. Gastroenterol.* 42(9), 1023-1030

Blüher, M. Michael, M.D. Peroni, O.D. Ueki, K. Carter, N. Kahn, B.B. Kahn, C.R. (2002). *Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. Dev. Cell.* 3, 25–38.

Boas, D.A. Dunn, A.K. (2010). *Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. J.Biomed. Opt.;* 15 (1), 011109

Bondini, S. Kleiner, DE. Goodman, ZD. Gramlich, T. Younossi, ZM. (2007). *Pathologic assessment of non-alcoholic fatty liver disease. Clin Liver Dis;* 11: 17-23,

Botham, KM. Napolitano, M. Bravo, E. (2015). *The Emerging Role of Disturbed CoQ Metabolism in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development and Progression. Nutrients.;*7(12):9834-46

Brancatelli, G. Furlan, A. Calandra, A. Dioguardi, Burgio M. *Hepatic sinusoidal dilatation.* (2018). *Abdom Radiol (NY).* doi: 10.1007/s00261-018-1465-8.

Browning, J.D. Horton, J.D. (2004). *Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. J. Clin. Investig.,* 114, 147–152

Brunt, EM. Janney, CG. Di Bisceglie, AM. Neuschwander- Tetri, BA. Bacon, BR. (1999). *Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. Am J Gastroenterol;* 94: 2467-2474

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Brunt, EM. Kleiner, DE. Wilson, LA. Unalp, A. Behling, CE. Lavine, JE. Neuschwander-Tetri, BA. (2009). *Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. Hepatology; 49: 809-820*

Brunt, E.M. Neuschwander-Tetri, B.A. Oliver, D. Wehmeier, K.R. Bacon, B.R. (2004). *Nonalcoholic steatohepatitis: Histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. Hum. Pathol., 35, 1070-1082.*

Brunt, E., Tiniakos, DG. (2009). *Alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. In: Odze RD, Goldblum JR, Crawford JM. Pathology of the GI tract, liver, biliary tract and pancreas. Philadelphia: Saunders: 1087-1114*

Brunt, EM. (2010). *Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol; 7: 195-203*

Brunt, EM. Tiniakos, DG. (2010). *Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol; 16(42): 5286-5296*

Brunt, EM. (2011). *Non-alcoholic fatty liver disease: what's new under the microscope? Gut; 60: 1152-1158*

Brunt, EM. (2012). *Nonalcoholic fatty liver disease: what the pathologist can tell the clinician. Dig Dis; 30 Suppl 1: 61-68*

Burt, A.D. Mutton, A. Day, C.P. (1998). *Diagnosis, interpretation of steatosis and steatohepatitis. Semin.Diagn. Pathol., 15, 246-258.*

Caldwell, SH. Oelsner, DH. Iezzoni, JC. Hespeneide, EE. Battle, EH. Driscoll, CJ. (1999). *Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. Hepatology; 29: 664-669*

Caldwell, SH. Lee, VD. Kleiner DE, Al-Osaimi, AM. Argo, CK. Northup, PG. Berg, CL. (2009). *NASH and cryptogenic cirrhosis: a histological analysis. Ann Hepatol; 8: 346-352*

Chalasani, N. Wilson, L. Kleiner, DE. Cummings, OW. Brunt, EM. Unalp, A. (2008). *NASH Clinical Research Network. Relationship of steatosis grade and zonal location to histological features of steatohepatitis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol; 48: 829-834*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Chitturi, S. Abeygunasekera, S. Farrell, G.C. (2002). *NASH and insulin resistance: insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. Hepatology; 35, 373–379*

Choi, S. Diehl, AM. (2005). *Role of inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. Curr Opin Gastroenterol; 21: 702-7.*

Choi, SH. Ginsberg, HN. (2011). *Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. Trends Endocrinol Metab; 22:353-363*

Choi, CS. Savage, DB. Kulkarni, A. Yu, XX. Liu, ZX. Morino, K. Kim, S. Distefano, A. Samuel, VT. Neschen, S. Zhang, D. Wang, A. Zhang, XM. Kahn, M. Cline, GW. Pandey, SK. Geisler, JG. Bhanot, S. Monia, BP. Shulman, GI. (2007). *Suppression of diacylglycerol acyltransferase-2 (DGAT2), but not DGAT1, with antisense oligonucleotides reverses diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance”J Biol Chem.; 282(31):22678-88*

Choi, YJ. Lee, CH. Lee, KY. Jung, SH. Lee, BH. (2015). *Increased hepatic Fatty Acid uptake and esterification contribute to tetracycline-induced steatosis in mice. Toxicol Sci.; 145(2):273-82*

Christian Stureson, C. Milstein Dan, M.J. Ivo, C.J.H. Maas, A.M. Van, T.M. (2013). *Laser speckle contrast imaging for assessment of liver microcirculation Gulik Microvascular Research 87; 34–40*

Cohen, JC. Horton, JD. Hobbs, HH. (2011). *Human fatty liver disease: old questions and new insights. Science; 332(6037):1519-23*

Çavuşoğlu, H. (Ed). (2011). *Tıbbi Fizyoloji (10. Baskı) Nobel tıp Kitabevi*

Çolak, Y. Tuncer, İ. (2010). *Nonalkolik Karaciğer Yağlanması ve Steatohepatit. Dergipark Akademi. 73(3):85-91*

Dalkıç, H. (Ed). (2016). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi 1. Cilt (10. Baskı). Nobel Tıp Kitabevi*

Dam-Larsen, S. Franzmann, M. Andersen, IB. (2004). *Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. Gut; 53: 750–5.*

Day, C.P. (2002). *Pathogenesis of steatohepatitis. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 16, 663–678.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Delarue, J. Magnan, C. (2007). *Free fatty acids and insulin resistance. Curr Opin Clin Nutr Metab Care; 10:142-148.*

Demir, R. (Ed). (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1. Cilt (1. Baskı)* Palme Yayıncılık

Deng, Q.G. She, H. Cheng, J.H. French, S.W. Koop, D.R. Xiong, S. Tsukamoto, H. (2005). *Steatohepatitis Induced by Intra-gastric overfeeding in mice. Hepatology, 42, 905-914.*

Denk, H. Stumtner, C. Zatloukal, K. (2000). *Mallory bodies revisited. J Hepatol; 32: 689-702*

Devries-Seimon, T. Li, Y. Yao, P.M. Stone, E. Wang, Y. Davis, R.J. Flavell, R. Tabas, I. (2005). *Cholesterol-induced macrophage apoptosis requires ER stress pathways and engagement of the type A scavenger receptor. J. Cell. Biol., 171, 61-73.*

Doege, H. Stahl, A. (2006). *Protein-mediated fatty acid uptake: novel in- sights from in vivo models. Physiology (Bethesda); 21:259- 268.*

Donnelly, K.L. Smith, C.I. Schwarzenberg, S.J. Jessurun J. Boldt, M.D. Parks, E.J. (2005). *Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. J. Clin. Investig. 115, 1343-1351.*

Dong, C.Y. Campagnola, P.J. (2012). *Optical diagnostic of tissue pathology by multiphoton microscopy. Expert Opinion Med. Diagn.; 4(6), 519-529*

Dongiovanni, P. Romeo, S. Valenti, L. (2014). *Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: Role of environmental and genetic factors. World J Gastroenterol. 20(36):12945-12955*

Dunn A.K. (2012). *Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. Ann. Biomed. Eng.; 40 (2), 367-377.*

Elhan, A. (Ed). (2016). *Temel Klinik Anatomi1. Cilt (2. Baskı)* Güneş Tıp Kitabevi

Emptage N. J. (2001). *Fluorescent imaging in living systems. Curr. Opin.Pharmacol.; 1(5), 521-525.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Fan, J.G. Xu, Z.J. Wang, G.L. (2005). *Effect of lactulose on establishment of a rat non-alcoholic steatohepatitis model. World J. Gastroenterol., 11, 5053–5056*

Fan, JG. Qiao, L. (2009). *Commonly used animal models of non-alcoholic steatohepatitis. Hepatobiliary Pancreat Dis Int.;8(3):233-40.F*

Farrell, G.C. Larter, C.Z. (2006). *Nonalcoholic fatty liver disease, from steatosis to cirrhosis. Hepatology; 43, 99–112*

Fargion, S. Porzio, M. Fracanzani, A.L. (2014). *Nonalcoholic fatty liver disease and vascular disease: State-of-the-art", World J Gastroenterol; 7;20(37):13306-13324.*

Fedchuk, L. Nascimbeni, F. Pais, R. Charlotte, F, Housset, C. Ratziu, V. (2014) *Performance and limitations of steatosis biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease"Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.; 40(10):1209-22*

Feng, B. Yao, P.M. Li, Y. Devlin, C.M. Zhang, D. Harding, H.P. Sweeney, M. Rong, J.X. Kuriakose, G. Fisher, E.A.; (2003). *The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. Nat. Cell Biol. 5, 781–792.*

Ferramosca, A. Zara, V. (2014). *Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. World Journal of Gastroenterology; 20(7),1746-1755*

Foufelle, F. Ferre, P. (2002). *New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose, a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. Biochem. J., 366, 377–391*

Garthwaite, T.L. Martinson, D.R. Tseng, L.F. Hagen, T.C. Menahan, L.A. (1980). *A longitudinal hormonal profile of the genetically obese mouse. Endocrinology, 107, 671–676.*

Gervaz, P. Scholl, B. Gillet, M. (2005). *Permanent access to the portal vein in rats: experimental model", European Surgical Research, 2000; 32, 203-206*

Gilham, D. Perreault, K.R. Holmes, C.F. Brindley, D.N. Vance, D.E. Lehner, R. (2009). *Insulin, glucagon and fatty acid treatment of hepatocytes does not result in phosphorylation or changes in activity of triacylglycerol hydrolase. Biochim. Biophys. Acta, 1736, 189–199.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Goetz, M. (2008). *In vivo confocal laser endomicroscopy of the human liver: a novel method for assessing liver microarchitecture in real time,* *Endoscopy*,; 40(07), 554-562.

Goetz M., (2008). *In vivo confocal laser laparoscopy allows real time subsurface microscopy in animal models of liver disease,* *J. Hepatol.*; 48(1), 91-97

Gordon, D.A. (1997) *Recent advances in elucidating the role of the microsomal triglyceride transfer protein in apolipoprotein B lipoprotein assembly. Curr. Opin. Lipidol.*, 8, 131-137.

Gundersen, HJ. Jensen, EB. (1987). *The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J Microsc.*;147(Pt 3):229-63.

Gündüz, E. Türkan,İ. (Ed). (2016). *Gündüz Histoloji (9. Baskı) Palme Yayınları*

Halbhuner, K.J. König, K. (2003). *Modern laser scanning microscopy in biology, biotechnology and medicine" Annals of Anatomy*; 185, 1-20

Hamelet, J. Demuth, K. Paul, J.L. Delabar, J.M. Janel, N. (2007). *Hyperhomocysteinemia due to cystathionine beta synthase deficiency induces dysregulation of genes involved in hepatic lipid homeostasis in mice. Hepatology*, 46, 151-159

He, Y. (2010). *Toward surface quantification of liver fibrosis progression. J. Biomed. Opt.*; 15(5), 056007

Hebbard, L. George, J. (2011). *Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*;8(1):35-44.

Hebbard, L. George, J. (2011). *Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*;8(1):35-44.

Helen, JR. Cui, JY. Lu, H. Klaseen, CD. (2012). *Effect of diet on expression of genes involved in lipid metabolism, oxidative stress, and inflammation in mouse liver-insights into mechanisms of hepatic steatosis, Plos one*; 9(2):e88584

Hirooka, M. Koizumi, Y. Miyake, T. Ochi, H. Tokumoto, Y. Tada, F. Matsuura, B. Abe, M. Hiasa, Y. (2015). *Nonalcoholic fatty liver disease: portal hypertension due to outflow block in patients without cirrhosis. Radiology.*;274(2):597-604.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Hoover, E. E. Squier, J. A. (2013). *Advances in multiphoton microscopy technology, Nat. Photonics; 7(2), 93–101*

Huang, PL. (2009) *Metabolic syndrome and cardiovascular disease. Trends Endocrinol Metab 20: 295±302.*

Imajo, K. Yoneda, M. Kessoku, T. Ogawa, Y. Maeda, S. Sumida, Y. Hyogo, H. Eguchi, Y. Wada, K. Nakajima, A. (2013). *Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. Int J Mol Sci.4;14(11):21833-57.*

Ito, M. Suzuki, J. Sasaki, M. Watanabe, K. Tsujioka, S. Takahashi, Y. Gomori, A. Hirose, H. Ishihara, A. Iwaasa, H. (2006). *Development of nonalcoholic steatohepatitis model through combination of high-fat diet and tetracycline with morbid obesity in mice. Hepatol. Res., 34, 92–98*

Ito, M. Suzuki, J. Tsujioka, S. Sasaki, M. Gomori, A. Shirakura, T. Hirose, H. Ito, M. (2007). *Ishihara, A.; Iwaasa, H.; et al. Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet. Hepatol. Res., 37, 50–57.*

Itoh, M. Suganami, T. Nakagawa, N. (2011). *Melanocortin 4 receptor-deficient mice as a novel Mouse model of nonalcoholic steatohepatitis. Am. J. Pathol., 179, 2454–2463.*

Jonathan, C. C. Jay, D. H. Helen H. H. (2011). *Human Fatty Liver Diseases: old question new insights Science. 24;332(6037):1519-23.*

Joseph, AE. Saverymuttu, SH. al-Sam, S. Cook, MG. Maxwell, JD. (1991). *Comparison of liver histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. Clin Radiol; 43:26-31*

Julius, U. (2003). *Influence of plasma free fatty acids on lipoprotein synthesis and diabetic dyslipidemia. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 111, 246–250*

Kalish, BT. Le, HD. Gura, KM, Bistrrian, BR. Puder, M. (2013). *A metabolic analysis of two intravenous lipid emulsions in an murine model. Plos one; 8(4)e59653*

Kanuri, G. Spruss, A. Wagnerberger, S. (2011). *Role of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) in the onset of fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. J. Nutr. Biochem., 22, 527–534*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Karcaaltincaba, M. Akhan, O. (2007). *Imaging of hepatic steatosis and fatty sparing*. Eur J Radiol.61(1):33-43

Kernick, D.P. Tooke, J.E. Shore, A.C. (1999). *The biological zero signal in laser Doppler fluximetry-origins and practical implications*. Pflugers Arch.; 437 (4), 624-631

Kew, MC. (2015). *Obesity as a cause of hepatocellular carcinoma*. Ann Hepatol.;14(3):299-303

Kim, J.K. Michael, M.D. Previs, S.F. Peroni, O.D. Mauvais-Jarvis, F. Neschen, S. Kahn, B.B. Kahn, C.R. Shulman, G.I. (2000). *Redistribution of substrates to adipose tissue promotes obesity in mice with selective insulin resistance in muscle*. J. Clin. Investig., 105, 1791-1797

Kleiner, D., Brunt, EM. Van Natta, M. Behling, C. Contos, MJ. Cummings, OW. Ferrell, LD. Liu, YC. Torbenson, MS. Unalp- Arida, A. Yeh, M. McCullough, AJ. Sanyal, AJ. (2005). *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology; 41: 1313-1321

Koch, L. Wunderlich, F.T. Seibler, J. Konner, A.C. Hampel, B. Irlenbusch, S. Brabant, G. Kahn, C.R. Schwenk, F. Brüning, J.C. (2008). *Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice*. J. Clin. Investig., 118, 2132-2147

Koo, SH. Montminy, M. (2006). *Fatty acids and insulin resistance: a perfect storm*. Mol Cell; 21:449-450

Koo SH. (2013). *Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis* Clinical and Molecular Hepatology; 19:210-215

Koteish, A. Diehl, A.M. (2001). *Animal models of steatosis*. Semin. Liver Dis., 21, 89-104.

Krawczyk, K. Szczesniak, P. Kumor, A. Jasinska, A. Omulecka, A. Pietruczuk, M. Orszulak-Michalak, D. Sporny, S. Malecka- Panas, E. (2009). *Adipohormones as prognostic markers in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH)*. J Physiol Pharma- col; 60 Suppl 3: 71-75

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Kruger, FC. Daniels, C. Kidd, M. Swart, G. Brundyn, K. Van Rensburg, C. Kotze, MJ. (2010). *Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in the Western Cape: a descriptive analysis*. S Afr Med J. 8;100(3):168-71.

Lackner, C. Gogg-Kamerer, M. Zatloukal, K. Stumptner, C. Brunt, EM. Denk, H. (2008). *Ballooned hepatocytes in steatohepatitis: the value of keratin immunohistochemistry for diagnosis*. J Hepatol; 48: 821-828 [

Larter, C.Z. (2007). *Not all models of fatty liver are created equal, understanding mechanisms of steatosis development is important*. J. Gastroenterol. Hepatol., 22, 1353–1354.

Le, TH. Caldwell, SH. Redick, JA. Sheppard, BL. Davis, CA. Arseneau, KO. Iezzoni, JC. Hespeneide, EE. Al-Osaimi, A. Peterson, TC. (2004). *The zonal distribution of megamitochondria with crystalline inclusions in nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology; 39: 1423-1429

Le, TT. Ziemba, A. Urasaki, Y. Brotman, S. Pizzorno, G. (2011). *Label-free evaluation of hepatic microvesicular steatosis with multimodal coherent anti-stokes raman scattering microscopy* Plos one; 7(11); e51092

Lee, H.S. (2004). *Optical biopsy of liver fibrosis by use of multiphoton microscopy*, Opt. Lett.; 29(22), 2614–2616

Lee, J. H., (2013). *Rapid diagnosis of liver fibrosis using multimodal multiphoton nonlinear optical microspectroscopy imaging*, J. Biomed. Opt.; 18(7), 076009

LeCluyse, EL. Witek, R. Andersen, ME. Powers, MJ. (2012). *Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing*. Crit. Rev. Toxicol. 42(6): 501–548

Leung, C. Herath, CB. Jia, Z. Goodwin, M. Mak, KY. Watt, MJ. (2014). *Dietary glycotoxins exacerbate progression of experimental fatty liver disease*. J Hepatol 60: 832±838.

Li, JW. Goh, BG. Chang, PE. Tan, CK. (2017). *Barcelona Clinic Liver Cancer outperforms Hong Kong Liver Cancer staging of hepatocellular carcinoma in multiethnic Asians: Real-world perspective*. World J Gastroenterol. 14;23(22):4054-4063.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Lin, J. Lu, F. Zheng, W. Xu, S. Tai, D. Yu, H. Huan, Z. (2011). *Assessment of liver steatosis and fibrosis in rats using integrated coherent anti-Stokes Raman scattering and multiphoton imaging technique Journal of Biomedical Optics; 16(11), 116024*

Liu, Y. (2005). *Multiphoton analysis of normal and diseased livers. Proc. SPIE; 5700, 249–255*

London, R.M. George, J. (2007). *Pathogenesis of NASH, animal models. Clin. Liver Dis., 11, 55*

Lu, TF. Hua, XW. Cui, XL. Xia, Q. *Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: recent advances in China. J Dig Dis. 2014 Feb;15(2):51-3.*

Machado, V.M. Cortez-Pinto, H. (2014). *Non-alcoholic fatty liver disease: What the clinician needs to know. World J Gastroenterol.,; 20(36):12956-12980.*

Mahé, G. (2012). *Assessment of skin microvascular function and dysfunction with laser speckle contrast imaging. Circ. Cardiovasc. Imaging; 5, 155–163.*

Marinozzi, F. Novelli, S. Morabito, V. Bini, F. Berloco, P.B. Carpino, A. Rossi, M. Novelli, G. Gaudio, E. (2012). *Preliminary study of early histomorphometric changes in hepatic steatosis. Transplantation Proceeding,; 44, 1837-1842*

Masters, B. R. So, P. T. (2001). *Confocal microscopy and multi-photon excitation microscopy of human skin in vivo, Opt. Express,; 8(1), 2–10.*

Matteoni, C.A. Younossi, Z.M. Gramlich, T. Boparai, N. Liu, Y.C. McCullough, A.J. (1999). *Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology, 116, 1413–1419.*

McClain, CJ. Mokshagundam, SP. Barve, SS. (2004). *Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. Alcohol; 34: 67-79.*

McCuskey, RS. Ito, Y. Robertson, GR. McCuskey, MK. Perry, M. Farrell, GC. (2004). *Hepatic microvascular dysfunction during evolution of dietary steatohepatitis in mice. Hepatology.;40(2):386-93.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

McGarry, J.D. Brown, N.F. (1997). *The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system, from concept to molecular analysis. Eur. J. Biochem., 244, 1-6.*

Meisel, JA. Le, HD. Meijer, VE. Nose, V. Gura, KM. Mulkern, RV. Sharif, MRA. Puder, M. (2011). *Comparison of 5 intravenous lipid emulsions and their effects on hepatic steatosis in a murine model. Journal of Pediatric Surgery; 46,666-673*

Miquilena-Colina, ME. Lima-Cabello, E. Sánchez-Campos, S. García-Mediavilla, MV. Fernández-Bermejo, M. Lozano-Rodríguez, T. Vargas-Castrillón, J. Buqué, X. Ochoa, B. Aspichueta, P. González-Gallego, J. García-Monzón, C. (2011). *Hepatic fatty acid translocase CD36 upregulation is associated with insulin resistance, hyperinsulinaemia and increased steatosis in non-alcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis C Gut.; 60(10):1394-402*

Mottin, CC. Moretto, M. Padoin, AV. Swarowsky, AM. Tonetto, MG. Glock, L. Repetto, G. (2004). *The role of ultrasound in diagnosis of hepatic steatosis in morbidity obese patients.; 14(5):635-7*

Musso, G. Gambino, R. Cassader, M. Pagano, G. (2011). *Meta-analysis natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. Ann Med; 43: 617-649*

Müftüoğlu, S. Kaymaz, F. Atil, P. (Ed). (2009). *Netter Temel Histoloji. 1. Cilt Güneş Tıp Kitabevi*

Mühlfeld, C. Nyengaard, JR. Mayhew, TM. (2010). *A review of state-of-the-art stereology for better quantitative 3D morphology in cardiac research. Cardiovasc Pathol.19(2):65-82*

Nairn, JG. Bedi, KS. Mayhew, TM. Gündüz, LF. (1989). *On the number of Purkinje cells in the human cerebellum: unbiased estimates obtained by using the "fractionator". J Comp Neurol. 22;290(4):527-32.*

Nehra, V. Angulo, P. Buchman, A.L. Lindor, K.D. (2001). *Nutritional and metabolic considerations in the etiology of nonalcoholic steatohepatitis. Dig. Dis. Sci., 46, 2347-2352*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Nelson, J., Wilson, L. Brunt, EM. Yeh, MM. Kleiner, DE. Unalp-Arida. A, Kowdley, KV. (2011). *Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology; 53: 448-457 [PMID: 21274866 DOI: 10.1002/hep.24038]*

Newberry, EP. Xie, Y. Kennedy, S. Han, X. Buhman, KK. Luo, J. (2003). *Decreased hepatic triglyceride accumulation and altered fatty acid uptake in mice with deletion of the liver fatty acid-binding protein gene. J Biol Chem;278:51664-51672*

Nielsen, S. Guo, Z. Johnson, C.M. Hensrud, D.D. Jensen, M.D. (2004). *Splanchnic lipolysis in human obesity. J. Clin. Investig., 113, 1582–1588.*

Niesner, R. A. Andresen, V. Gunzer, M. (2008). *Intravital two-photon microscopy: focus on speed and time resolved imaging modalities. Immunol. Rev.; 221(1), 7–25.*

Oh, M.K. Winn, J. Poordad, F. (2008). *Review article: diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease Aliment Pharmacol Ther; 28, 503–522*

Onur, M.R. Göya, O. (2013). *Difüzyon Manyetik Rezonans Görüntüleme: Abdominal Uygulamalar. Diffusion Weighted Magnetic Resonance Imaging: Abdominal Applications.Turkiye Klinikleri J Radiol-Special Topics;6(3):59-69*

Ooi, GJ. Mgaieth, S. Eslick, GD. Burton, PR. Kemp, WW. Roberts, SK. Brown, WA. (2018). *Systematic review and meta-analysis: non-invasive detection of non-alcoholic fatty liver disease related fibrosis in the obese. Obes Rev.;19(2):281-29*

Pagano, G. Pacini, G. Musso, G. (2002). *Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. Hepatology; 35, 367–372*

Pagano, C. Soardo, S. Pilon, C. (2006). *Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab; 91: 1081*

Papdia, F. Marinari, G. Camerini, G. (2004). *Liver damage in severely obese patients: A clinical-biochemical-morphologic study on 1000 liver biopsies. Obes Surg; 14: 952–8*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Patton, HM. Sirlin, C. Behling, C. Middleton, M. Schwimmer, JB. Lavine, JE. (2006). *Pediatric nonalcoholic fatty liver disease: a critical appraisal of current data and implications for future research. J Pediatr Gastroenterol Nutr; 43: 413-427 [PMID: 17033514 DOI: 10.4103/1319-3767.74476*

Park, SH. Kim, PN. Kim, KW. Lee, SW. Yoon, SE. Park, SW. (2006). *Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: Use of CT for quantitative and qualitative assessment. Radiology;239:105-12.*

Pereira, ENGDS. Silveiras, RR . Flores, EEI. Rodrigues, KL. Ramos, IP. da Silva, IJ. Machado, MP. Miranda, RA. Pazos-Moura, CC. Gonçalves-de-Albuquerque, CF. Faria-Neto, HCC. Tibiriça, E. Daliry, A. (2017). *Hepatic microvascular dysfunction and increased advanced glycation end products are components of non-alcoholic fatty liver disease. PLoS One.;12(6):e0179654.*

Petersen, K.F. Dufour, S. Befroy, D. Lehrke, M. Hendler, R.E. Shulman, G.I. (2005). *Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. Diabetes, 54, 603–608.*

Piekarski, J. Goldberg, HI. Royal, SA. Axel, L. Moss, AA. (1980). *Difference between liver and spleen CT numbers in the normal adult: Its usefulness in predicting the presence of diffuse liver disease. Radiology;137:727-9.*

Pinto, HC. Baptista, A. Camilo, ME. Valente, A. Saragoça, A. de Moura, MC. (1996). *Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. Dig Dis Sci; 41: 172-179 [PMID: 8565753]*

Poonawala, A. Nair, SP. Thuluvath, PJ. (2000). *Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. Hepatology; 32: 689-692*

Polyzos, S.A. Nikolopoulos, P. Stogianni, A. Romiopoulos, I. Katsinelos, P. Kountouras, J. (2014). *Effect Of Helicobacter Pylori Eradication On Hepatic Steatosis, Nafld Fibrosis Score And Hsensi In Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis: A Mr Imaging-Based Pilot Open-Label Study, Arq Gastroenterol.,; 51(3):261-8.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Previs, S.F. Withers, D.J. Ren, J.M. White, M.F. Shulman, G.I. (2000). *Contrasting effects of IRS-1 versus IRS-2 gene disruption on carbohydrate and lipid metabolism in vivo Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. J. Biol. Chem., 275, 38990–38904.*

Puissant, C. Abraham, P. Durand, S. Humeau-Heurtier, A. Faure, S., Lefthériotis, G. Rousseau, P. Mahé, G. (2013). *Reproducibility of non-invasive assessment of skin endothelial function using laser Doppler flowmetry and laser speckle contrast imaging. PLoS One; 8 (4), e61320.*

Puri, P. Baillie, R.A. Wiest, M.M. Mirshahi, F. Choudhury, J. Cheung, O. Sargeant, C. Contos, M.J. Sanyal, A.J. (2007). *A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology, 46, 1081–1090.*

Rakha, EA. Adamson, L. Bell, E. Neal, K. Ryder, SD. Kaye, PV. Aithal, GP. (2010). *Portal inflammation is associated with advanced histological changes in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. J Clin Pathol; 63: 790-795*

Raptopoulos, V. Karellas, A. Bernstein, J. Reale, FR. Constantinou, C. Zawacki, JK. (1991). *Value of dual-energy CT in differentiating focal fatty infiltration of the liver from low-density masses. Am J Roentgenol; 157:721-5*

Ratziu, V. Giral, P. Charlotte, F. (2000). *Liver fibrosis in overweight patients. Gastroenterology; 118: 1117–23*

Ratziu, V. Bellentani, S. Cortez-Pinto, H. Day, C. Marchesini, G. A. (2010). *Position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. J Hepatol; 53: 372-384*

Reddy, J.K. Rao, M.S. (2006). *Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., 290, 852–858*

Richardson, MM. Jonsson, JR. Powell, EE. Brunt, EM. Neuschwander-Tetri, BA. Bhathal, PS. Dixon, JB. Weltman, MD. Tilg, H. Moschen, AR. Purdie, DM. Demetris, AJ. Clouston, AD. (2007). *Progressive fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis: association with altered regeneration and a ductular reaction. Gastroenterology; 133: 80-90*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Roberts, EA. (2005). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in children. *Front Biosci.*

Roberts, M. S. (2008). *In vitro and in vivo imaging of xenobiotic transport in human skin and in the rat liver,*” *J. Biophotonics*; 1(6), 478–493

Roberts, N. Puddephat, MJ, McNulty, V. (2000). *The benefit of stereology for quantitative radiology. Br J Radiol*; 73(871):679-697

Rousseau, P. Rousseau, P. Mahé, G. Haj-Yassin, F. Durand, S. Humeau, A. Leftheriotis, G. Abraham, P. (2011). *Increasing the “region of interest” and “time of interest”, both reduce the variability of blood flow measurements using laser speckle contrast imaging. Microvasc. Res.*; 82, 88–91.

Roustit, M. Millet, C. Blaise, S. Dufournet, B. Cracowski, J.L. (2010). *Excellent reproducibility of laser speckle contrast imaging to assess skin microvascular reactivity. Microvasc. Res.*; 80 (3), 505–511.

Roustit, M. Cracowski, J.L. (2012). *Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. Microcirculation*; 19, 47–64.

Saadeh, S. Younossi, ZM. Remer, EM. Gramlich, T. Ong, JP. Hurley, M. (2002). *The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology*; 123:745-50

Saadeh, S. (2007). *Nonalcoholic fatty liver disease and obesity. Nutr. Clin.; Pract* 22:1-10

Sakamoto, M. Tsujikawa, H. Effendi, K. Ojima, H. Harada, K. Zen, Y. Kondo, F. Nakano, M. Kage, M. Sumida, Y. Hashimoto, E. Yamada, G. Okanoue, T. Koike, K. (2017). *Pathological findings of nonalcoholic steatohepatitis and nonalcoholic fatty liver disease. Pathol Int.* ;67(1):1-7.

Seifalian, AM. Piasecki, C. Agarwal, A. Davidson, BR. (1999). *The effect of graded steatosis on flow in the hepatic parenchymal microcirculation. Transplantation*; 68:780–784.

Saverymuttu, SH. Joseph, AE. Maxwell, JD. (1986). *Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. Br Med J (Clin Res Ed)*; 292:13-5

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Schwimmer, JB. Deutsch, R. Kahen, T. Lavine, JE. Stanley, C. Behling, C. (2006). *Prevalence of fatty liver in children and adolescents. Pediatrics; 118: 1388-1393*

Schramm, N. Anastasi, MD. Reiser, MFR. Zech, CJ. (2012). *Value of magnetic resonance imaging in diffuse liver diseases. Radiologe 52:727-737*

Seth, S. Flamm, S. Gordon, F. (1998). *AST/ ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C infection. Am J Gastroenterol; 93: 44- 8*

Shih, TH. Huang, CE. Lee, YE. Chen, CL. Wang, CH. Huang, CJ. Cheng, KW. Wu, SC. Juang, SE. Jawan, B. Yang, SC. (2016). *Preoperative Portal Vein Velocity/Size and Effect on Living Donor Liver Transplantation Recipient Hemodynamics During Inferior Vena Cava Clamping. Transplant Proc.;48(4):1049-51.*

Siegel, AB. Zhu, AX. (2009). *Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma: two growing epidemics with a potential link. Cancer;115:5651-61*

Sodeman's Fizyopatoloji (1991). Türkiye Klinikleri (2. Baskı)

Soga, M. Hashimoto, S. Kishimoto, Y. Hirasawa, T Makino, S.; Inagaki, S. (2010). *Insulin resistance, steatohepatitis, and Hepatocellular carcinoma in a New Congenic Strain of fatty liver Shionogi (FLS) with the Lepob gene. Exp. Anim., 59, 407-419.*

Sonsuz, A. Baysal, B. (2011). *Karaciğer Yağlanması ve Non Alkolik Steatohepatit Güncel Gastroenteroloji; 98 15/2: 98-106*

Spruss, A. Kanuri, G. Wagnerberger, S. Haub, S. Bischoff, S.C. Bergheim, I. (2009). *Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. Hepatology,50, 1094-1104*

Standring, S. (Ed). (2016). *Gray's Anatomy 1. Cilt (40. Baskı). Elsevier*

Starley, BQ. Calcagno, CJ. Harrison, SA. (2010). *Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. Hepatology.; 51:1820.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Staubesand, J. (1990). Sobotta insan anatomisi atlası. (Çev.:Arıncı, K.), Beta basım yayım dağıtım, İstanbul.

Steppan, CM. Balley, ST. Bhat, S. (2001). *The hormone resistin links to diabetes. Nature; 409: 307-12*

Struben, VM. Hespenheide, EE. Caldwell, SH. (2000). *Nonalcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis within kindreds. Am J Med; 108: 9-13*

Stutzmann ,G. E. Parker, I. (2005). *Dynamic multiphoton imaging: a live view from cells to systems," Physiol. (Bethesda) 20(1); 15-21 .*

Takahashi, Y. Soejima, Y. Fukusato, T. (2012). *Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. World J Gastroenterol. May 21;18(19):2300-8*

Takahashi, Y. Fukusato, T. (2014). *Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis"World J Gastroenterol.; 20(42):15539-48*

Tandra, S. Yeh, MM. Brunt, EM. Vuppalanchi, R. Cummings, OW. Unalp-Arida, A. Wilson, LA. Chalasani, N. (2011). *Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. J Hepatol; 55: 654-659*

Tankurt, E. Biberoglu, S. Ellidokuz, E. (1999) . *Hyperinsulinemia and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis. J Hepatol.; 31(5):963*

Tanoli, T. Yue, P. Yablonskiy, D. Schonfeld, G. (2004). *Fatty liver in familial hypobetalipoproteinemia: roles of the APOB defects, intra-abdominal adipose tissue, and insulin sensitivity. J Lipid Res; 45:941-947.*

Tappy, L. Le, K.A. Tran, C. (2010). *Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. Nutrition, 26, 1044-1049*

Targher, G. Bertolini, L. Poli, F. Rodella, S. Scala, L. Tessari, R. Zenari, L. Falezza, G. (2005). *Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. Diabetes; 54: 3541-3546*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Tetri, L.H. Basaranoglu, M. Brunt, E.M. Yerian, L.M. Neuschwander-Tetri, B.A. (2008). *Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 295, 987–995.

Tew, G.A. (2011). *Comparison of laser speckle contrast imaging with laser Doppler for assessing microvascular function. Microvasc. Res.*; 82, 326–332. *Front Biosci.*;10:2306-18.

Tiniakos, DG. (2010). *Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. Eur J Gastroenterol Hepatol*; 22: 643-650

Tobari, M. Hashimoto, E. Yatsuji, S. Torii, N. Shiratori, K. (2009). *Imaging of nonalcoholic steatohepatitis: advantages and pitfalls of ultrasonography and computed tomography İnter Med*; 48:739-746

Tsuchiya, H. Ebata, Y. Sakabe, T. (2013). *High-fat, high-fructose diet induces hepatic iron overload via a hepcidin-independent mechanism prior to the onset of liver steatosis and insulin resistance in mice. Metabolism*, 62, 62–69

Trumble, G. Smith, M. Winder, W. (1995). *Purification and characterization of rat skeletal muscle acetyl-CoA carboxylase. Eur. J. Biochem.*, 231, 192–198.

Uchiyama, H. Nagata, S. Takenaka, K. (2013). *Tape-guided right posterior sectionectomy of the liver for tumors abutting the superior or inferior right hepatic vein. J Am Coll Surg.* ;216(5):e51-4.

Utzschneider, K.M. Kahn, S.E. (2006). *The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91, 4753–4761.

Valenti, L. Fracanzani, A.L. Dongiovanni, P. (2002). *Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology*; 122, 274–280

Valls, C. Iannaccone, R. Alba, E. Murakami, T. Hori, M. Passariello, R. (2006). *Fat in the liver: Diagnosis and characterization. Eur Radiol*; 16:2292-308.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Vlahcevic, Z.R. Stravitz, R.T. Heuman, D.M. Hylemon, P.B. Pandak, W.M. (1997). *Quantitative estimations of the contribution of different bile acid pathways to total bile acid synthesis in the rat. Gastroenterology, 113, 1949–1957.*

Wanless, I.R. Shiota, K. (2004). *The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases, a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. Semin. Liver Dis., 24, 99–106.*

Wang, X. Ren, Q. Wu, T. Guo, Y. Liang, Y. Liu, S. (2014). *Ezetimibe prevents the development of non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet in C57BL/6J mice. Mol Med Rep. 2014 Dec;10(6):2917-23*

Wieckowska, A. McCullough, A.J. Feldsrein, A.E. (2007). *Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis; present and future. Hepatology; 46 (2),582-5891038/ijo.2010.106]*

Xu, J.Y. Li, Z.P. Li, Zhang. Ji, G. (2014). *Recent insights into farnesoid X receptor in non-alcoholic fatty liver disease World J Gastroenterol October 7; 20(37): 13493-13500*

Yahagi, N. Shimano, H. Matsuzaka, T. Sekiya, M. Najima, Y. Okazaki, S. Okazaki, H. Tamura, Y. Iizuka, Y. Inoue, N. (2004). *p53 Involvement in the Pathogenesis of Fatty Liver Disease. J. Biol. Chem., 279, 20571–20575.*

Yahyazedeh, A. Altunkaynak, BZ. Akgül, N. Akgül, HM. (2017). *A histopathological and stereological study of liver damage in female rats caused by mercury vapor. Biotech Histochem. ;92(5):338-346.*

Yan, J. Zhuo, S. Chen, G. Wu, X. Zhou, D. Xie, S. Jiang, J. Ying, M. Jia, F. Chen, J. Zhou, J. (2012). *Preclinical study of using multiphoton microscopy to diagnose liver cancer and differentiate benign and malignant liver lesions. J Biomed Opt.;17(2):026004*

Yasutake, K. Kohjima, M. Kotoh, K. Nakashima, M. Nakamuta, M. Kenichiro, M.E. (2014). *Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease World J Gastroenterol; 20(7): 1756-1767*

Yatsuji, S. Hashimoto, E. Tobarı, M. Tanıai, M. Tokushige, K. Shiratori, K. (2009). *Clinical features and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. J Gastroenterol Hepatol; 24: 248-254*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Yeh, MM. Brunt, EM. (2007). *Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. Am J Clin Pathol; 128: 837-847*

Younossi, ZM. Baranova, A. Ziegler, K. Del Giacco, L. Schlauch, K. Born, TL. Elariny, H. Gorreta, F. VanMeter, A. Younoszai, A. Ong, JP. Goodman, Z. Chandhoke, V. (2005). *A genomic and proteomic study of the spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology; 42: 665-674*

Yu, XX. Murray, SF. Pandey, SK. Booten, SL. Bao, D. Song, XZ. (2005). *Antisense oligonucleotide reduction of DGAT2 expression improves hepatic steatosis and hyperlipidemia in obese mice. Hepatology; 42:362-371.*

Zatloukal, K. Stumptner, C. Fuchsbichler, A. Fickert, P. Lackner, C. Trauner, M. Denk, H. (2004). *The keratin cytoskeleton in liver diseases. J Pathol ; 204: 367-376*

Zatloukal, K. French, SW. Stumptner, C. Strnad, P. Harada, M. Toivola, DM. Cadrin, M. Omary, MB. (2007). *From Mallory to Mallory-Denk bodies: what, how and why? Exp Cell Res; 313: 2033-2049*

Zipfel, W. R. Williams, R. M. Webb, W. W. (2003). *Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences," Nat. Biotechnol.; 21(11), 1369-1377.*

(https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/images/1/18/Liver_plasmodium_infection_cartoon.jpg)

ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı** : Asrın NALBANT
2. **Doğum Tarihi** : 04.02.1985
3. **Doğum Yeri** : Mazgirt
3. **Unvanı** : Öğretim görevlisi
4. **Öğrenim Durumu** : Doktora
5. **Çalıştığı Kurum** : İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD
6. **Cep Telefonu** : 0541 922 15 15
7. **E posta** : asrinalbant@gmail.com

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ege Üniversitesi	2003-2007
Y. Lisans	Anatomi	Süleyman Demirel Üniversitesi	2007-2010
Doktora	Anatomi	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	2011-2018

5. Akademik Unvanlar

- Yardımcı Doçentlik Tarihi :
Doçentlik Tarihi :
Profesörlük Tarihi :

6. Yönetilen Yüksek Lisans ve Doktora Tezleri

- 6.1. Yüksek Lisans Tezleri
6.2. Doktora Tezleri

7. Yayınlar

- 7.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI,SSCI,Arts and Humanities)
7.2. Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler
7.3. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

-Topal F, Unur E, Yılmaz S, Nalbant A : Investigation of mineral content malleus and incus at scanning electron microscopy . Kongre Kitapçığı, 169, Ankara, 2012

-Şener EH, Uğuz C, Nalbant A, Ceyhan BM, Malas MA et al. : Investigation of the effects of artificial food colorings exposed during prenatal period on the postnatal morphometric development . Kongre Kitapçığı, 171, Bursa, 2010

-Malas MA., Nalbant A., Uğuz C., Şener EH. : Effects Of Maternal Obesity On the Prenatal and Postnatal Development of Fetus. Kongre Kitapçığı, 169, Bursa, 2010

- 7.4. Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler
7.5. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

-Emine Hilal Şener, Asrın Uzun(Nalbant), Mehmet Ali Malas : Maternal Obezitenin Fetusun Prenatal ve Postnatal Gelişimi Üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst. 21 (2) : 112-120, 2011

7.6. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

-Shojaolsadati P, Yüzbaşıoğlu N, Nalbant A, Örmeci T, albay S et al. : A pilot knee MRI research in Turkish population: evaluation of normal morphometric values for planning prosthesis. An international journal of experimental and clinical anatomy, 127/16, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 2016

-Asrın Nalbant, Neslihan Yüzbaşıoğlu, B. Ufuk Şakul : Gebelikte kullanılan ilaçların fetal gelişim üzerine etkileri. Anatomy volume 8, 2014 supplemet, 43/73, Malatya/ Merkez, 2014

-Asrın NALBANT, Neslihan YÜZBAŞIOĞLU, Ufuk ŞAKUL : Drugs used in pregnancy effects on fetal development. Anatomy , 43/76, malatya, 2014

-Yüzbaşıoğlu N, Nalbant A, Yiğit P, Şakul U, Şeker M : İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi 2. ve 3. Sınıf Öğrencilerinin Uzmanlık Alanı Tercihleri ve Anatomi Dersi ile Anatomide Uzmanlık Hakkındaki Görüşleri: Preliminer Bir Anket Çalışması. Kongre Kitapçığı, 0, Samsun, 2013

7.7. Diğer yayınlar

8. Projeler

A. Maternal Obezitenin Fetusun Prenatal ve Postnatal Gelişimi Üzerine Etkileri SDÜ BAP 2009 Araştırmacı

B. Ratlarda Kalıcı Kanül İle Oluşturulan Steatoz Modelinde Karaciğer Mikroanatomisinde Meydana Gelen Değişikliklerin İleri Mikroskopik Tekniklerle İncelenmesi Medipol Üniversitesi BAP 2014 Araştırmacı

9. İdari Görevler

10. Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

Türkiye Anatomi ve Klinik Anatomi Derneği

11. Ödüller

12. Son iki yılda verdiğiniz lisans ve lisansüstü düzeydeki dersler için aşağıdaki tabloyu doldurunuz.

Dersin Adı	2016-2017 Dönemi	Haftalık		Dersin Verildiği Bölüm	Öğrenci Sayısı
		T	P		
TEMEL ANATOMİ	Güz Dönemi	2	2	Anestezi Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	112
NÖROANATOMİ	Bahar Dönemi	2,5	3	Elektronörofizyoloji Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu/	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Beslenme ve Diyetetik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Beslenme ve Diyetetik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
KLİNİK NÖROANATOMİ	Güz Dönemi	3	3	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ	Bahar Dönemi	2	2	Eczacılık Programı/Eczacılık Fakültesi	120
GÖZÜN ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ	Güz Dönemi	1	1	Optisyenlik Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	70
ANATOMİ III	Güz Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ IV	Bahar Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
NÖROANATOMİ	Güz Dönemi	3	3	Ergoterapi Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
İNSAN ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ	Güz Dönemi	3	3	Okul Öncesi Öğretmenliği Programı/Eğitim Fakültesi	70
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Odyoloji Programı/Sağlık Bilimleri	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Çocuk Gelişi Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	80

ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Çocuk Gelişim Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	80
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Hemşirelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Hemşirelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Ebelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Ebelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Dil Konuşma Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Dil Konuşma Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
Dersin Adı	2017-2018 Dönemi	Haftalık		Dersin Verildiği Bölüm	Öğrenci Sayısı
		T	P		
TEMEL ANATOMİ	Güz Dönemi	2	2	Anestezi Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	112
NÖROANATOMİ	Bahar Dönemi	2,5	3	Elektronörofizyoloji Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu/	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Beslenme ve Diyetetik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Beslenme ve Diyetetik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
KLİNİK NÖROANATOMİ	Güz Dönemi	3	3	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ	Bahar Dönemi	2	2	Eczacılık Programı/Eczacılık Fakültesi	120

GÖZÜN ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ	Güz Dönemi	1	1	Optisyenlik Programı/Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu	70
ANATOMİ III	Güz Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ IV	Bahar Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
NÖROANATOMİ	Güz Dönemi	3	3	Ergoterapi Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
İNSAN ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ	Güz Dönemi	3	3	Okul Öncesi Öğretmenliği Programı/Eğitim Fakültesi	70
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Odyoloji Programı/Sağlık Bilimleri	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Ortez-Protez Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Çocuk Gelişi Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	80
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Çocuk Gelişi Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	80
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Hemşirelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Hemşirelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz Dönemi	3	4	Ebelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Ebelik Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	120
ANATOMİ I	Güz	3	4	Dil Konuşma Programı/Sağlık	40

	Dönemi			Bilimleri Fakültesi	
ANATOMİ II	Bahar Dönemi	3	4	Dil Konuşma Programı/Sağlık Bilimleri Fakültesi	40

