

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

**ALKOLİK SIÇAN KARACİĞERİ ÜZERİNE  
KARVAKROLÜN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayça AKSOY**

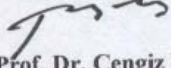
**Danışman: Prof. Dr. A. Ergin Açıklın**

**Ağustos,2007**

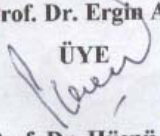
## KABUL VE ONAY YAZISI

Ayça Aksoy'un Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Alkolik Sıçan Karaciğeri Üzerine Karvakrolün Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği' nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

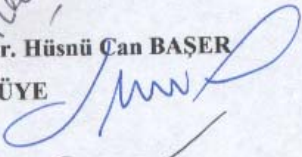
17.08.2007

  
Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

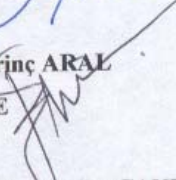
ÜYE

  
Prof. Dr. Ergin AÇIKALIN

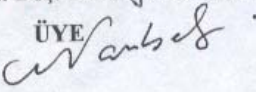
ÜYE

  
Prof. Dr. Hüsnü Can BAŞER

ÜYE

  
Prof. Dr. Erinc ARAL

ÜYE

  
Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK

ÜYE

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24.08.2007. Tarih ve 709/2294..... Sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Ferruh YÜCEL

Sağ. Bil. Enst. Müdürü

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ii</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1.    KARACİĞERİN HİSTOLOJİSİ .....	3
2.2.    KARACİĞERİN KAN DOLAŞIMI.....	15
2.3.    KARACİĞERİN HİSTOFİZYOLOJİSİ.....	16
2.4.    KARACİĞERDE REJENERASYON.....	21
2.5.    ALKOL METABOLİZMASI.....	25
2.6.    ALKOLE BAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA AMİNO TRANSFERAZLAR.....	29
2.7.    MAST HÜCRESİ VE KARACİĞER.....	30
2.8.    SERBEST RADİKALLER.....	34
2.9.    ANTİOKSİDANLAR.....	39
2.10.   KARACİĞER HASTALIKLARINDA KULLANILAN BAZI ALTERNATİF TIP UYGULAMALARI.....	42
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>45</b>
3.1.DENEY HAYVANLARI.....	45
3.2.KİMYASAL MADDELER VE UYGULAMALARI.....	45
3.3.DENEY GRUPLARI.....	45

3.4.KARACİĞER VE KAN ÖRNEKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	46
3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	49
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>51</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>73</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>90</b>
<b>7. SİMGE VE KISALTMALAR .....</b>	<b>91</b>
<b>8. RESİMLER DİZİNİ.....</b>	<b>94</b>
<b>9. TABLOLAR DİZİNİ.....</b>	<b>97</b>
<b>10. KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>98</b>
<b>11. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>109</b>

## ÖZET

Alkol metabolizmasının %90'ının karaciğerde olmasından dolayı uzun süre alkol kullanımının karaciğer hasarına yol açtığı bilinmektedir. Etanol karaciğerde lipid sentezini ve serbest radikalleri arttırarak yağlı dejenerasyona, fibrozise ve siroza neden olmaktadır. Alkolün karaciğerdeki doğal antioksidanları azaltması nedeniyle hepatosellüler hasar meydana gelir ve bu hasar antioksidanların kullanımı ile kısmen önlenabilir.

Birçok araştırmada *Origanum*'dan elde edilen karvakrolün antioksidan özellikleri gösterilmiş olmasına karşın alkolik karaciğer hasarına etkisi incelenmemiştir. Bu nedenle araştırmamızda sıçanlarda oluşturulan alkolik karaciğer hasarı üzerine karvakrolün olası etkilerini araştırdık.

Araştırmamızda yaklaşık 230±30 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her grupta 5 hayvan olacak şekilde, kontrol grubu, etanol grubu, sham grubu, ve 3 adet karvakrol grubu olmak üzere 6 gruba ayrıldı. %56 lık etanolün intragastrik gavaj yoluyla, ilk dozu 6gr/kg olarak verildi ve her gün arttırılarak 1.haftanın sonunda 8 gr/kg' e çıkarıldı. Diğer haftalarda sabit olarak 8 gr/kg verildi. Bu uygulama 6 hafta boyunca devam etti. Karvakrol gruplarına ise 50, 100, 200 mg/kg karvakrol, alkol grubuyla aynı dozda etil alkolde çözülerek her gün intragastrik gavaj yoluyla 6 hafta süresince verildi.

Deney süresi sona erdiğinde intrakardiyak kan örnekleri ve karaciğerleri hızlı bir şekilde alındı. Rutin histolojik takibin ardından 5 µm kalınlığındaki kesitlere hematoksilin-eozin, Masson'un trikrom boyası ve toluidin mavisi uygulanıp histolojik olarak incelendi. Kan örneklerinde AST ve ALT tayini yapıldı.

Alkol grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karaciğer kesitlerinde, özellikle periportal alanlarda hepatositlerde yağlı dejenerasyon, inflamasyon,

sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon ile hipoksiden kaynaklandığını düşündüğümüz sentrolobüler hücre hasarı gözlemlendi. Ayrıca alkol grubuna portal alanlardaki mast hücre sayısında ve degranülasyonunda, AST ve ALT enzim değerlerinde artış tespit edildi. Karvakrol grupları alkol grubuyla karşılaştırıldığında hepatositlerde yağlı dejenerasyonda azalma olmasına karşın inflamasyon, sinüzoidal konjesyon ve sentrolobüler hipoksik hücre hasarı ile mast hücre sayısında ve degranülasyonunda karvakrol dozuna bağlı artış gözlemlendi. Serum AST ve ALT değerleri alkol grubuna göre yüksek bulundu.

Araştırmamız sonuçlarına göre 50, 100, 200 mg/kg olarak saptadığımız ve 6 hafta süre ile uyguladığımız karvakrol oranlarının hepatositlerdeki yağlı değişikliği önlemesine karşın, yüksek doza bağlı olarak hasarı tamamen ortadan kaldırmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle antioksidanların yüksek dozlarda kullanımından kaçınılması gerektiği düşüncesindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Alkolik karaciğer hasarı, Karvakrol

## SUMMARY

It is well known that excessive intake of alcohol over a long period leads to liver injury because the liver accounts for 90% of alcohol metabolism and is the organ that is most adversely affected. Ethanol causes profound increase in hepatic lipid synthesis and free radicals leading to accumulation of lipids. As a consequence of lipid accumulation, histological changes such as fatty liver, fatty change, fibrosis, and cirrhosis ensue. Alcohol administration depletes hepatic antioxidants. Therefore, a compound with antioxidant properties can therapeutically ameliorate hepatocellular injury induced by alcohol.

There are several studies reporting effects of volatile oils upon human health extracted from *Origanum*. Carvacrol obtained from *Origanum* have antioxidant properties that demonstrated by numerous studies. However there is no study that investigates the effect of carvacrol in alcoholic liver damage. So that in our study we investigate the possible effects of carvakrol on alcohol induced hepatic damage in rats.

Sprague-Dawley female rats weighting about  $230\pm 30$  gr. The rats were divided into six groups each including 5 rats: one is control group, the other fed intragastrically with ethanol, another fed with water, and the last three were fed an ethanol-containing carvacrol daily. The initial dose of 56 percent ethanol was 6 gr/kg/body weight per day and the dose was progressively increased during wk 1 to a maintenance dose of 8 g/kg per day that was continued for 6 weeks. Carvakrol groups fed intragastrically with ethanol containing carvacrol for 6 weeks and doses are 50, 100, 200 mg/kg/body weight. Each group included 5 rats.

At the end of the study liver and intracardiac blood specimens was taken. Livers prepared with routine procedures and paraffine blocks dyed with hematoxylin-eosine, Masson's trichrome, toluidin blue to examined histologically. In blood specimens, AST and ALT were measured. As expected, compared with the

control group, alcohol group showed fatty change, inflammation, sinusoidal congestion and because of the hypoxia centrolobular hepatocytes were damaged. In addition the number of mast cells in portal areas increased compared with control group and serum AST and ALT levels were elevated. Compared with the alcohol group, in carvacrol groups there was significantly reduction on the fatty change. On the other hand there were no difference on inflammation, sinusoidal congestion, centrolobular hypoxia but number of mast cells increased compared with alcohol group. Serum AST and ALT levels are increased in all carvacrol groups. When carvacrol groups compared with each other the number of mast cells increase according to carvacrol doses.

Our results showed that 50, 100, 200 mg/kgv carvacrol treatment for 6 weeks prevented the fatty change, but according to the high carvacrol doses we observed that damage did not completely removed. Therefore, we think that using high doses of antioxidants have to be avoided.

**Key Words:** Alcoholic liver damage, carvacrol



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Alkol alışkanlığı; bir çok ülkede karaciğer hastalıklarının önde gelen nedenleri arasındadır. Alkol metabolizmasının gerçekleştiği başlıca organ olan karaciğer, çeşitli fonksiyonel ve dönüşümsüz değişiklikler için duyarlıdır. Sosyal olarak orta derecede alkol tüketenler de bile, karaciğer hasarı için risk oluşturur. Uzun süre ve aşırı miktarlarda etil alkol alanların büyük bir kısmında karaciğer zedelenmesi bulguları ortaya çıkar (68).

Alkol kullanımı derecesine ve sıklığına bağlı olarak, karaciğerde anlamlı, yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır (32, 44).

Bu değişiklikler arasında yağlı karaciğer, alkolik hepatit, hepatik fibrozis ve siroz sayılabilir (40). Akut ve kronik alkol kullanımının oluşturduğu karaciğer doku hasarını izlemede alanin amino transferaz (serum glutamat – piruvat amino transferaz) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oksaloasetat amino transferaz) tayininin yararlı olduğu gösterilmiştir (21, 71).

Alkolün karaciğerdeki etkisi, yıkım ürünü asetaldehite bağlı olarak, çeşitli mekanizmalarla ve önemli olarak da lipit peroksidasyonu ve serbest radikal artışı yaparak gösterir. Serbest radikaller ile lipit peroksidasyonu, hücre hasarı ve hücre zar yapısının bozulmasında birincil mekanizma olarak rol oynar (11, 16, 32).

Serbest radikaller, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilir veya onlarla birleşebilirler. Böylece diğer moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir, hatta pekçok dokuda hücre hasarı meydana getirebilirler. Serbest radikaller, organizmada, metabolik yolların işleyişi sırasında da oluşabilmekte veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de meydana gelebilmektedir. Birçok hastalığın oluşması ve patolojik durumun ortaya çıkmasında serbest radikallerin rolü vardır (2, 58, 66). Bunun yanısıra, bu molekülleri yakalayıp etkisiz hale getiren, “antioksidan” adı verilen maddeler bulunur. Normal koşullarda vücut, doğal antioksidan

sistemleriyle serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik sonucu, hücrelerin lipid tabakası peroksidasyona uğrayarak, oksidatif stres diye adlandırılan hücre hasarları meydana gelir. Çevreden ve besinlerle, oksidan etkili zararlı maddelerin vücuda alınmasının yanı sıra, yaşın ilerlemesiyle ortaya çıkan azalan enzim aktivitesine bağlı olarak da vücudun antioksidan savunma mekanizması yetersiz kalabilmektedir. Neyse ki, antioksidan görevleri olan çeşitli vitaminler, mineraller ve belirli enzimlerin dışarıdan vücuda alınabilmesi yanında, beslenme de iyi bir antioksidan savunma aracı olabilmektedir (12, 17, 65).

Araştırmamızda, oksidatif stres ile açıklanan alkolik karaciğer hastalıklarının gelişim sürecinde, deneysel olarak antioksidan özellikleri bilinen karvakrolün koruyucu etkisini araştırdık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KARACİĞERİN HİSTOLOJİSİ

Karaciğer, karın boşluğunun sağ üst bölümünde, diyaframın altında, mide ve barsakların üstünde yerleşmiştir. Karaciğer, vücudun deriden sonra en büyük organı ve en büyük bezidir. Sindirim sistemine ait yardımcı bir bez olarak kabul edilir. Ağırlığı yaklaşık 1,5 kg'dır (35).

Karaciğer, safra kanalları yoluyla safrayı duodenuma boşalttığından ekzokrin; albumin, globulinler, fibrinojen, lipoproteinler, protrombin gibi proteinleri ve glikoz sentezlemesi ve bu maddeleri kana doğrudan doğruya vermesinden dolayı endokrin bir bezdir ( 35, 36, 55) .

Karaciğer, diaframla ve arka yüzünde abdomen duvarıyla temas eden kısımları dışında çepeçevre peritonla örtülüdür. Karaciğeri en dıştan saran bu seröz zara visseral periton adı verilir. Bu zar, tek katlı yassı bir epitel türü olan mezotelyum ve altındaki ince bir bağ dokusundan oluşur.

Peritonun altında bulunan ve organı tümüyle dıştan kuşatan elastik fibrillerden zengin bağ dokusu bulunur ve Glisson kapsülü olarak isimlendirilir. Hilus bölgesinde Glisson kapsülü içeriye doğru girer ve organı loblara ve lobüllere ayırır. Sonuçta karaciğer bu bağ dokusu bölmeleri ile, sayıları yaklaşık 1 milyonu bulan, 1 mm çapında ve 1-2 mm uzunluğunda “karaciğer lobüllerine” ayrılmış olur. Histolojik kesitlerde lobüller, bal peteği gibi yan yana dizilmiş düzensiz altıgenler biçiminde gözlenir. 4 lobdan oluşan karaciğeri lobüllere ayıran bağ dokusu insanlarda çok az geliştiğinden lobül sınırları kolayca seçilemez. Oysa, deve, domuz ve kutup ayısı gibi hayvanlarda, bu bölmeler çok iyi gelişmiştir ve lobüller düzensiz altıgenler biçiminde kolayca birbirlerinden ayrılabilir (19, 20, 23, 36, 55).

Lobül içindeki bağ dokusunda yalnızca retikulum lifleri bulunur. Karaciğer hücreleri ile sinüzoidler arasında yer alan retikulum lifleri karaciğer parankimasını taşıyıcı görev yapmaktadır. Lobüllerin birbiriyle birleştiği bölümlerde bağ dokusu artarak, enine kesitlerde üçgen biçiminde seçilen alanlar oluşturur. Arter, ven ve safra duktusunu içeren bu bağ dokusu alanlara portal alan-Glisson üçgeni ya da Kiernan aralığı denir (20, 23, 36, 55).

### **Karaciğer Lobülleri**

Karaciğerin parankiması hepatositlerden oluşur. Hepatositlerin parankima içerisinde nasıl düzenlendikleri ve bunun anatomik ve fonksiyonel geçerliliği günümüzde de tartışma konusudur. Karaciğer parankiminin düzenlenmesiyle ilgili kabul edilen üç önemli model vardır.

#### **1- Klasik Karaciğer Lobülü**

Klasik karaciğer lobülü ortada vena sentralis, vena sentralisden ışınsal biçimde periferik uzanan karaciğer hücre kordonları ve bu kordonların arasında yer alan sinüzoidlerden oluşur. Tam kapsülün altında kalan lobüllerin dışında, çoğunun apeksi hilusa yöneliktir. Lobüllerin sayısı yaklaşık 1 milyondur. Enine kesitlerde lobül altıgen şeklinde seçilir. Lobülün her köşesinde Glisson üçgeni ortasında vena sentralis bulunur. Vena sentralis çevresinde ışınsal seyirli birbirleriyle anastomozlaşan, dallanan hepatositler bir epitelyal ağ (retikulum) oluşturduklarından karaciğer için retiküler bez terimi de kullanılmaktadır.

Tek bir hücre kalınlığındaki karaciğer hücre kordonlarına Remark kordonları ya da karaciğer hücre kordonları denir. Karaciğer hücre kordonları arasında bulunan sinüzoid tipi damarlar safra yolları ve retikulum lifleriyle birlikte retiküler bir düzenleme gösterirler.

Vena sentralis çevresinde yer alan karaciğer hücrelerinin oluşturduğu altıgen şekilli bu yapı birimine klasik karaciğer lobülü denir. Bu model karaciğerin mikroskopik incelemesinde bir kolaylığa yol açmasına karşın, karaciğer fonksiyonlarını tam açıklayamamaktadır (19, 23, 36, 55).

## **2- Portal Lobül**

Bu model Mall'ın "portal lobül" olarak adlandırıldığı modeldir. Özellikle bazı hastalıkların, karaciğer parankiminin spesifik bölgelerinde dejenerasyona yol açması birçok araştırmacıyı başka yapı modellerini tasarlamaya yöneltmiştir. Portal lobül tanımlamasında safra salgılanışı gözönüne alınmıştır. Portal aralık içindeki bir safra duktusuna safra veren komşu karaciğer hücreleri, portal lobül olarak adlandırılır. 3 klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesiyle portal lobülün sınırları çizilir. Portal lobül modeli, klasik karaciğer lobülüne göre daha fonksiyonel bir model olmasına karşın, bazı patolojileri yine de açıklayamamaktadır (19, 36, 55).

## **3- Portal Asinüs (Hepatik Asinüs)**

Bu modeli Rappaport ve arkadaşları geliştirmiştir. Diğer iki modele karşın daha fonksiyonel ve daha fazla kabul görmüş bir modeldir. İki komşu klasik lobül içinde aynı interlobüller venden kanlanan hücre grupları hepatik asinüs olarak tanımlanır. Lobüller arasında ilerleyen interlobüller ven komşu iki lobüle dağılmaktadır. Sınırları 2 vena sentralis ve 2 portal aralığın birleştirilmesiyle çizilir. Enine kesitlerde baklava biçimindedir.

Çok fonksiyonlu olan organlarda, değişik görevi olan hücreler arasında sitolojik farklılıklar bulunur. Karaciğerde ise hepatosit, birçok değişik görevi bir arada yapabilmektedir. Ancak hepatositlerin kanlanmasındaki özellik dikkate alınınca fonksiyonel açıdan hepatositleri 3 zona ayırmak mümkündür (19, 36, 55).

- **Periferik Zon (Zon I)**

Kan damarları lobülün periferinden merkeze doğru ilerlediğinden, glikojen, oksijen ve diğer maddelerden en zengin kanla karşılaşan periferik hücreler, sürekli aktivite gösterirler. Kandaki zararlı maddelerden de ilk etkilenen bu hücrelerdir. Glikojen en çok bu hücrelerde depolanır, daha az olarak da iç zonlarda birikir. Ancak açlık durumunda glikojenin yeniden kana verilmesi söz konusu olduğunda ilk önce sentral hücreler glikojenini boşaltmaktadır. Sentral zondaki hücrelerde glikojen tükenene kadar diğer zonlardaki hücrelerden glikojen verilmez.

Zon I ayrıca glukoneogenezde daha aktiftir ve diğer bölgelere göre daha fazla alkalin fosfotaz ve transaminaz içerir.

- **Ara Zon (Zon II)**

Periferik ve sentral zon arasında kalan aktivitesi değişen bir zondur.

- **Santral Zon (Zon III)**

Vena sentralis çevresindeki dar bir bölgeyi oluşturan dinlenme evresindeki hücrelerdir. Hücrelerin organelleri diğer zonlardaki hücrelerden daha az gelişmiştir. Bu bölgedeki hücreler, özellikle düz endoplazmik retikulumdan zengindir. Karaciğerde patolojik ve fizyolojik yağ birikimi santral zondaki hücrelerde başlar. Diet yetersizliği gibi bazı durumlarda ise yağ depolanması periferik zonda daha fazla olur. Neden ortadan kalkınca depo yağ da kaybolabilir. Santral zonda, ilaç metabolize edici enzimler en yüksek yoğunluktadır. Bu bölge viral, toksik ve anoksik karaciğer hasarına en çok maruz kalan bölgedir. (36, 55)

## **Karaciğer Parankim Hücresi Hepatosit**

Hepatositler, 20-30 mikrometre çapındadır ve vena sentralisten lobülün periferine doğru ışınsal şekilde uzanan tek ya da iki hücre kalınlığında hücre kordonları oluştururlar. Bu kordonlar, lobül içerisinde birbirleriyle anostomozlaşırlar. Karaciğerdeki tüm lobüllerdeki hepatositler adeta birbirlerine zincirleme olarak karmaşık bir labirent şeklinde bağlanmış durumdadır. Hepatositlerin yaptığı bu kordonların arasında kalan boşluklarda da sinüzoidal kapillerler bulunmaktadır. Enine kesitlerde hepatositler altıgen biçimlidir. Her hücrenin 3 tip yüzü vardır(20, 23, 36, 55).

- 1-Perisinüzoidal aralığa bakan yüz,
- 2-Komşu karaciğer hücresiyle arasında tübüler bir aralık (safra kanalikülü) bırakan, dolayısıyla safra kanalikülünü oluşturan yüz,
- 3-Komşu karaciğer hücresiyle sıkıca temas eden yüz.

Perisinüzoidal aralığa bakan yüzde çok sayıda, düzensiz şekil ve büyüklükte uzun mikrovilluslar bulunur. Böylece bu yüz 6 kat genişleyerek, sekresyon ve absorpsiyon için geniş bir yüzey oluşturulabilir. Perisinüzoidan aralık içinde bağ doku fibrillerinin bulunduğu yerlerde mikrovilluslar yoktur (55).

Safra kanalikülü, karşılıklı olarak komşu karaciğer hücre membranlarının kıvrılmasıyla tübüler bir aralık şeklinde oluşur. Bu yüzde de kısa mikrovilluslar bulunur. Safra salgılanıp salgılanmamasına göre mikrovillusların boyu değişiklik gösterir. Salgı olmadığı zaman mikrovillusların boyu artar ve lümeni kapatır (55).

Komşu karaciğer hücresiyle sıkı temastaki yüzde, özellikle safra kanalikülünün hemen altında ve üstünde kalan bölgelerde, hücreler arasında zonula okludens tipi sıkı bağlantı birimleri bulunur. Böylece safra bu kanalikül dışına sızması önlenmiş olur ve bir tür safra-salgı bariyerini oluşturur. Nexsuslar ve desmozomlar da hepatositler arasında sıkça rastlanan bağlantı birimleridir (36).

Hepatositlerde nükleus büyük ve yuvarlaktır. İki çekirdekli (binükleer) hücrelere de rastlanır ve çekirdek tipik veziküler çekirdektir. Mitoz erginde nadirdir, fakat yaralanmadan sonraki tamir evresinde hepatositlerde bol mitoza rastlanır. Sitoplazma çok sayıda büyük mitokondri ve oldukça gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum'un bulunması nedeniyle eozinofiliktir. Hepatositlerde endoplazmik retikulumun hem granüllü hem granülsüz tipi gelişmiştir. Granülsüz endoplazmik retikulum, çeşitli maddelerin sülfat ya da glukronidle birleştirilerek inaktive ya da detoksifiye olduğu yerlerdir. Bu organel sistemi çevresel değişikliklere ani yanıt verebilen labil bir sistemdir. Barbitüratlar gibi bazı ilaçlar verildiğinde hepatositlerde granülsüz endoplazmik retikulum sayıca artar ve bu ilaçların bağlanmasıyla ilgili enzim aktiviteleri fazlalaşır. Endoplazmik retikuluma normalde bulunan glukronil transferaz enzim yetersizlikleri barbitürat tedavisi sonunda ortaya çıkabilir. İlaçlar, toksinler ya da metabolik uyarıların etkilemesi sonucunda hepatosit sitoplazmasında en baskın organel granülsüz endoplazmik retikulum olur. Fenobarbital, etanol, anabolik steroidler ve progesteron, bazı kanser ilaçları uygulandıktan sonra agranüler endoplazmik retikulum hipertrofisi gerçekleşir. Diğer yandan, CCl<sub>4</sub>, 3,4-benzyrene gibi hepatotoksik ajanların metabolizması granülsüz endoplazmik retikuluma yapılıdır. (36, 55)

Karaciğer hücreleri, kandan glukoz fazlasını alarak glikojen şeklinde sitoplazmasında depolar, böylece kan şekeri düzeyini dengelerler. Sitoplazmada depolanan glikojen beslenme durumuna göre farklı miktarlarda olabilir. Glikojen granülleri özel bir karbonhidrat boyası olan PAS ile gösterilebilir (20, 23, 36, 55).

Hepatositlerde Golgi kompleksi çok sayıdadır ve safra kanalikülüne yakın yerleşimlidir. Burada yerleşmiş golgi kompleksi yapılarının safra salınımıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Hücrenin sinüzoidal yüzeyi civarında bulunan Golgi sisterna ve vezikülleri 25-80 nm. çapında elektron yoğun granülleri içermektedir. Bu yapıların çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL'ler) ve diğer lipoproteinlerin öncülleri olduğu düşünülmektedir.



Lizozomlar, Golgi kompleksinde son şeklini aldığından safra kanalikülüne yakın yerlerde çok sayıda görülürler. Lizozomlar pigment granüllerini (lipofuksin), kısmi olarak sindirilmiş sitoplazmik organelleri ve miyelin şekillerini çeşitli miktarlarda içerirler. Hepatosit lizozomları ayrıca demir (ferritin kompleksleri şeklinde) depolama alanlarıdır. Anemi, viral hepatit ve basit obstrüktif safra stazında lizozomların sayısı artar.

Hepatositler hücre başına yaklaşık olarak 200-300 peroksizom içerir. Peroksizomlar, genel sitoplazmik metabolik aktivitenin bir ürünü olan  $H_2O_2$ 'nin yıkım yerleridir. Bundan başka, peroksizomlar; glukoneogenezis, purin metabolizması, alkol metabolizması ve lipit metabolizmasında özel oksidatif fonksiyonlara sahiptir. Vücuda alınan alkolün yaklaşık olarak yarısı karaciğer peroksizom enzimleri tarafından asetaldehite dönüştürülür. İnsanlarda alkol dehidrojenaz, katalaz ve D-amino asit oksidaz peroksizomlarda bulunur.

Mitokondri, her hepatositte yaklaşık 2000 tane bulunmaktadır, sferik ya da ovoid biçimli mitokondrilerin kristalleri çok sayıdadır. Mitokondrilerden zengin oluşu hücrenin yüksek metabolik aktivitesine işaret eder.

Karaciğer hücresinde lipit, glikojen, GER miktarının değişik oranlarda bulunuşu hepatositin fonksiyonunun çok yönlü olduğunu gösterir (36, 55).

### **Sinüzoidler**

Portal aralık çevresinde karaciğer hücreleri, bir hücre kalınlığında periportal bağ dokusuna dayanmış bir tabaka şeklinde (sınırlayıcı plak) bulunur. Bu plak hücreleri arteria hepatica, vena porta ve safra duktusunun dallarıyla delinmiştir ve hücreleri santral karaciğer hücrelerinden biraz daha küçüktür.

Portal aralıkta bulunan vena portanın ve arteria hepaticanın dalları kanlarını karaciğer hücre kordonları arasında bulunan düzensiz şekilli, özel, her yerde rastlanan kapilerden daha büyük ve sinüzoid adı verilen damar sistemine boşaltırlar.

Sinüzoidler içerisinde hem arter, hemde ven kanı bulunmaktadır. Sinüzoidal damarlar birbirleriyle anastomozlaşarak karaciğer hücre kordonlarını birbirinden ayıran bir kan labirenti oluşturduktan sonra klasik lobülün ortasında bulunan vena sentralise açılırlar. Vena sentralis duvarı birçok sinüzoidin açılmasından dolayı çok sayıda delik taşır ve çevresindeki karaciğer hücreleride kesintili bir duvar oluştururlar.

Sinüzoidlerin yapısal olarak kapillerlerden daha geniş çaptadırlar. Lümen seyri boyunca genişleyip daralarak değişimler gösterirler. Kapiller endotelinde lümeni döşeyen endotel hücrelerinin sınırları gümüşleme ile gösterilebilirken sinüzoid endotel hücreleri gösterilemez. Kapiller çevresinde bağ dokusundan oluşmuş ayırıcı bir tabaka bulunur. Sinüzoidler ise arada bağ dokusu olmaksızın (yer yer ince retikulum lifleri bulunur) karaciğer hücreleri ile temastadır. Sinüzoid duvarında endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, Ito hücreleri olmak üzere 3 tip hücre bulunur (23, 36, 55).

#### ▪ **Endotel Hücresi**

Endotel hücrelerini çok ince retikulum liflerinden oluşan bir bazal membran çevreler. Bazal membran bazı bölgelerde kesintili olup, bazı bölgelerde hiç bulunmaz. Endotel hücreleri aralıklı olarak yerleşirler. Böylece sinüzoid duvarında büyük aralıklar, pencereler bulunur. Nadiren sıkıca yan yana gelen endotel hücrelerine rastlanır. Yassı ve koyu boyanan nükleusları vardır. Sitoplazma az olduğu için, organelleri de azdır. Sitoplazmalarında küçük mikropinositik veziküller bulunur (36, 55).

#### ▪ **Kupffer'in Fagositik Yıldız Hücresi :**

Sinüzoidleri döşeyen endotel hücrelerinin arasında ya da lümene bakan yüzünde tutunmuş olarak başka bir hücre tipine daha rastlanır. Kupffer hücreleri olarak bilinen

bu hücreler, organizmada yaygın bir dağılım gösteren mononükleer fagositik sistemin üyesidirler. Kemik iliği kökenlidirler ve hepatik makrofajlar olarak da bilinirler. Başlıca fonksiyonları, dolaşımdaki zararlı ajanları ve ömrünü tamamlayan yaşlı eritrositleri ortadan kaldırmaktır. Ayrıca, immünmodülatör fonksiyonları olan çeşitli sitokinleri salgırlar. Bu hücreler endotel hücrelerinden daha büyüktür. Nükleusları oval ve büyük, nükleolusları çok belirgindir. Nükleusun soluk boyanması ve biçimi endotel hücrelerinden kolayca ayırt edilmesini sağlar. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzüne komşu olan bu hücrelerin düzensiz sitoplazmik uzantıları yıldız biçimini kazandırır. Kupffer hücrelerinin ne birbirleriyle ne de endotel hücreleriyle sitoplazmik bağlantısı yoktur. Sitoplazmik uzantıları endotel hücreleri arasındaki pencerelere doğru uzanır.

Fagositik hücreler olduğundan sitoplazmalarında bol lizozom ve fagositik ürünler (eritrosit parçalanmasından açığa çıkan demir, pigment gibi) bulunur.

Peroksidaz reaksiyonu pozitifdir, böylece peroksidaz reaksiyonu negatif olan endotel hücrelerinden kolayca ayrılabilir. Yine boya partiküllerini içeren enjeksiyonlar sonucu fagositik özellikleri olan bu hücreleri belirlemek kolaydır. Organel bakımından zengin hücrelerdir.

Diğer makrofajlar gibi kemik iliğinden türeler, ancak deneysel olarak uyarmalardan sonra mitozla çoğaldıkları da görülmüştür. Bazı durumlarda Kupffer hücresi sinüzoid duvarından ayrılarak vena hepatica yoluyla dolaşıma girer. A vitamini depolayabilirler (36, 55).

#### ▪ İto Hücreleri

Disse aralığında İto hücreleri olarak bilinen yağ depolayıcı hücreler yer alır. Bu hücrelerde A vitamininden zengin lipid çökeltileri bulunur. Sağlıklı karaciğerde bu hücreler, retinoidlerin alınması, depolanması ve salgılanması, bazı ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve proteoglikanların sentezi ve salgılanması, büyüme faktörlerinin ve

sitokinlerin salgılanması ve prostoglandinler, tromboksan A2 gibi çeşitli düzenleyici maddelere yanıt olarak sinüzoid lümen çapının düzenlenmesi gibi bazı işlevler görür.

İto hücreleri endotelin altında ve sinüzoidlerde uzun sitoplazmik uzantıları bulunan, hepatositler arasındaki bağlantıyı sağlayan hücrelerdir. Aynı zamanda birbirleriyle ve sinir sonlanmalarıyla da bağlantı yaparlar.

İto hücrelerinin elektron mikroskopik görünümü; çekirdeği sıkıştırmış yağ damlacıkları, kısmen gelişmiş GER, hücre iskeletini oluşturan yapılarda azalma, az sayıda mitokondriyon ile karakterizedir. İto hücreleri hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitlerde tanımlamak zordur. Özel boyama olarak toluidin mavisi, bazik fuksin, oil red O gibi histolojik boyalar kullanılarak bu hücreleri gözlemek mümkündür. Gümüşleme tekniği ile insan karaciğer doku kesitlerinde sentrolobüler alanlarda çok sayıda İto hücresi gözlenmiştir. İto hücrelerinin gözlenmesi A vitamininin boyanmasına bağlıdır.

İmmunohistokimyasal olarak ito hücreleri, hücre iskeletini oluşturan hücrelere antikor olarak tanımlanabilirler. Sıçanlarda desmin, İto hücreleri için iyi bir tanımlayıcıdır. Normal insan karaciğerinde düz kas  $\alpha$ -aktini pozitif olan ito hücreleri bulunmuştur. Mezenşimal kaynaklı birçok hücrede olduğu gibi, insan ve sıçan yıldızlı hücrelerde vimentin tanımlanmıştır. Sıçan ito hücreleri gliyal fibrilar asidik protein (GFAP) içerir ve bu astrositlerdeki ara filamentlerin ana bileşenidir. İto hücrelerinde nöral hücre adezyon molekülü (N-CAM) de bulunmaktadır.

İto hücrelerine “karaciğer özel perisitleri” de denmektedir. Çünkü bunlar astro gliyal ve nöral kökenli hücre işaretleyicilerine sahip olması ile çarpıcı benzerlik gösterir. Ara filament ekspresyon örnekleri dikkat çekicidir.

İto hücrelerinin normal işlevleri yanında akut ve kronik karaciğer hastalığı, A vitamini intoksikasyonu ve karaciğer tümörlerinde değişik işlevleri vardır. Kronik karaciğer hastalığı, fibrozis ve sirozda, İto hücrelerince birçok miyofibroblast benzeri hücre gözlenir. İto hücrelerinin, karaciğer fibrogenezinde önemli role sahiptir. Kronik A

vitamini intoksikasyonunun erken döneminde, İto hücrelerinin sayısında ve hücre içi yağ damlacıklarının miktarında artış vardır. Hepatosellüler karsinoma ve metastik karsinomada düz kas  $\alpha$ -aktini pozitif İto hücrelerinin sayısı artar (23, 36, 55).

### **Disse Aralığı – Perisinüzoidal Aralık – Subendotel Aralık**

Karaciğer hücreleri ile sinüzoid duvarı arasında dar bir aralık bulunur. Bu aralığa Disse aralığı-perisinüzoidal aralık-subendotel aralık adı verilmektedir. Bu aralık elektron mikroskopunda karaciğer hücresi ile endotel arasında seçilebilir ve burada hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Disse aralığında retiküler fibriller ve kollajen fibriller bulunursa da gerçek ara madde bulunmaz. Sinüzoidlerdeki kan endotel hücreleri arasından kolayca sızarak bu aralığa geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Buraki sıvı plazma niteliğinde olmasına karşı Disse lenfatik aralık değil , interstisyel aralıktır. (gerçek lenfatik aralık endotelle dōşelidir). Bununla birlikte Disse aralığı karaciğerde çok miktarda yapılan lenf yapımında önemli rol oynar (55).

Disse aralığı lobülün periferinde Mall aralığı ile devam eder. Mall aralığı portal aralıktaki safra duktusu ve damarların çevresinde bulunur. Bu aralıktan kör uçlar halinde karaciğer lenf damarları başlar.

Disse aralığı içinde hem endotel hücresinden, hem de Kupffer hücresinden türeyebilen az sayıda perisinüzoidal hücreler bulunur. Parisinüzoidal hücreler, Disse aralığında tipik fibroblast bulunmadığından, retiküler ve fibrojen fibril sentezleyebilirler. Disse aralığı içindeki fibrillerin gelişim yeri bazı araştırmacılara göre de endotel hücreleridir. Perisinüzoidal hücrelerin sitoplazmalarında yağ damlaları bulunur. Fizyolojik önemleri ise tam olarak bilinmemektedir. Fagositik değildir. Fötal karaciğerde bu hücreler olasılıkla hemopoiezisi sağlayan stem cell olarak görev yapar.

Perisinüzoidal hücreler en çok intermediet ve periferik zonda bulunur, santral zonda az sayıdadır (55).

## **SAFRA KANALİKÜLLERİ**

Safra kanalikülleri, karaciğerin ekzokrin tipte salgısı safranın hücreler arası iletiildiği kanalcıklardır (23). Bu kanalcıklar, karaciğer hücreleri arasında yer alır ve duvarını karaciğer hücrelerinin oluşturur. Hepatositler arasındaki safra kanalikülleri safra kanal sisteminin ilk bölümünü oluşturur. Daha sonra hepatositler arasında bulunan bu küçük kanaliküller tüm bir lobül içindeki hücrelerin arasından kanla temas etmeksizin birbiriyle labirent şeklinde birleşerek bir ağ oluştururlar. Her safra kanalikülü sinüzoidden karaciğer hücresinin kalınlığının yarısı kadar uzaklıktadır. Kanalikülleri rutin boyalar ve incelemelerle seçmek çok güçtür. Gümüşleme ile ya da alkale fosfataz reaksiyonu ile (kanalikül duvar membranı ATPase ile pozitif reaksiyon verir) belirgin olarak seçilebilirler (23, 36, 55).

Elektron mikroskopik incelemelerde kanalikül lümenine hepatositin birçok mikrovillus gönderdiği görülür. Dış tarafta iki karaciğer hücresi arasında zonula okludens ve gap junction şeklinde sıkı bağlantının bulunuşu, safra kanalikülü lümeni ile intersellüler aralığın bağlantısını keser. Safra kanalikülü iki karaciğer hücresi arasında biraz genişlemiş bir intersellüler aralıktır.

Safra kanaliküllerinin oluşturdukları ağ herbir lobülün kenarında, portal alana girmek üzere iken, Hering kanalı (safra kanalcığı) adı verilen daha geniş bir kanal oluştururlar. Hering kanalı da sonuçta portal alandaki interlobüler safra kanalına akar. Görüldüğü gibi safranın akış yönü, kanın akış yönüne göre ters, yani merkezden periferine doğrudur. Bu kanalın epitel tek katlı kübik epitelden prizmatik epitele değişiklik gösterebilir. Epitel hücreleri oval bir çekirdek, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve mitokondriyona sahiptir. Sitoplazmaları mikropinositik veziküller, bazen de kolesterol kristalleri içerir. Hering kanalının epitel hücreleri belirgin bir bazal lamina üzerine oturmuşlardır ve apikal yüzlerinde bol miktarda mikrovillus bulunur. Hücreler arasında bağlantı birimleri ve çeşitli interdigitasyonlarla ilişki sağlanır.

İnterlobüler safra kanallarının çapları gittikçe artar. Kanalların çevresini gevşek bağ dokusundan oluşmuş lamina propria sarar. Lamina propriada elastik lifler ve bazen düz kas hücreleri bulunur. Ana interlobüler safra kanalı (portal alanlardaki interlobüler safra kanallarının birleşmesiyle oluşur) karaciğer hilusundaki lobar safra kanallarına açılır. Sağ ve sol lobar safra kanalları hilusda birleşerek ortak safra kanalını oluştururlar. Karaciğerden çıkan duktus hepaticus komminis safra kesesinden gelen sistik kanalla birleşir ve duktus koledokus adıyla, duodenuma boşalır (36,55).

### **PORTAL ARALIK GLİSSON ÜÇGEN-KİERNAN ARALIĞI**

Bir karaciğer lobülünün komşu lobüllerle birleştiği köşelerde, ince bağ dokusu bölmeleri daha da genişler ve kabaca üçgen biçiminde izlenir. Lobüllerin kesiştiği bölgelerdeki bu genişlemiş bağ dokusu alanlarına, portal alan veya portal aralık veya Kiernan aralığı adı verilir. Bu alanda vena porta, arteria hepatica, safra duktusu (portal triad) ve bir lenfatik damar bulunur. En büyük yapı genellikle vena portanın dalı olan vena interlobularisdir, en küçük yapı ise arteria hepaticanın dalı olan arteria interlobularisdir. Lenfatik damarlar endotelle döşeli yarık şeklinde genişlemiş yapılar olarak seçilir. Tüm bu yapıların ve bunları çevreleyen bağ dokusunun hacmi hiluma doğru giderek artar (36,55).

### **2.2 KARACİĞERİN KAN DOLAŞIMI**

Retroperitoneal organlar hariç, özafagusun abdominal parçasından itibaren, mide, duodenum, jejunum, ileum, kalın barsaklar, dalak ve pankreasın tüm venöz kanı, kalbe dönmeden önce işlenmek üzere karaciğerden geçer. Vena porta ile barsaklardan, pankreasdan ve dalaktan gelen venöz kan, barsaklardan absorbe edilen maddeleri, pankreasın endokrin salgısını, kan hücrelerini ve onların yıkım ürünlerini içermektedir. Bu maddeler karaciğer hücreleri tarafından metabolize edildikten sonra ya karaciğerde depolanır ya da kullanılmak üzere yeniden kana verilirler. Parçalanma ürünleri zararsız bileşikler ise safra içinde dışarıya atılır.

Vena porta karaciğerin fonksiyonel kan damarıdır, karaciğere gelen total kanın %75'i vena portadan sağlanır. Karaciğere %25 oranında kan getiren arteria hepatica ise oksijenden zengin besleyici damardır. Vena porta ve arteria hepatica organın hilusundan bir bağ dokusu kılıfıyla sarılı olarak organın içerisine birlikte girerler. Önce sağ ve sol loblara ayrılarak, arteria ve vena interlobaris'lere dallanırlar. Daha sonra gittikçe incelen dallar halinde lobüllerin kesiştikleri portal alanlarda, arteria ve vena interlobularis adlarını alırlar. Lobüllerin retiküler liflerle çevrili olan ince sınırları boyunca, dağıtıcı arteriol ve venül adlarıyla daha da incelenerek lobülün sınırlarını dolaşırlar. Dağıtıcı damarlardan ayrılan hem arteriel hem de venöz kan birbirine karışarak, özelleşmiş bir kapiller türü olan sinüzoidlere akar. Böylece sinüzoidler hem arteriel hem venöz kan içerir. Bu ilginç ve sıradışı dolaşıma "pleksus mirabilis" (hayret verici pleksus) denir.

Sinüzoidlerdeki kan karaciğer lobülünün ortasında yerleşen vena sentralis'e akar. Vena sentralis, her bir karaciğer lobülünün tam ortasında bulunur. Kendisine dökülen sinüzoidler ise, santral venden lobülün periferine doğru ışınal bir biçimde düzenlenmiş gösterirler. Santral venler birleşerek, vena sublobularis'leri, onlar da vena hepatica'yı oluşturur. Vena hepatica karaciğeri terk edip, vena kava inferior aracılığıyla sağ atriyuma dökülür.

Kan karaciğer lobülünde çevreden merkeze doğru akar. Sonuç olarak oksijen ve metabolitler ile barsaklarda emilen diğer bütün toksik olan ve olmayan maddeler önce lobülün çevresindeki hücrelere, daha sonra merkezindeki hücrelere ulaşır. Bu kan akım yönü perilobüler hücrelerin, sentralobüler hücrelerden farklı davranmasının nedenini kısmen açıklayabilir (35, 36, 55, 23).

## **2.3 KARACİĞERİN HİSTOFİZYOLOJİSİ**

### **Karbonhidrat Metabolizması**

Karaciğer, hipofizin ön lobu ve sürrenal korteks ile birlikte karbonhidrat metabolizmasının her evresinde rol alır. Karaciğer glikoz, fruktoz ve galaktozu



glikojene çevirerek depo eder (glikojenezis). Ayrıca alınan karbonhidratların fazlasını depo edilmek üzere yağa çevirir. Gıda alınmadığı hallerde ya da kan şekeri düştüğünde, karaciğer glikojeni parçalayarak enerji gereksinimini karşılamak üzere kan glikozunun normal kalmasını sağlar (glikojenolizis). Hepatositler, lipitlerin gliserol parçalarını ve aminoasitleri glikoneogenezis denilen enzimatik bir yolla glikoz haline dönüştürür. Tokluk durumunda karaciğer glikojeni glukozu çevirerek kırmızı kan hücreleri ve santral sinir sistemi hücreleri gibi kendi sentez depoları olmayan hücrelere gönderir. (36, 71, 72)

### **Protein Metabolizması**

Karaciğer protein metabolizmasında da önemli rol oynar. Karaciğer, birçok plazma proteinini sentezler. Bunlar; taşıma ve bağlanma proteinleri (albumin, transferrin, seruloplazmin, haptoglobulin), proteaz inhibitörleri (antitrombin III, alfa 1-antitripsin), hemostaz proteinleri (protrombin, fibrinojen) ve doku enflamasyon proteinleridir. Kısaca, bütün plazma proteinleri, gama globulinlerin bir bölümü dışında, karaciğer hücrelerinde yapılırlar. Geri kalan gama globulinler antikordlardır ve başlıca lenfatik dokuda plazma hücrelerinde yapılırlar. Karaciğerde plazma proteinlerinin yapım hızı günde maksimum 15-50 gram olabilir. Bu nedenle vücutta plazma proteinlerinin yarısı kaybolursa bile bu miktar bir iki haftada yerine konabilir. Plazma proteinlerinin azalması karaciğer hücrelerinde mitozu hızlandırarak karaciğerin büyümesine yol açar.

Albuminin çoğu karaciğer tarafından üretilir ve karaciğer fonksiyonunu gösterir. Karaciğer hastalıklarında Ig plazma seviyeleri de değişir. Karaciğer ayrıca nitrojen metabolizmasından sorumludur. Aminoasitleri amonyak ve krebs döngüsüyle üreye çevirir. Ağır karaciğer hasarında kanda üre nitrojeni (BUN) azalır, amonyak ve aminoasitler yükselir.

Karaciğerin diğer bir görevi ise aminoasitlerin deaminasyonudur. Amino asitlerin, enerji için kullanılmadan ya da karbonhidrat veya yağlara çevrilmeden önce deaminasyonu gerekir. Vücuttaki diğer dokularda, özellikle böbreklerde az miktarda

deanimasyon olsa da, karaciğerdekinin çok küçük bir yüzdesini kapsar. Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri de bazı amino asitlerin sentezini yapması ve amino asitlerinden önemli kimyasal bileşikleri oluşturmasıdır. Örneğin esansiyel olmayan amino asitlerin hepsi karaciğerde sentezlenebilir.

Karaciğer, üre oluşumuyla vücut sıvılarından amonyağı uzaklaştırır. Deanimasyon işlemlerinin ürünü olan büyük miktardaki amonyağa, barsaklarda bakterilerle sürekli olarak yapılıp kana absorbe edilen amonyak da katılır. Bu nedenle karaciğerin üre yapımı yokluğunda, plazmadaki amonyak konsantrasyonu hızla yükselir ve hepatik koma ile ölüm görülür. Gerçekten, karaciğer kan akımı çok azaldığı zaman bile seyrek olarak, portal ven ve vena kava arasındaki şantlarda çok miktarda amonyak kanda birikerek çok toksik bir durum yaratır (25, 36, 72).

### **Lipit Metabolizması**

Yağ metabolizması kısmen vücuttaki bütün hücrelerde yürütülse de, bu metabolizmanın bazı işlemleri başlıca karaciğerde yapılmaktadır. Karaciğerin yağ metabolizmasındaki özgün fonksiyonları şöyle özetlenebilir: vücut fonksiyonları için enerji sağlayacak yağ asitlerinin büyük bir hızla oksidasyonu, lipo-proteinlerin bir çoğunun oluşumu, büyük miktarda kolesterol ve fosfolipid sentezi, karbonhidrat ve proteinin yağa dönüşümü.

Enerji elde etmek üzere nötral yağlar ilk olarak gliserol ve yağ asitlerine ayrılır. Daha sonra yağ asitleri beta oksidasyonla iki karbonlu asetil köklerine ayrılır. Bunlar da asetilkoenzim A (asetil CoA) yı oluştururlar. Asetil koenzimA, sitrik asit siklusuna girerek okside olur ve büyük miktarda enerji sağlar. Beta oksidasyon vücuttaki bütün hücrelerde yapılırsa da karaciğer hücrelerinde bu olay özellikle hızlıdır. Karaciğer oluşan asetil-CoA'nın hepsini kullanamaz. İki molekül asetil CoA'nın birleşmesiyle oluşan asetoasetik asit çok kolay erir ve karaciğer hücrelerinden ekstrasellüler sıvılara geçip, bütün vücuda taşınarak dokular tarafından absorbe edilir. Dokular da asetoasetik

asidi tekrar asetil-CoA'ya çevirerek normal yoldan okside ederler. Bu nedenle, karaciğerin yağ metabolizmasından büyük ölçüde sorumlu olması doğaldır.

Karaciğerde sentezi yapılan kolesterolün yaklaşık yüzde 80'i safra tuzlarına çevrilerek safraya salgılanır. Geri kalanı lipoproteinler içinde kanla vücudun tüm doku hücrelerine taşınırlar. Fosfolipidler de karaciğerde aynı şekilde sentez edilerek başlıca lipoproteinler içinde taşınırlar. Kolesterol ve fosfolipidler hücrelerde membranların, intrasellüler yapıların oluşumunda ve hücre fonksiyonları için önemli olan kimyasal maddelerin yapımında kullanılırlar.

Vücutta karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi büyük ölçüde karaciğerde gerçekleşir. Karaciğerde sentezi yapıldıktan sonra yağ, lipoproteinler içinde yağ dokusuna taşınarak depo edilir (25, 72).

### **Vitaminlerin Depo Edilmesi**

Karaciğerin vitaminleri depo etme özelliği vardır. Uzun süredir, hastaların tedavisinde karaciğerin mükemmel bir vitamin kaynağı olduğu bilinmektedir. Karaciğerde büyük miktarda depo edilen tek vitamin, A vitamindir. Ancak normal miktarlarda D vitamini ve B<sub>12</sub> vitamini de depo edilir. Karaciğer A vitamini eksikliğini on ay kadar uzun bir zaman önlemeye yetecek miktarda A vitamini, D vitamini eksikliğini üç dört ay önleyecek kadar D vitamini, en az bir yıl ya da yıllarca eksikliğini önleyecek kadar da B<sub>12</sub> vitamini depo edilebilir (25).

### **Kan Pıhtılaşması ile Karaciğerin İlişkisi**

Kanda koagülasyon işleminde kullanılan maddelerin çoğu karaciğerde sentezlenir. Bu maddeler fibrinojen, protrombin, akseleratör globulin, faktör VII ve birçok öteki önemli koagülasyon faktörleridir. Karaciğerde protrombin, VII, IX ve X

faktörlerin oluşumundaki metabolik olaylar K vitaminini gerektirir. K vitamini yokluğunda bu maddelerin konsantrasyonu çok düştüğünden pıhtılaşma hemen hemen tamamen ortadan kalkar (36, 25).

### **Demir Depolanması**

Vücutta kandaki hemoglobinde bulunan demir dışında, demirin en büyük bölümü karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir. Karaciğer hücrelerinde, demirle az ya da çok miktarlarda birleşebilen bir protein olan apoferritin bol miktarda bulunur. Böylece vücut sıvılarında demir miktarı arttığı zaman, apoferritinle birleşerek ferritin oluşur ve gerektiğinde başka bir yerde kullanılmak üzere saklanır. Dolaşımında vücut sıvılarında demir miktarı düştüğünde ferritin demiri serbestleştirir. Böylece, karaciğerdeki apoferritin- ferritin sistemi bir demir deposu görevi yaptığı gibi kan demirinin tamponu işlevini de yürütür (36,25).

### **İlaçların, Hormonların ve Diğer Maddelerin Karaciğer Tarafından Atılması**

Karaciğerdeki çok aktif kimyasal ortamın birçok ilacı; sulfonamid, penisilin, ampisilin, eritromisin gibi zehirsizleştirerek safra ile attığı iyi bilinmektedir. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden salgılanan tiroksin, östrojen, kortizol ve aldosteron gibi tüm steroid hormonlar da karaciğer tarafından ya kimyasal olarak değiştirilir ya da dışarı atılır. Böylece karaciğer harabiyetinde, çok defa bu hormonlardan birinin ya da birçoğunun vücut sıvılarında birikmesi, hormonal sistemin aşırı faaliyetine yol açar. ayrıca kandaki kalsiyumun başlıca atılma yollarından biri de safraya geçerek feçesle uzaklaştırılmasıdır (36,25).

### **Karaciğerde Lenfatik Sistem**

Karaciğerde bulunan lenf diğer lenf sıvılarından daha fazla protein içerir ve albumin globulin oranı plazmadan biraz daha yüksektir.

Duktus torasikusa gelen lenfin büyük bir bölümü karaciğerden az bir bölümü de mezentrik lenfatikler aracılığıyla barsaklardan gelmektedir.

Lobül içinde lenfatik bir damar yoktur. Disse aralığı lenfin oluştuğu ilk yerdir. Olasılıkla plazma Disse aralığına geçer, buradan da lobülün periferine ilerler, Kiernan aralığında lenfatik damarlara boşalır. Lenfatik damarlar septumlarda ve glisson kapsülünde zengin bir pleksus oluşturur. Lenfatik damarların çapı giderek büyür ve hilusa yakın en büyük hacme ulaşır (55).

## **2.4. KARACİĞERDE REJENERASYON**

Karaciğerde rejenerasyon özelliği oldukça fazladır. Karaciğerin bir bölümünün cerrahi operasyonla çıkarılmasından ya da toksik (hepatotoksik) maddelerin verilmesinden (karbontetraklorür, kloroform gibi) kısa bir zaman sonra organ normal ağırlığını yeniden kazanır. Sıçanlarda karaciğerin %75' i çıkarılırsa bir ay içinde kaybedilen dokunun yerine konduğu görülür. İnsanlarda bu özellik biraz daha sınırlıdır.

Rejenerasyon, geride kalan sağlam hepatositlerin mitozu ve büyümeleri ile sağlanır. Yeniden restore edilen karaciğerde parankimal hücrelerin normalden büyük olduğu ve binükleer hücrelerin çoğaldığı görülür. Ayrıca interlobüler safra duktuslarının tomurcuklanıp farklılanmalarıyla da yeni karaciğer hücreleri oluşabilmektedir.

Karaciğerde mitoz olayı kanda dolaşan şalon denen mitoz inhibitörü maddelerle kontrol edilir. Doku hasarında ya da kısmen çıkarılmasında yapılan şalon miktarı düşer, mitoz baskısı kalktığından karaciğerde hızlı bir mitoz görülür. Rejenerasyon ilerledikçe yapılan şalon miktarı artar, mitoz giderek azalır ve biter. Bu sistem kendi kendini düzenleyici bir kontrol mekanizmasıdır. Karaciğerden başka diğer dokularda da benzeri mekanizmanın bulunduğu saptanmıştır.

Sürekli ya da tekrarlanan karaciğer hasarlarında, karaciğer hücre rejenerasyonu ile birlikte bağ dokusu artımı da hızlandığından giderek karaciğer bağ dokusu miktarı artar ve siroz denen patoklojik tablo ortaya çıkar (40, 55).

Deneysel olarak deney hayvanlarına karbontetraklorür verilmesi karaciğer lobüllerinin santral zonlarında hücre harabiyetine neden olur. Nekrotik hepatositler otolizle yok edilirken, lobülün periferik zonundaki hücrelerin mitozu ile rejenerasyon başlar. 5-6 gün içinde hücresel hasar tamir edilir.

Eğer karaciğerdeki harabiyet lobülün periferinden başlamışsa (örneğin, safra duktusu tıkanması halinde, bazı hepatotoksik madde verilmesiyle) yine sağlam dokunu her yerinde mitoz görülür, ayrıca büyük ve küçük safra duktus epitellerinde aşırı mitoz dikkat çeker. Safra duktuslarının sayısı artar. Bu duktuslar hasarlanmış periferik zondan içeriye girerek sağlam bölgedeki safra kanalikülleri ile bağlantı kurar. Böylece periferik hücrelerin harabiyeti ile kesintiye uğramış safra akımı kendine yeni bir yol bulur. Hasar devam ederse duktus sayısı daha da artar. Devam etmediği durumda ise karaciğer normal yapısını çabucak kazanır, yeni duktuslar kaybolur (55).

### **Karaciğer Rejenerasyonunda Etkili Moleküler Faktörler**

Sitokinler ve büyüme faktörleri karaciğer rejenerasyonu ile ilişkili olan biyolojik maddeler olup, hepatik rejenerasyonu uyararak, tetikler ve durdururlar.

Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), İnterleukin-6 (IL-6), Hepatocyte Growth Factor (HGF) ve Transforming Growth Factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) hepatik rejenerasyonu tetiklerken, İnterleukin-1 (IL-1), Transforming Growth Factor-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve aktivin ise başlamış olan rejenerasyonu bloke ederler. Bunların yanında dolaylı olarak insülin, norepinefrin, gastrin, prostoglandin E<sub>2</sub> kalsiyum ve D vitamini gibi komitejen maddelerin de temel mitojenler varlığında karaciğer rejenerasyonu üzerine önemli etkileri vardır.

Hepatositlerin in vitro olarak HGF, Epidermal Growth Factor (EGF) ve TNF- $\alpha$  büyüme faktörlerine tam cevap verebilmesi için ortamda ilk olarak TNF- $\alpha$  ve IL-6 sitokinleri ile sitotoksikite engelleyici diğer ajanlara gerek vardır.

TNF- $\alpha$  karaciğer rejenerasyonu sırasında Kupffer hücrelerinin senteziyle oluşturulan proinflamator bir sitokindir ve serumdaki kaynağı sadece Kupffer hücreleri değil alveolar makrofajlar da olabilmektedir. Karaciğer rejenerasyonu, TNF- $\alpha$  üretiminin baskılanmasıyla inhibe edilmektedir. Bunun tersine TNF- $\alpha$  'nın aşırı ekspresyonu sonucunda hepatositler hiperplazi göstererek, karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına göre ihtiyaçtan daha fazla artmasına neden olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri (SOR) ve glutatyon içeriği, TNF- $\alpha$  'nın hepatositler üzerine proliferatif ya da apoptotik etkilerinden hangisini uygulayacağını belirler. TNF- $\alpha$  'nın bu işlevi yerine getirirken, apoptotik veya anti-apoptotik intrasellüler proteinlerin oluşumunu sağlayan bax, bcl-x, bcl-2 gibi genlerin aktivasyonu üzerine etkilidir. TNF- $\alpha$  'nın inhibitörü olan bir antijen kullanılarak söz konusu genlerin aktivasyonları durdurulabilir. Galun ve Axelrod' a (2002) göre, bu molekülün TNFR-1 ile TNFR-2 olmak üzere iki hücre yüzey reseptörü bulunur ve bu reseptörlerin bloke edilmesi durumunda TNF- $\alpha$  fonksiyonel durumunu yitirir. Yapılmış olan bir araştırmada, TNFR-1 eksikliğinde, farelere CCl<sub>4</sub> enjeksiyonu yapılarak karaciğer hasarı oluşturulmasına rağmen, hepatositlerdeki DNA sentezi inhibe olmaktadır.

HGF, "scatter faktör" olarak da bilinen ve sıçan kan pulcuklarından olduğu kadar karaciğer yetmezliği olan hastaların plazmalarından da izole edilebilen bir moleküldür. HGF karaciğer rejenerasyonunun kontrol ve düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu önemli rolü ise karaciğer rejenerasyonunda özellikle yüksek düzeyde mitojen nitelik göstermesidir. Bu molekül hem in vitro hemde in vivo şartlarda büyüme faktörü olma özelliğindedir. Rekombinant HGF, primer kültürde sıçan ve insan hepatositleri için potansiyel bir mitojendir. HGF, kimyasal hasarlı ve akut hepatitli sıçanlarda daha fazla hasarın oluşmasına engel olmak için karaciğer rejenerasyonunu uyarır. HGF karaciğerde, hepatositler haricindeki intrahepatik ve ekstrahepatik mezenşimal hücrelerde üretilir ve hepatositler üzerine mitojenik etkisi endokrin ve parakrin

etkileşim şeklindedir. HGF gibi bazı büyüme faktörlerinin en önemli kaynağı pankreasın ekzokrin kısmı olduğu için, HGF parakrin mekanizmayla hepatositler üzerine etkilidir. HGF'nin mitojen etkisi sadece hepatositler ile sınırlı olmayıp farklı hücre tipleri üzerinde de benzer etkiler yapar. HGF'nin bu şekilde farklı hücrelerde benzer etkisi henüz netlik kazanmamakla birlikte, bu faktörün hücre yüzey reseptörlerinin hedef hücrelerde bulunmasından kaynaklanmaktadır. HGF transgenik farelerde aşırı üretilirse aşırı hacimli diploid ve replikasyon özelliğini devam ettirebilen hücrelerin sayısal oranları artar ve büyük bir karaciğer gelişimine neden olur.

IL-6 sıçanlarda karaciğer rejenerasyonunu uyaran önemli bir mitojen ve anti-apoptatik bir faktördür. Rejenerasyon uyarısına cevap verirken, TNF- $\alpha$  aktivasyonu ile etkinlik kazanan IL-6, farklı hedef hücre tipleri üzerine çok yönlü biyolojik aktiviteler gösteren pleiotropik bir sitokindir. Bu sitokin hemapoietik sistem düzenlenmesinde, lenfosit fonksiyonlarında ve hücre farklılaşmasında görev alan önemli bir mediatördür. İnflamatör sitokinlerin önemli kaynağı Kupffer hücreleri ve sinüzoidlerdeki endoteldir. Ayrıca, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve HGF ile heparine bağlı EGF'nin temel kaynağı, karaciğerde parankimal olmayan hücrelerde olabilmektedir. IL-6 sitokininin hepatosit büyümesi üzerine etkisi otokrin mekanizma ile olabilir. Ayrıca IL-6'nın karaciğeri toksik hasarlardan korumada da önemli rolü vardır.

Sıçan ve farelerde tükrük bezlerinden salgılanan EGF, hepatositler için temel bir mitojendir. EGF'nin plazmadaki seviyesi düşerse sıçanlarda hasarlı karaciğer rejenerasyonu son bulmaktadır. Bir diğer temel mitojen olan TGF- $\alpha$  ise EGF'den daha sonra rejenerasyona katılır. Hepatositler tarafından sentezlenen TGF- $\alpha$  otokrin uyarı ile etki eder.

Hücre döngüsünde yer alan ve potansiyel transkripsiyon faktörlerinden olan Signal Transducers Activators of Transcription (STAT<sub>3</sub>)'ün aktivasyonu IL-6 sitokininin serbest kalmasına ve EGF'nin uyarısına bağlıdır. Bu açıdan hücre döngüsünün ilerlemesinde IL-6 varlığı oldukça önemlidir. STAT<sub>3</sub>'ün hücre büyümesi, farklılaşması ve pek çok sistemde hücrelerin G1'den S fazına geçişlerinde önemlidir.



Hepatositlerin G1'den S fazına geçişinde, HGF ve TGF- $\alpha$  büyüme faktörlerinin de varlığında STAT<sub>3</sub> aktivasyonu gereklidir.

Karaciğerde rejenerasyonu durduran ve büyümeye engel olan önemli sitokinlerden ikisi TGF- $\beta$  ile IL-1'dir. TGF- $\beta$ 'nın karaciğerde parankimamlı olmayan hücreler tarafından üretilir. Karaciğerde normal ya da patolojik durumların her ikisinde de bu sitokin önemlidir. Hepatositler üzerine parakrin yolla etkili olan TGF- $\beta$ 'nin büyüme durdurucu özelliği ile ilgili in vitro çalışmalar vardır. İn vitro ortamda konsantrasyonu artırılan TGF- $\beta$  oksidatif strese neden olur ve daha fazla hepatosit apoptozisine yol açar.

IL-1 molekülünde akut faz cevabında TNF- $\alpha$ , IL-6 gibi oluşturulan proinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlanır. Buna ek olarak, yine diğer sitokinler gibi çok yönlü fonksiyonları olan bir molekül olarak ifade edilir. En önemli fonksiyonu karaciğer rejenerasyonunun düzenlenmesinde büyümeyi durdurucu etkisidir. IL-1 ve TNF- $\alpha$ , karaciğer rejenerasyonunda apoptozise engel olarak rejenerasyonun sürekliliğini sağlayan sitokinlerdir.

Karaciğer rejenerasyonunun tetiklenmesi, durdurulması ya da kontrolünün sağlanmasında önemli tüm bu faktörlerin birbirleriyle olan karmaşık ilişkilerinin açıklık kazanması, rejenerasyonun daha anlaşılır olmasını sağlayacaktır. Karaciğerde rejenerasyona neden olabilecek herhangi bir uyarıcının varlığında meydana gelen hücresel olaylar zinciri, rejenerasyon mekanizmasının şekillenmesine olanak sağlar (68).

## **2.5. ALKOL METABOLİZMASI**

Alkolün karaciğer hastalıklarına yol açmasının altında yatan esas neden, alkolün başlıca karaciğerde metabolize olmasıdır. Midenin ihmal edilebilir küçük katkısını göz ardı edersek, alkol metabolizmasında asıl sorumlu olan organ karaciğerdir. Alkolün %90'dan fazlası karaciğerde metabolize olduğundan, alkolle indüklenen oksidatif stres

de karaciğerde çok daha fazla etkindir. Hepatositlerde alkol metabolizmasından sorumlu üç ana yolak bulunur ;

1. Hepatosit sitozolünde bulunan alkol dehidrogenaz (ADH) yolağı,
2. Hepatosit endoplazmik retikulumunda bulunan mikrozomal etanol okside edici sistem (MEOS),
3. Hepatosit peroksizomunda bulunan katalaz yolağı, (3,30).

Sitoplazmik bir enzim olan ADH, alkolün, karaciğer hepatositlerinde asetaldehite çevrilmesini katalizler ve alkolün parçalanmasında en etkin rolü oynar (21). Bu oksidasyon sonucunda,  $NAD^+$  redükte formu olan NADH'a çevrilir. Böylece sitozolün redoks potansiyeli belirgin şekilde değişir. NADH / $NAD^+$  oranındaki belirgin artış çok önemli metabolik sonuçlar doğurur. Laktat/Piruvat oranı artar ve bu da laktik asidoza yol açar. Kandaki yüksek laktik asit düzeyi hiperürisemiyeye neden olur. Alkol tarafından indüklenmiş ketoz ve artmış purin yıkımı da hiperürisemiyeyi arttırabilir. Artan purin indirgenmesinin diğer bir olası sonucu, ksantin oksidaz (XO) tarafından ROS'ların üretimidir. Artmış NADH / $NAD^+$  oranı lipogenezin artmasına ve hipoglisemiyeye neden olur. Sitrik asit siklusunun aktivitesi azalır. Yağ asidi oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserid sentezi artar. Bu durumda karaciğer yağlanması ortaya çıkar.

Asetaldehit de primer olarak mitokondrial bir enzim olan asetaldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından oksidasyona uğratarak asetat ile karbondioksit ve suya çevrilebildiği gibi, sitrik asit siklusuna girerek yağ asitleri gibi önemli biyokimyasal maddelere dönüşür. Bu sistemde kofaktör olarak  $NAD^+$  kullanılır ve ortamda NADH miktarında artış görülür.

Asetaldehit, metabolik olarak son derece reaktif ve toksiktir. Proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Dolayısıyla alkolik karaciğer hastalığı olanların serumlarında genellikle bu antikorlara rastlanır. Hücrelerdeki mikrotübüler sistem asetaldehit etkisiyle bozulur ve protein

atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su da tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Asetaldehit, glutatyonun 3 aminoasidinden biri olan L-sistein ile hemiasetal oluşturur ve glutatyon kaybına yol açar. Ayrıca, aldehit oksidaz tarafından okside edilerek, demir varlığında serbest radikal oluşumuna neden olur. Yine, serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri olan, MDA ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler teşkil ederek sitokrom P 450 E2 sistemine bağlanır ve hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturarak immünolojik hasara yol açar (1, 3, 4, 9, 66).

Gastrik ADH; 3 izoenzim halinde bulunur. Gastrik ADH'nın etanole afinitesi düşük de olsa, etanol alımını takiben midede etanol düzeyi yüksek olacağı için bu enzimin de alkol metabolizmasında rolü olacaktır (30).

Alkol metabolizmasında rol alan diğer bir enzim sistemi MEOS ise etanolü mikrozomal sitokrom P450 2E1 enzimi tarafından oksidasyona uğratır. Fazla miktarlarda akut olarak alınan etanolün tersine, kronik etanol alımını takiben spesifik bir sitokrom olan ve CYP2E1 adı da verilen bu enzimin aktivitesinde artış meydana gelir. Bu enzimin hangi mekanizmalarla aktivitesinin arttığı henüz açıklanamamıştır. CYP2E1 enzimi sadece etanolü değil, aynı zamanda birçok hepatotoksik ajanın da metabolizmasında görev alır. Kronik etanol alımı, mikrozomal enzim indüksiyonuna yol açarak, etanol ile beraber alınan diğer ilaçların metabolizmasını etkilemektedir (30, 32).

Mikrozomal enzimler, ADH yolağı kadar etkili olmasada, etanolün metabolizmasında önemli rol oynarlar. Bu reaksiyonlar sonucunda bir reaktif oksijen radikali olan  $H_2O_2$  oluşur. Bu molekül glutatyon ile nötralize edilmediğinde lipid peroksidasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranının kalsiyuma geçirgenliği artar, hücre içinde kalsiyum birikimi olur ve bu olaylar sonucu yağlanmış karaciğerde inflamasyon ve fibroz başlar, sonuç siroza kadar gidebilir.

MEOS, alkolün oksidasyonunda rolü çok az olup, ancak yüksek kan ve doku etanol düzeyinde devreye girer. Kronik alkol tüketimi enzimin upregulasyonuna sebep olur. Bu nedenle kronik alkol hastalarda etanol oksidasyonu hızlanmıştır. Bu sistemde

ortaya çıkan ROS'lar hepatosellüler hasara sebep olabilme ve/veya provake edebilme yeteneğindedir. Hücrel asetaldehit artışı sonucu bu yan ürünün albumin, kollajen ve lipoproteinlerce alkilasyonu hızlanır. Bu yeni kombinasyonlar, neoantijen olarak etki göstererek immun cevaba yol açar ve sonuçta inflamatuvar mekanizmaları başlatır (3).

Katalaz ise alkölü okside eden ancak fizyolojik şartlarda alkol metabolizmasında önemli rolü olmayan peroksizomal bir enzimdir. Organizmada etanol metabolizması esnasında meydana gelen artmış lipid peroksidasyonu, ya karaciğerde oluşan peroksidatif sürece bağlı olarak indirekt, ya da etanolün dolaşan lipidler ve hücre membranları üzerine direkt etkisinden ileri gelebilir.

Aşırı NADH oluşumu, hipermetabolizmaya ve bu olayda doku hipoksisine neden olur. Hipoksinin en belirgin olduğu bölge santral zondur. Ortaya çıkan perisentral hipoksi hücre içi laktat miktarında artmaya yol açar ki, bu da fibrozisi tetikleyen bir olaydır. Kupffer hücreleri, endotel hücreleri ve yağ depolayan İto hücreleri de toksik süreçte ve fibrosiz gelişiminde devreye girerler. Alkol, kupffer hücrelerinden TNF-alfa, TGF-beta ve IL-6 salınımına neden olur. TNF-alfa, direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden olur, lökosit adherens ve aktivasyonunu provake eder, hepatosit ve Kupffer hücrelerinden IL-8 üretimini stimüle ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. TGF-beta ve IL-6'da fibrozis gelişiminde rol alır. Asetaldehit, doğrudan İto hücrelerini aktive ederek kollajen artımına yol açar. İntestinal endotoksinler ve neo-antijen oluşumu Kupffer hücrelerini aktive ederek, Kupffer hücrelerinden salgılanan TGF- $\beta$  ile İto hücrelerinin uyarılmasına neden olur. Diyetteki çoklu doymamış yağlar, lipid peroksidasyonu yaparak ve lipid aldehitleri oluşturarak sitokrom yoluyla serbest oksijen radikallerini arttırır, bir yandan da İto hücrelerini aktive eder. Sonuçta hücrel toksisite, fibrosiz ve alkolik hepatit tablosu yani inflamasyon oluşur (3).

## 2.6. ALKOLE BAĞLI KARACİĞER HASTALIĞINDA AMİNOTRANSFERAZLAR

Karaciğer hasarının belirlenmesinde iki önemli enzim vardır. Bunlar, alanin aminotransferaz (serum glutamat – pruvat amino transferaz-ALT) ve aspartat amino transferaz (serum glutamat – oxaloasetat amino transferaz-AST) dır. Adlarından da anlaşılacağı üzere, bu enzimler alanin ve aspartik asidin amino gruplarını  $\alpha$ - keto glutarata taşırlar. Böylece glutamat ALT ile, pruvat ise AST ile oksaloasetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür (3, 33).

AST ve ALT karaciğer hasarını saptamada rutinde sık kullanılan belirleyicilerdir. AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, beyaz küre ve kırmızı kürelerde de yoğun olarak bulunmaktadır. Buna karşılık ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. ALT ve AST kronik alkolizm belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Yaklaşık olarak hepatositte bulunan AST'nin %80'i mitokondridedir. Oysa ALT'nin predominant formu mitokondrial olamayanıdır. Bu nedenle hafif hepatosellüler hasarda, hepatosit membranı hasara uğramış ancak mitokondrial membranı sağlam ise sitoplazmik AST ve ALT seruma salınır. Her ne kadar bu enzimler karaciğer hücre harabiyeti için duyarlı belirteçler ise de, tek başlarına ideal marker özelliği taşımazlar (sensitivitesi yüksek ancak spesifitesi düşüktür). Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında AST ve ALT seviyeleri sağlıklı bireylere göre bir çok kat artış gösterir. Orta şiddette ve ağır alkolik karaciğer harabiyetinde de bu enzim miktarlarında artış olur ancak bu artış alkole bağlı olmayan hastalıklara nisbeten oldukça azdır. Serum aminotransferazları, kronik hepatitlerde ve akut viral hepatitlerinin hafif vakalarında ve ilaca bağlı hepatitlerde orta derecede artar. Sirozda, alkolik olmayan hepatosteatozda kolestatik karaciğer hastalıklarında karaciğer yağlanması ve karaciğer tümörlerinde serum aminotransferazları hafifçe artar. Daha ciddi hepatosellüler hasarlarda mitokondri membranında da hasar olur ve mitokondrial AST salınımı ile sonuçlanır. Böylece AST/ALT oranı yükselir. AST/ALT oranı bazı karaciğer hastalıklarında tanıya yardımcı olabilir. Alkolik olmayan karaciğer hastalıklarında bu oranın azaldığı gözlenirken, alkolik karaciğer hasarında AST/ALT

oranı artar. Alkolik karaciğer hastalıklarında pridoksal-5-fosfat eksikliği olur. Bu vitamin her iki aminotransferazın yapımı için gereklidir, ancak hepatik ALT'yi daha fazla düşürerek bu oranın yükselmesine neden olur. Bazı araştırmalarda alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıklarını alkole bağlı olan karaciğer hastalıklarından ayırmak için AST/ALT oranının kullanılması önerilmiştir. Alkole bağlı karaciğer hastalıklarında genellikle AST'nin ALT'ye göre biraz daha arttığı ileri sürülmüştür. Bu oran (AST/ALT) 1.5'tan büyük ise hasarın alkole bağlı olduğu, 1'den küçük ise alkol kullanımına bağlı olmadığı düşünülmelidir. Mitokondrial AST / Total AST oranı alkolik hepatiti diğer karaciğer hastalarından ayırmada kullanılabilir. AST nin ALT ye oranına DeRitis oranı denir. Normalde AST/ALT=1 dir. Bazen hafifçe yüksek olabilir. Alkolik karaciğer hastalığında tanı amaçlı kullanılabilir. ALT normal iken veya normale yakın iken oranın 3 ile 1 arasında olması diagnostiktir. Alkolik hepatitte AST ve ALT'de ılımlı bir artış görülür (3).

GGT membrana bağlı glikoprotein yapıda bir enzim olup karaciğerde en yoğun olarak safra kanalikülleri ve periportal alandaki duktal epitelde bulunmaktadır. Alkol kullanımı ve alkolizm için bir tarama testi olarak; GGT hassasiyeti (sensitivite) kabul edilebilir. Fakat özgülüğünün (spesifite) zayıf olduğu Peen ve arkadaşları tarafından belirtilirken bunun aksine, GGT'nin uygun özgülüğe fakat düşük hassasiyete sahip olduğu Duckert ve arkadaşları tarafından belirtilmektedir. Tromso çalışması alkol alımı ile GGT arasında kuvvetli bir ilişki belirtmekte fakat sürpriz olarak alkol alım miktarındaki değişikliklerle GGT değişimleri arasındaki ilişkinin zayıf olduğunu vurgulamaktadır. Bazı araştırmacılar alkol alanlardaki GGT aktivite artışını, tüketilen alkol miktarından daha çok alkolün biyolojik etkileriyle daha yakından ilişkili olarak düşünmektedirler (8, 33).

## **2.7. MAST HÜCRESİ VE KARACİĞER**

Mast hücreleri ovoid şekilli ve 20-30 µm çapında olup, bağ dokusunun en büyük hücrelerindendir. Çekirdekleri yuvarlak ve hücrenin merkezine yerleşmiştir.

Mast hücrelerinin en karakteristik özelliği sitoplazmasında sayısız granüller bulundurmasıdır. Bu nedenle nukleus seçilemez. Zarla çevrili olan bu granüllerin çapı 0.3-0.8 µm arasında değişmektedir. Granüllerinde, sülfatlı bir glikozaminoglikan olan heparini bulundurmalarından dolayı toluidin mavisi ile boyandıklarında metakromazi gösterirler. Ayrıca mast hücrelerinin granüllerinde, heparinin yanısıra histamin, nötral proteazlar, aril sülfatazlar, eozinofil kemotaktik faktör, nötrofil kemotaktik faktör, prostaglandin, bradikinin, nitrikoksit benzeri faktör, sitokin, kemokin ve büyüme faktörleri bulunur. Mast hücresi sitoplazmasında, az sayıda mitokondri, granüllü endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi bulunur (26).

Olgun mast hücreleri dönüşen kemik iliğinden türemektedir. Bazofiller ve mast hücrelerinin bazı karakteristik özellikleri benzer olduğundan, bir dönem mast hücrelerinin, bağ dokusunda görevini yerine getirmek üzere kan dolaşımını terk eden bazofiller olduğuna inanılmıştır. Daha sonraları bu iki hücrenin farklı hücreler olduğu ve öncülerinin de ayrı olduğu anlaşılmıştır. Mast hücrelerinin hemapoietik hücrelerden köken aldığı ve önce kan dolaşımına, daha sonra da bağ dokusuna geçtiği açık bir şekilde ortaya konmuştur. Bağ dokusuna geçen bu öncül hücreler buradaki yerel faktörlerin etkisiyle mast hücrelerine farklılaşır ve karakteristik sitoplazmik granüllerini kazanırlar. Sıçanlarda mukozal mast hücrelerinin farklılaşmasının T-hücresine, insanda ise timusa bağımlı olduğu bilinmektedir. Yapısal karakterlerine dayanarak, az granüllü yuvarlak veya yassı görünümdeki mast hücrelerinin, ya farklılaşan mast hücreleri öncülleri ya da degranülasyona uğramış yerleşik mast hücreleri olabileceği düşünülebilir. Salgı granüllerinin sayısı ve homojen elektron yoğunluğu, mast hücresi farklılaşmasının belirtileridir. Bu hücrelerin birkaç aydan daha az ömrü vardır ve bazende hücre bölünmesine girerler (26)

Mast hücreleri, vücutta bağ dokusunun bulunduğu yerlere yerleşir ve burada küçük kan damarlarının çevresinde yoğunlaşır. Solunum ve sindirim sisteminin subepitelyal bağ dokusunda da bulunur. Bağ dokusundaki mast hücreleri, granüllerinde çoğunlukla heparin bulundururken, sindirim kanalı mukozasında bulunan mast hücreleri heparin yerine kondroitin sülfat içerirler. Bu hücreler mukozal mast hücresi olarak

adlandırılır. Bağ dokusu tipi mast hüceleri ise vücutta daha geniş bir dağılım göstermektedir (18, 26, 34).

Mast hücrelerinin etkinleşmesi ve degranülasyonu, içinde immun yanıtın, psikolojik ve/veya fiziksel stresin, alkol kullanımının ve östradiol desteğinde bulunduğu çeşitli iç ve dış uyarılardan kaynaklanabilir.

Mast hücreleri immunoglobulin E (IgE) için hücre yüzeyi  $F_c$  reseptörü bulundurur. Bu hücrelerin immun sistemdeki işlevi, hızlı aşırı duyarlılık tepkisi olarak (anaflaktik reaksiyon) olarak bilinen inflamatuvar tepkiyi başlatmaktadır. Genellikle bu tepki arı zehiri, polen ve bazı ilaçlar gibi antijenler tarafından tetiklenir ve aşağıdaki olaylar zinciri gerçekleşir.

Antijenle ilk karşılaşma, IgE antikollarının oluşumuna neden olur ve IgE mast hücrelerinin hücre zarındaki  $F_c$  reseptörlerine bağlanır, böylece bu hücreler duyarlılaştırılır. Aynı antijen ile bir sonraki karşılaşmada, antijen mast hücresi yüzeyindeki IgE'ye bağlanarak IgE antikollarının çapraz bağlanmasına ve reseptörlerin kümelenmesine neden olur. Çapraz bağlanma ve kümelenme, zara bağlı olan "reseptör birleştiren faktörleri" etkinleştirir; böylece en azından iki bağımsız işlemi, birincil ve ikincil mediatörlerin serbest bırakılmasını başlatır. Birincil mediatörlerin serbest bırakılması ATP'nin cAMP'ye çevrilmesinden sorumlu enzim olan adenilat siklazın etkinleşmesinden etkilenir. cAMP' deki bu artış, hücre içi Ca depolarından  $Ca^{++}$  bırakılmasını etkinleştirir ve sitozolik  $Ca^{++}$  artar. Bunun sonucunda salgı granülleri birbirleriyle ve hücre zarıyla kaynaşır. Bu olaylar granül içeriklerinin serbest bırakılmasına yani degranülasyona neden olur. Bunlar birincil mediatörleri oluşturur.

IgE'nin zara çapraz bağlanması, aynı zamanda fosfolipaz  $A_2$ 'yi etkinleştirir. Fosfolipaz  $A_2$ , zardaki fosfolipidlere araşidonik asit oluşturmak üzere etki yapar. Araşidonik asi, ikincil mediatörler olan lökotrien  $C_4$ ,  $D_4$  ve prostoglandin  $D_2$ 'ye çevrilir. Bu ikincil mediatörler mast hücresi granüllerinde depolanmaz, gereksinim anında üretilerek hızla serbest bırakılırlar (18, 26, 34).



Mast hücrelerinden bırakılan birincil ve ikincil mediatörler, hızlı aşırı duyarlılık tepkisi boyunca inflamatuvar tepkiyi başlatır, lökositleri inflamasyonun olduğu bölgeye çekerek vücudun savunma sistemini etkinleştirir ve inflamasyonun şiddetini ayarlar. Mast hücrelerinin degranülasyonu ile astım, atopik dermatit durumlarında olduğu gibi hızlı aşırı duyarlılık tepkisinin tetikleyicisi olan histamin ortama bırakılır.

İnflamatuvar tepki boyunca birbirini izleyen bir seri olay gerçekleşir. Histamin damar genişlemesine neden olur ve çevredeki kan damarlarının geçirgenliğini artırır. Aynı zamanda bronşların kasılmasına neden olur ve solunum yollarında mukus yapımını artırır. Eozinofil kemotaktik faktör, eozinofilleri inflamasyonun olduğu bölgeye çeker. Bu hücreler antijen-antikor komplekslerini fagosite eder, varsa parazitleri öldürür ve inflamatuvar tepkiyi sınırlandırır. Nötrofil kemotaktik faktör, inflamasyonun olduğu bölgeye nötrofilleri çeker. Bu hücreler ortamdaki mikroorganizmaları öldürür ve fagosite eder. Lökotrien C<sub>4</sub> ve D<sub>4</sub> damar geçirgenliğini artırır ve bronşlarda kasılmalara neden olur. Bunların vazoaaktif etkileri, histaminden birkaç bin kat daha güçlüdür. Prostaglandin D<sub>2</sub> bronşlarda kasılmaya ve bronşiyol mukozasından bol miktarda mukus salgılanmasına neden olur.

Mast hücresi degranülasyonu, yerel bir fenomen olduğu için tipik inflamatuvar tepki genellikle hafif ve bölgeye özgüdür. Ancak aşırı duyarlı kişilerde, sistemik ve ciddi hızlı aşırı duyarlılık tepkisi gelişebilir. Nörotransmitterler, nöropeptitler ve sinir büyüme faktörü mast hücresi çoğalması, degranülasyonu ve sitokin salınımını uyarmaktadır.

Mast hücrelerinin sadece immun tepkilerde değil, aynı zamanda dokunun yeniden şekillenmesinde, fibrogenizde, anjiyogenezde ve hatta kanser invazyonunda rol aldığı gösterilmiştir. Mast hücreleri bu olaylara, biyoaktif mediatörleri üreterek ve salgılayarak katkıda bulunmaktadır (26).

Karaciğer, mast hücresi ile ilgilenen bilim adamlarının fazla ilgisini çekmediğinden bugüne kadar bu hücrelerin karaciğerdeki rolü iyi anlaşılamamıştır.

Normal bir karaciğerde mast hücrelerinin sayısı insanlarda yaklaşık  $\text{mm}^2$  de 1.2-3.9 arasındayken bu sayı sıçanlarda 1.8-12 arasındadır. İmmunohistokimyasal çalışmalarda mast hücrelerinin karaciğerde daha çok hepatik arter, ven ve safra duktuslarını içeren portal alanlarda bulunduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda mast hücrelerine sinüzoidler ve karaciğer parankimasında rastlanmaz fakat insanlarda karaciğerde bulunan mast hücrelerinin %10'u perisinüzoidal yerleşimlidir. Mast hücrelerinin sayısı alkolik karaciğer hastalığında ve fibrozisde artmaktadır. Bardadin ve arkadaşları karaciğerde iki farklı mast hücresi tanımlamışlardır. Bunlardan biri diğer organların bağ dokularında bulunan mast hücreleri ile benzer morfolojideki mast hücreleri, diğeri ise sinüzoidal mast hücreleridir (18)

Hepatik fibrojenizde hepatik stellat hücreleri gibi miyofibroblastlar hücreler arası matriksi artırırlar. Karaciğer hasarında miyofibroblastlar buraya göç edip prolifer olurlar ve fibrozis süreci başlar. Bununla birlikte birçok sitokin özellikle TGF- $\beta$ 1 profibrojenetik bir faktör olarak fibrozisde önemli rol oynar. Plateletler tarafından salgılanan TGF- $\beta$ 1 prokollajen-1 ve metalloproteinaz-1'in tetiklenmesinde görev yapmaktadır. TGF- $\beta$ 1 aynı zamanda mast hücrelerinin buraya göçünü sağlayan kemoatraktandır ((18, 26, 34).

Mast hücreleri kemik iliğini terk ettikten sonra inflamasyon alanlarına göç ederler. Mast hücrelerinin bu göçünde birçok molekül rol oynamaktadır. Bunlardan bazıları CXC ailesi kemokinler, kök hücre faktörü (mast hücresi büyüme faktörü olarak da bilinir) ve TGF- $\beta$ 1'dir. Mast hücrelerinin aktivasyonu ve granüllerin ekzositozu, lökosit infiltrasyonuna ve lokal inflamasyona neden olan faktörlerin ve sitokinlerin salgılanması sonucunda gerçekleşir. Mast hücresi hiperplazisi, deneysel olarak karaciğer fibrozisi oluşturulan sıçanlarda da gözlenmiştir (34).

## **2.8. SERBEST RADİKALLER**

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen ( $\text{O}_2$ ), elektron alıcısı olarak, aerob organizmaların yaşamı için

gerekli bir maddedir. Memeliler hücrelerindeki ATP üretiminin büyük bir kısmını mitokondrial elektron transport sisteminde, oksijenin dört elektronunun su ( $H_2O$ ) oluşturmak üzere indirgenmesiyle elde ederler. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşmez ve ara ürün olarak serbest oksijen radikalleri ve bunların da çeşitli reaksiyonları ile reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir (3,14).

Soluduğumuz oksijen iki radikalli, iki tek elektron içeren ve çok stabil olan bir moleküldür, bir dış enerji kaynağı sayesinde bir elektron kazanmakla serbest elektronlarından birisini negatif yük elde ederek çift konuma getirebilir. Bu molekül süperoksit anyonudur. Sitoplazmadaki süpeoksit anyonunun başlıca kaynağı endoplazmik retikulumdaki sitokrom P450 sistemidir. Basit ancak spontan olarak, reaktif bir radikal olan superoksit anyonu organik moleküllerin çeşitli yıkım reaksiyonlarında rol oynayabilir. Superoksit anyonu genellikle zararlı oksidatif bir faktör olarak kabul edilmesine rağmen, aslında direkt olarak sadece nükleofilik özelliklerine dayanarak etki yapar ve aktivitesi sadece proton ( $H^+$ ) bulunmayan ortamlarda ortaya çıkar. Böyle ortamlarla iki fosfolipid katından oluşan hücre membranında karşılaşmak mümkündür. Burada süperoksit anyonu, deesterifikasyon ile fosfolipid moleküllerinin yağ asitlerini serbestleştirmek suretiyle fosfolipoproteinli yapının stabilitesini bozar. Ama proton içeren ortamlarda süperoksit molekülünün ömrü kısadır, bu molekül tekrar  $O_2$  molekülü olabilmek için kendi elektronunu başka bir superoksit anyonuna transfer eder. Böylece,  $O_2$  molekülü ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülü oluşmaktadır. Genellikle, süperoksit molekülünün, fazla toksik olmadığı ancak daha reaktif oksijen kökenli metabolitler için prekürsör olduğu düşüncesi mevcuttur (3).

Hidrojen peroksit oksidandır ama reaktif değildir. Geçiş metalleri varlığında, hidroksil radikali için bir kaynak oluşturur. Hidrojen peroksit, demirin ferro iyonu ( $Fe^{2+}$ ) varlığında “fenton reaksiyonu” na girerek bir hidroksil iyonu ( $OH^-$ ) ve stabil organik yapıların çoğuna hücum edebilecek, en güçlü oksitleyici madde olan bir hidroksil radikali oluşturur. Bu hidroksil radikalleri, çok hızlı olarak komşu moleküllerle reaksiyona girerler, yarı ömürleri çok kısadır. Bunun sonucunda stabil, yarı ömürleri daha uzun ve daha az reaktif radikaller oluşur.

Hipokloröz asit enzimatik olarak, nötrofiller tarafından üretilir, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller, süperoksit anyonu üretirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla, süperoksit'in dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti, klorür iyonu ile birleştirilerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl (hipokloröz asit)'e dönüştürür.

Nitrik oksit, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L- arjininden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin "hem" demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşmuş olan ROS'lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOOH) oluşturmakta ve bu da OH radikali oluşumuna yol açmaktadır.

Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli singlet oksijen ( $O_2^{\uparrow\downarrow}$ ) olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROS'ları arasında yer alan  $O_2^{\uparrow\downarrow}$  serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir (3).

### **Serbest Radikallerin Reaksiyonları ve Lipid Peroksidasyonu**

Eğer iki serbest radikal karşılaşırlarsa, eşleşmemiş elektronları kovalent bir bağ kurarak birleşirler. Örneğin; Atomik hidrojen diatomik hidrojen olur. Nitrik oksit radikali ve süperoksit radikalinin çok hızlı reaksiyona girerek radikal olmayan bir ürün (peroksinitrit) şekline dönüşmesi biyolojide oldukça geçerli bir örnektir. Bununla birlikte ne zaman serbest radikaller bir radikal olmayanla reaksiyona girerse sonuç olarak yeni bir radikal ve zincir reaksiyonu kurulabilir (3, 14).

Karbon merkezli radikaller genellikle lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu çoğaltan peroksil radikaller yapmak için O<sub>2</sub> ile reaksiyon yaparlar. Çeşitli patolojik durumlarda, normalden fazla miktarda serbest oksijen radikali oluşmasıyla veya organizmanın antioksidan sisteminin yetersiz kalmasıyla artan serbest radikaller hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar.

Oksijen radikallerinden etkilenebilecek başlıca vücut kimyasal maddeleri arasında proteinler (enzimler ve kollajen), nörotransmitterler, nükleik asitler sayılabilir. DNA ve hücre membranlarının başlıca bileşenleri olan yağ asitleri de radikallerden etkilenirler.

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan, membran fosfolipitlerindeki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan ve böylece membran lipit yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır. Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkisi ile membran yapısında bulunan konjuge olmayan çok doymamış yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından, bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlamaktadır. Bu olay, yağ asidi zincirinin radikalleşmesine neden olur. Oluşan lipid radikali dayanıksızdır. Lipit radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksit radikali meydana gelmektedir. Bu radikaller de membran yapısındaki diğer çok doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan H<sub>2</sub> atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Lipid hidroperoksitlerden, fenton tipi bir reaksiyonla aldehit ve alkanlar oluşur. Üretilen hidroperoksitler daha fazla radikali yıkarak, lipit peroksit, etan ve pentan gibi uçucu gazlar oluşur. Aldehitler en toksik ürünlerdir. Plazma MDA konsantrasyonu non-enzimatik lipit peroksit oluşumunun bir sonucudur (3).

Lipid peroksidasyonu, bir metilen grubundan (-CH<sub>2</sub>-) hidrojen atomu kopartabilecek reaktiviteye sahip herhangi bir ROS'un lipit molekülüne saldırısıyla başlar. Hiç çift bağ içermeyen veya bir çift bağı olan yağ asitleri oksidatif hasara çok

doymamış yağ asitlerinden daha dirençlidirler. Birçok membran ve lipoproteinlerde ise bu çok doymamış yağ asitleri bulunur. Hidroksil radikalleri eğer hidrokarbon yan zincirlere ulaşabilmişlerse peroksidasyonu başlatabilirler. Hücre dışında oluşmuş OH ayrıca ekstrinsik proteinlere ve fosfolipitlerin baş gruplarına saldırabilir. Bu OH da ortamdaki tüm lipitlerin peroksidasyonunu stimüle eder. Bu olay sadece biyolojik membran ve yağ asitlerinde gösterilmekle kalmamış ayrıca yiyecek lipitlerinde de gösterilmiştir. Tersine süperoksit, lipitlerden H koparacak kadar reaktif değildir ve yükü zaten onun membrandan geçmesini engelleyecektir. Bu nedenle süperoksit biyolojik membranları geçemez, ancak tek istisna eritrosit membranıdır. Burada  $O_2^-$ ,  $Cl^-$  ve bikarbonatın ( $HCO_3^-$ ) geçişini sağlayan bir iyon kanalı vasıtasıyla içeri girebilir. Süperoksitin protonlanmış formu olan  $HO_2$  daha reaktiftir ve izole yağ asitlerinden, örneğin; Linoleik, linolenik ve araşidonik asitten H koparabilirler.  $RO$ ,  $RO_2$ ,  $OH$  ve  $HO_2$  kadar çeşitli demir-oksijen kompleksleri de H koparabilme ve peroksidasyonu başlatabilme yeteneğine sahiptirler (3)

Hidrojen atomu yalnızca bir elektrona sahip olduğundan metilen ( $-CH_2-$ ) grubundan hidrojen radikali koparılması, arkasında, karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron bırakır. Karbon radikalleri çeşitli reaksiyonlara uğrayabilir. Örnek olarak iki tanesi membran içinde karşılaşırlarsa yağ asidi yağ zincirleri ile çapraz bağ yapabilirler. Bununla birlikte oldukça muhtemeldir ki aerobik şartlar altında karbon radikalinin bağı özellikle membranın içine doğru konsantre olan hidrofobik molekül  $O_2$  ile birleşir.  $O_2$  ile reaksiyonu sonucunda bir peroksil radikali ( $ROO^-$  veya  $RO_2$ ) oluşur. Peroksil radikallerinin komşu yağ asidi yan zincirleri gibi başka lipit moleküllerinden H koparabilme yetenekleri vardır. Peroksil radikali lipit peroksit oluşturmak için koparılan hidrojen atomu ile birleşir veya oluşan karbon radikali başka bir peroksil radikali oluşturmak için  $O_2$  ile reaksiyona girebilir ve böylece lipit peroksidasyonunun uzun zincir reaksiyonu devam edebilir.

## **2.9. ANTIOKSİDANLAR**

Dünya üzerindeki tüm organizmalar evrimleri sürecinde serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya azaltan bu savunma sistemlerine hücrel antioksidan mekanizmalar adı verilir. Antioksidanlar, direkt etki ile oksidanları inaktif hale getiren maddeler olarak tanımlanabilirler (14). Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki hassas denge korunmadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden bir çok patolojik değişiklik ortaya çıkar (3).

**Tablo 1:** Bilinen Farmakolojik (Eksojen) Antioksidanlar (3).

Antioksidan Sınıfı	Spesifik Tipi	İşlevi
Ksantin oksidaz İnhibitörleri	Allopurinol, Oksipurinol, Pterin aldehit, Tungsten	Süperoksit üretimini inhibe eder
Proteaz İnhibitörleri	Soya tripsin inhibitör, Serin proteaz inhibitör	Ksantin dehidrogenazdan oksidaz oluşumunu bloke eder
NADPH oksidaz inhibitörleri	Fenilmetilsülfonil , Adenozin, Lokal anestezipler, Ca <sup>++</sup> kanal blokerleri, NSAID, Cetiedil	Makrofajlarda NADPH oksidaz ile süperoksit inhibisyonu
SOD	IgA bağımlı, Polietilen glikol SOD, Ginko Biloba (Egb 761)	Süperoksitten hidrojen peroksit dismütasyonunu katalizler
Katalazlar	Polietilen glikol Katalaz Lipozom kapsüllü katalaz	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'nin oksijen ve suya indirgenmesi
Nonenzimatik toplayıcılar	Mannitol Albumin Dimetil sülfoksit 17-aminosteroid lazoroitler Glutasyon Ürik asit Spin tuzakları	Hidroksil radikal giderici Geniş çaplı oksidan toplayıcı Fe, Süperoksit ve hidroksil toplayıcı H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ve hidroksil giderici Süperoksit giderici Süperoksit ve hidroksil giderici Tüm radikalleri toplar
Demir redoks zinciri inhibitör	Bilirubin Desferoksamin, Apotransferrin, Seruloplazmin	Peroksidasyon zincirini bozar Serbest Fe <sup>+3</sup> atomlarını bağlayarak radikal reak. önler
Endojen savunma artırıcı ajan	Antinötrofil serumu Monoklonal antibodiler Platelet aktive edici faktör	Hücrel glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini artırır Nötrofillerin endotele adezyonunu inhibe eder Nötrofillerin adezyonunu inhibe eder



**Tablo 2:** Bilinen Doğal (Endojen) Antioksidanlar (3).

Antioksidanlar	Yapısı	Yerleşimi	İşlevi
Sitokrom oksidaz	Tetramerik protein	Plazma	Süperoksit nötralizanı
SOD	CuZn, Mn SOD	Mitokondri, serum	Süperoksiti $H_2O_2$ 'ye çevirir
Katalaz	Hemoprotein	Peroksizomlar	Peroksit nötralizanı
GPx	Selonoprotein	Sitosol, mitokondri	Lipit peroksidasyon ürünlerini indirger
GSH-redüktaz	Dimerik protein	Sitosol, mitokondri	Disülfidleri indirger
$\alpha$ - tokoferol	Yağda çözünen vitamin	Membranlar, ekstrasellüler ortam	Peroksidasyonu azaltır
$\beta$ - karoten	Vit-A prekürsörü	Hücre membranları	Peroksit temizleyicisi
Glutasyon	Tripeptit	İntrasellüler ortam, alveoller	Rredoks substratı
Ürik asit	Okside pürin bazı	Geniş bir dağılım gösterir	Hidroksil toplar, Vit C'yi korur
Sistein	Amino asit	Geniş bir dağılım gösterir	Organik bileşikleri indirger
Albumin	Protein	Plazma, serum	Serbest radikal giderici
Bilirubin	Hemoprotein ürün	Dolaşım kanı, dokular	Zincir kırıcı antioksidan
Seruloplazmin	Protein	Dolaşım kanı, dokular	Süperoksiti $H_2O_2$ 'ye çevirir
Transferrin	Glikoprotein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Laktoferrin	Protein	Plazma	Demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Glikoprotein	Dolaşım kanı, dokular	Doku demiri bağlayıcısı
Askorbik asit	Suda çöz. vitamin	Hücre içi ve dışı sıvıları	Vit E'yi rejenere eder

## 2.10. KARACİĞER HASTALIKLARINDA KULLANILAN BAZI ALTERNATİF TIP UYGULAMALARI

Doğada bulunan çeşitli bitkilerden daha fazla yararlanma eğilimi bulunan halk tarafından vücuda yararlı olabilecek ya da bir takım rahatsızlıklara ilaç olabilecek besinlerin alınması yanında özellikle bitki kısımlarının, bunların sulu ekstralarının ve çözeltilerinin kullanılması dikkat çekicidir. Alternatif tıp uygulamalarına daha bilimsel bir açıdan bakıldığında, etken madde veya bileşikler kolaylıkla tespit edilebilmekte ve bunlar doğal olarak elde edilebildikleri gibi sentetik olarak da yapılabilmektedir. Benzer uygulamalar karaciğer hastalıklarının engellenmesinde, hasta dokunu iyileştirilmesinde ya da bir nedene bağlı olarak yapılan parsiyel hepatektomi sonrasında doku rejenerasyonunun çabuklaştırılması amacıyla yapılabilmektedir (68).

Baytop'un "Türkiyede Bitkiler ile Tedavi" adlı eserinde *Cynara Scolymus* (Enginar) türünün tanen, inulin, sinarin ve flavon içeren taze yapraklarından hazırlanan içeriğinin karaciğer hastalıklarında, *Herniaria glabra* (türkötü) türünün izovalerian, tanen ve renk maddesi taşıyan meyvelerinin sulandırılmış suyunun içilerek safra kesesi ve karaciğer hastalıklarında kullanıldığını açıklamıştır. Aynı eserde karaciğer sirozuna karşı *Juniperus drupacea* türünden elde edilen katran köpüğünün içildiği ifade edilmiştir. *Silybum marianum* (milk thistle) türünün "devedikeni tohumu" adıyla bilinen meyvelerinin ve bundan hazırlanan "silymarin" isimli flava-lignan karışımının, karaciğeri alkolik hastalıklara karşı koruduğu yine bu eserde anlatılmıştır. Ticari olarak da üretilen silymarin, karaciğeri koruyucu ve onarıcı özelliğinde dolayı pek çok deneysel çalışmaya materyal olmuştur. Silymarin flavonoidinin özellikle antioksidan özelliği vardır ve hücre zarındaki lipid peroksidasyonunu engeller.(68)

Aromatik hoş bir koku ve lezzet verici özelliğinden dolayı besin olarak kullandığımız bitki çeşitlerinden biriside "kekik" dir. Tedavi amaçlı ilaç olarak da değerlendirilen kekiğin ülkemizde ticareti de yapılmaktadır. Hepsi Ballıbabagiller (Labiatae = Lamiaceae) familyasına bağlı kekik türlerinin dahil olduğu *Origanum*,

*Thymbra*, *Coridothymus*, *Satureja* ve *Thymus* cinsleri vardır. Uçucu yağ üretiminde kullanılan türlerinin ise *Origanum onites* (bilyalı kekik, İzmir kekiği), *Origanum vulgare subsp. hirtum* (İstanbul kekiği, kara kekik), *Origanum minutiflorum* (Sütçüler kekiği, yayla kekiği, toka kekiği), *Origanum majorana* (Beyaz kekik, Alanya kekiği) ve *Origanum syriacum var. bevanii* (dağ kekiği, Suriye kekiği, İsrail kekiği)' dir.

*Thymus vulgaris* L.' nin yapraklarının sulu ekstresinin ya da bundan saflaştırılmış uçucu yağlarının halk tarafından tedavi için kullanıldığı bilinmektedir. Solunum bozukluğu, bronşit, üst solunum yolu rahatsızlıkları, öksürük, barsak krampları, sindirim sistemi düzensizlikleri, mide ağrısı, dolaşım ve boşaltım sistemi bozuklukları, soğuk algınlığı, romatizma, nezle gibi çok sayıda rahatsızlığa ve enfeksiyona karşı kullanılmaktadır. Bu bitkinin özüt ya da yağlarının yaşlanma önleyici, antibakteriyel, antifungal, antiseptik özellikleri vardır. Uçucu yağının %60' dan fazla bir kısmını karvakrol ve timol oluşturmaktadır. Kekik türlerinin yer aldığı Labiate familyasının tüm cinslerinde ortak özellik, yüksek miktarda uçucu yağ içermeleri ve uçucu yağın ana bileşiminin kekiğe kendine özgü kokusunu veren karvakrol ve/veya timol'ün olmasıdır. Ayrıca karvakrolün Anabasis, Carum, Cinnamomun, Mentha, Ocimum, Zea gibi bitkilerden de izole edilmektedir (68).

Karvakrol  $C_{10}H_{14}O$  kimyasal formüllü ve 2- Metil- 5-(1-Metiletil) Fenol kimyasal isminde monoterpenoik fenoldür.

Karvakrolün 2-hidroksi-1- metil-4-(1-metiletil) benzene, 2-hidroksi- p- cymene, 2-metil-5 – izopropilfenol, 3- izopropil-6- metilfenol, antioksin, izopropil o- kresol, izotimol, p- cymen-2- ol, 5- izopropil-2-metilfenol ve o- timol gibi sinonimlerine de rastlamak mümkündür. Bu bileşik alkol ve eter ile kolay biçimde çözünebilir ancak, su ile kolay çözünemez.

Karvakrolün çeşitli aktiviteleriyle çok sayıda antioksidan özellikleri belirlendiği için ve kimyasal yapısında hidroksil (-OH) grupları bulunmasından dolayı antioksidan olarak değerlendirilebilir. *Origanum vulgare*'de yüksek oranda karvakrol ile timol

bulunur ve uçucu yağın serbest radikal bağlayıcı özelliğini sergilerler. Son yapılan bir araştımda da karvakrolün genotoksik maddelere karşı insan sağlığını koruyabileceği bildirilmiştir. Karvakrolün bu tip özellikleri Anadolu Üniverisitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi (TBAM) tarafından yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir. Karvakrolün subakut, kronik toksisitesi ile üreme sağlığı üzerine ve teratojenik etkilerine yönelik veri bulunmamaktadır (68).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.DENEY HAYVANLARI

Deneysel çalışmamızda sağlıklı, dişi, 230±30 gram ağırlıkta, 3 aylık, Sprague-Dawley cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Deney sürecinde 12; 12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, ısı (21±1 °C) ve nemi (%45-65) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldılar. Deneye başlamadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlandı. Deney boyunca tüm sıçanlar polikarbon şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi (45).

#### 3.2.KİMYASAL MADDELER VE UYGULAMALARI

*Origanum onites* L. bitkisinden buhar distilasyonu (fraksiyonel distilasyon) ünitesi kullanılarak elde edilen uçucu yağın gaz kromatografisi/ kütle spektrometresi ile analizi yapılarak karvakrol bakımından zengin olan fraksiyonu ayrıldı (68). Deneysel çalışmalarımızda bu yolla elde edilmiş olan ve Prof. Dr. K.H.C. Başer tarafından sağlanan %99 saflıktaki karvakrol kullanıldı. Karvakrol, 4., 5. ve 6. gruptaki hayvanlara alkolde çözülerek intragastrik gavaj yoluyla 6 hafta süresince verildi (62). %96 saflıkda tıbbi kullanım amaçlı etil alkol sulandırılarak %56 saflıkda etil alkol elde edildi. Etanolun intragastrik gavaj yoluyla, ilk dozu 6gr/kg/gün olarak verildi ve her gün arttırılarak 1.haftanın sonunda 8 gr/kg/gün' e çıkarıldı. Diğer haftalarda sabit olarak 8 gr/kg/gün verildi. Bu uygulama 6 hafta boyunca uygulandı (76).

### 3.3. DENEY GRUPLARI

Deney hayvanları arasından rastgele seçimle herbirinden n=5'er adet sıçan olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu.

**Grup 1:** Kontrol grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara, hiçbir uygulama yapılmamıştır.

**Grup 2:** Sham grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara, intragastik gavaj yoluyla çeşme suyu verilmiştir.

**Grup 3:** Alkol grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara %56 saflıkta etil alkol intragastrik gavaj yoluyla verilmiştir.

**Grup 4:** Karvakrol grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara 50 mg/kg/gün karvakrol %56 saflıkta etil alkolle birlikte intragastrik gavaj yoluyla verilmiştir.

**Grup 5:** Karvakrol grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara 100 mg/kg/gün karvakrol %56 saflıkta etil alkolle birlikte intragastrik gavaj yoluyla verilmiştir.

**Grup 6:** Karvakrol grubu (n=5): Bu gruptaki hayvanlara 200 mg/kg/gün karvakrol %56 saflıkta etil alkolle birlikte intragastrik gavaj yoluyla verilmiştir.

Verilmesi gereken madde miktarlarının hayvanların ağırlıklarına göre hesaplanması amacıyla her 3 günde bir hayvanların ağırlıkları ölçülmüştür (63, 76, 75).

### 3.4.KARACİĞER VE KAN ÖRNEKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Deney süresi sona erdiğinde sıçanlara ketamin 0.008 ml/gr ve kasılmaları önlemek için Rompun 0.005 ml/gr intraperitoneal olarak uygulandı. İntrakardiyak kan örnekleri ile karaciğerleri hızlı bir şekilde alındı. Biyokimyasal olarak, serum

örneklerinde Hitachi 911 marka otoanalizörde Roche marka ticari AST, ALT kitleri kullanılarak aspartate transaminase (AST) ve alanine transaminase (ALT) enzimlerinin seviyeleri belirlendi. Karaciğer loblarından 3 cm kalınlığında örnekler alındı. Alınan bu örnekler nötral formalin fiksatifinde 24-48 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyondan sonra dokuların rutin histolojik takibi yapıldı.

Parafin blokları hazırlanan dokuların her birinden 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitler Hematoksilin-Eozin (H&E), Masson'un Trikrom ve Toluidin mavisi ile boyandı ve entellanla kapatıldı.

#### **Karaciğer İçin Uygulanan Doku Takibi:**

◇ Nötral Formalin solüsyonunda fiksasyon	: 24-48 saat
◇ Yıkama	: 3 saat
◇ 70°'lik alkol	: 1 saat
◇ 80°'lik alkol	: 1 saat
◇ 90°'lik alkol	: 1 saat
◇ 96°'lik alkol I	: 1 saat
◇ 96°'lik alkol II	: 1 saat
◇ 100°'lik alkol	: 1,5 saat
◇ Ksilol I	: 1 saat
◇ Ksilol II	: 30 dakika
◇ Parafin I	: 2 saat
◇ ParafinII	: 2 saat

#### **Karaciğer İçin Uyguladığımız Hematoksilin-Eozin (H&E) Boyama Yöntemi**

◇ Ksilol I	: 20 dakika
◇ Ksilol II	: 20 dakika
◇ 96°'lik alkol I	: 5 dakika

◇ 96° lik alkol II	: 5 dakika
◇ 90° lik alkol	: 5 dakika
◇ 80° lik alkol	: 5 dakika
◇ 70° lik alkol	: 5 dakika
◇ Distile Su	: 5 dakika
◇ Hematoksilin	: 2 dakika
◇ Yıkama (akar suda)	: 5 dakika
◇ Eozin	: 5 dakika
◇ 70° lik alkol	: 3 dakika
◇ 80° lik alkol	: 3 dakika
◇ 90° lik alkol	: 3 dakika
◇ 96° lik alkol I	: 3 dakika
◇ 96° lik alkol II	: 3 dakika
◇ Ksilol I	: 20 dakika
◇ Ksilol II	: 20 dakika

#### **Karaciğer İçin Uygulanan Masson'un Trikrom Boyası:**

◇ Ksilol I	: 20 dakika
◇ Ksilol II	: 20 dakika
◇ 96° lik alkol II	: 5 dakika
◇ 96° lik alkol I	: 5 dakika
◇ 90° lik alkol	: 5 dakika
◇ 80° lik alkol	: 5 dakika
◇ 70° lik alkol	: 5 dakika
◇ Distile su	: 5 dakika
◇ Hematoksilin	: 1 dakika
◇ % 1'lik Glisial asetik asit	: 1 dakika
◇ Yıkama (akar suda)	: 5 dakika
◇ Asit fuksin	: 5 dakika



◇ Distile su	: 1 dakika
◇ Fosfomolibdik asit	: 5 dakika
◇ Distile su	: 1 dakika
◇ % 1'lik Glasiyal asetik asit	: 2 dakika
◇ 70°'lik alkol	: 2 dakika
◇ 80°'lik alkol	: 2 dakika
◇ 90°'lık alkol	: 2 dakika
◇ 96°'lık alkol I	: 2 dakika
◇ 96°'lık alkol II	: 2 dakika
◇ Ksilol I	: 20 dakika
◇ Ksilol II	: 20 dakika

#### **Karaciğer için Uygulanan Toluidin Mavisi Boyası**

◇ Ksilol I	: 20 dakika
◇ Ksilol II	: 20 dakika
◇ 96°' lik alkol I	: 5 dakika
◇ 96°' lik alkol II	: 5 dakika
◇ 90°' lik alkol	: 5 dakika
◇ 80°' lik alkol	: 5 dakika
◇ 70°'lik alkol	: 5 dakika
◇ Distile Su	: 5 dakika
◇ Toluidin mavisi	:1 dakika
◇ Suda yıkama	:5 dakika
◇ 96°' lik alkol	:1 dakika
◇ Absolü alkol	:1 dakika
◇ Ksilol	:20 dakika

### **3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Deney grupları arasındaki AST, ALT ölçümleri ve mast hücresi sayımı Mann Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Mast hücresi sayımı X40 büyütme ile oküler mikrometresi yardımıyla yapılmıştır. Oküler mikrometresindeki her bir aralık 1µm olarak ölçülmüştür.

## 4. BULGULAR

Alkol kullanımı, karaciğer hasarına yol açan faktörlerden biridir. Alkol kullanımının etkisiyle serbest oksijen radikallerinin oluşumu sonucunda yağ asidi oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserid sentezi artar ve bu durum karaciğer yağlanmasına neden olur. Ayrıca alkol alınımı sonucunda ortaya çıkan asetaldehitin etkisiyle hücrelerdeki mikrotübüler sistem bozulur ve protein alınımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su da tutulacağı için hücreler şişer. Aşırı NADH oluşumu hipermetabolizmaya ve bu olayda hipoksiye neden olur. Hipoksinin en fazla hasar oluşturduğu bölge olan santral zondaki hepatositlerde hasar gözlenmektedir.

Araştırmamızda alkolik karaciğer hasarına karvakrolün etkisini belirlemek üzere alınan karaciğer kesitlerine genel yapı özelliklerini ortaya koymak için Hematoksilin-Eozin (H&E) ve Masson'un trikrom boyası, Mast hücrelerini histokimyasal olarak incelemek için toluidin mavisi uygulanmıştır.

Karaciğer hasarını belirlemek için serum AST ve ALT seviyeleri biyokimyasal olarak analiz edilmiş ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 1 de verilmiştir. Ayrıca Toluidin mavisi ile boyanan karaciğer kesitlerinde mm<sup>2</sup> deki mast hücresi sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiş ve bulguları Tablo 2 de gösterilmiştir.

### 4.1. HİSTOLOJİK BULGULAR

#### 4.1.1. Grup 1 (Kontrol grubu) Bulguları

Hematoksilin-eozin ve Masson Trikrom boyası ile boyanmış karaciğer kesitleri incelendiğinde, klasik karaciğer lobülünün ortasında vena sentralis, vena sentralisden ışınsal biçimde periferine doğru uzanan hepatosit kordonları ve bu kordonların arasında yer alan sinüzoidler izlenmiştir. Hepatositlerde nükleus yuvarlak ve çoğunlukla ökromatik, sitoplazma ise eozinofilik boyanmıştır. Sinüzoidlerde endotel hücrelerinin nükleusları ise yassı ve koyu boyanmış olarak gözlenmiştir.. Endotel hücrelerinin

arasında ya da lümene bakan yüzünde tutunmuş olarak endotel hücrelerinden daha büyük, nukleusları oval ve soluk boyanan Kupffer hücrelerine rastlanmıştır. Portal alanlarda, vena porta, arteria hepatica, safra duktusu ve lenfatik damar normal olarak gözlenmiştir.

Masson'un Trikrom boyasını uyguladığımız karaciğer kesitlerinde ayrıca lobül çevresi ve portal alanda bulunan bağ dokusu elemanları belirgin olarak ayırt edilmiştir.

#### **4.1.2. Grup 2 (Sham grubu) Bulguları**

Hematoksilin-eozin ve Masson'un trikrom boyasıyla boyanan sham grubuna ait kesitlerde, karaciğer parankiması, stroması ve portal alanlardaki bulgular kontrol grubu ile aynı yapısal özellikleri göstermektedir. Ancak, toluidin mavisi ile boyanmış kesitlerde sham grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında intragastrik gavaj tekniğinin hayvanlarda oluşturduğu strese bağlı olduğunu düşündüğümüz mast hücrelerinin portal alanlarda sayıca arttığı dikkati çekmektedir ( $P < 0.05$ ) (Tablo 6).

Sham grubu ile kontrol grubu serum AST ve ALT sonuçlarına Mann-Whitney U testi uygulandığında, Tablo 4'de belirtildiği gibi iki grup arasında serum AST ve ALT değerleri açısından arasında anlamlı fark ( $P > 0.05$ ) bulunmaktadır.

#### **4.1.3. Grup 3 (Alkol grubu) Bulguları**

Etil alkol verilen grubun hematoksilin-eozin kesitlerinde, vena sentralis çevresinde bulunan hepatositlerde çeşitli derecelerde hasar saptandı. Bu hücrelerin sitoplazmaları çevrelerindeki hücrelerin sitoplazmalarıyla kıyaslandığında daha açık renkli boyandığı dikkati çekti ve nukleusları piknotik olarak gözlendi. Ayrıca özellikle portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde polimorf nükleer lökositler (PMNL) ve mononükleer lökositler (MNL) inflamasyon saptandı. Daha çok sentolobüler alanlarda olmak üzere birçok bölgede sinüzoidal konjesyon (hiperemi) bulundu. Tüm kesitlerde hepatositlerde yaygın yağlı dejenerasyona rastlandı. Hepatositlerdeki lipid

vakuollerinden dolayı çoğu hepatositin nukleusunun ise merkezde değil, kenara itilmiş olduğu dikkati çekti. Bunun yanında hepatositlerin bir çoğunda hipertrofi görüldü.

Masson'un Trikrom boyasıyla boyanan kesitlerde, portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde fibrozise rastlanmadı ve kontrol grubundaki karaciğer kesitlerindeki histolojik yapı ile benzerlik gösterdi.

Toluidin mavisi ile boyanmış karaciğer kesitlerde mast hücresi sayısında kontrol ve sham grubuyla karşılaştırıldığında alkol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ( $P<0.05$ ) (Tablo 6).

Alkol grubu serum AST ve ALT sonuçlarına Mann-Whitney U testi uygulandığında ve sonuçlar, sham ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Tablo 4'de belirtildiği gibi alkol grubunda serum AST ve ALT değerlerinin anlamlı düzeyde arttığı (AST:  $P<0.05$ , ALT:  $P<0.01$ ) gözlemlendi.

#### **4.1.4. Grup 4 (50mg/kg Karvakrol+Alkol grubu) Bulguları**

50mg/kg karvakrol ve alkolün birlikte verildiği gruba ait hematoksilin-eozin ile boyanan karaciğer kesitlerinde vena sentralis çevresinde bulunan hücreler alkol grubundakiler ile karşılaştırıldığında hasarın azalmadığı ancak periferik zondaki hepatositlerde yağlı dejenerasyonun büyük bir oranda ortadan kalktığı tespit edildi.

Alkol grubuyla karşılaştırıldığında lökosit inflamasyonunun portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde bulunduğu gözlemlendi. Ayrıca kesitlerde sinüzoidal dilatasyon ve konjesyonun gözlemlendi.

Masson'un Trikrom boyası uygulanan karaciğer kesitlerinde, hematoksilin ve eozin ile boyanmış kesitlerin bulgularına benzer histolojik yapı bulundu ve portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde fibrozise rastlanmadı.

Toluidin mavisi uygulanan karaciğer kesitlerinde, 50mg/kg karvakrol uygulanan grupta kontrol ve sham grubuyla karşılaştırıldığında mast hücre sayısı ve degranülasyonunda alkol grubuna benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ( $P<0.05$ ) gözlemlendi (Tablo 6)

Alkol grubuyla karşılaştırıldığında 50mg/kg karvakrol grubunun AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ( AST:  $P<0.01$ , ALT:  $P<0.05$ ) tespit edildi (Tablo 4).

#### **4.1.5. Grup 5 (100mg/kg Karvakrol+Alkol grubu) Bulguları**

100mg/kg karvakrol ve alkolün birlikte verildiği gruba ait hematoksilin-eozin ile boyanan karaciğer kesitlerinde vena sentralis çevresinde bulunan hücreler alkol grubundakiler ile karşılaştırıldığında hasarın azalmadığı ancak periferik zondaki hepatositlerde yağlı dejenerasyonun büyük bir oranda ortadan kalktığı tespit edildi.

100mg/kg karvakrol ve alkolün birlikte verildiği grup, alkol grubu ve 50mg/kg karvakrol grubuyla karşılaştırıldığında lökosit inflamasyonu portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde gözlemlendi. Ayrıca sinüzoidal dilatasyon ve konjesyonun tespit edildi.

Masson'un Trikrom boyası uygulanan karaciğer kesitlerinde, hematoksilin ve eozin ile boyanmış kesitlerin bulgularına benzer histolojik yapı bulundu ve portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde artmış kollajen sentezine rastlanmadı

Toluidin mavisi uygulanan karaciğer kesitlerinde mast hücresi sayısında kontrol ve sham grubuyla karşılaştırıldığında 100mg/kg karvakrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Ayrıca alkol grubuyla karşılaştırıldığında granüle mast hücre sayısında anlamlı bir fark yokken degranüle hücre sayısında anlamlı bir artış tespit edildi (granüle:  $P>0.05$ , degranüle:  $*P<0.05$ ) (Tablo 6).

Alkol grubuyla karşılaştırıldığında 100mg/kg karvakrol grubunun AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi (AST:  $P<0.01$ , ALT:  $P<0.05$ ) (Tablo 4).

#### **4.1.6. Grup 6 (200mg/kg Karvakrol+Alkol grubu) Bulguları**

Hematoksilin-eozin ile boyanan 200mg/kg karvakrol ve alkolün birlikte verildiği grubun karaciğer kesitleri alkol grubundakiler ile karşılaştırıldığında, vena sentralis çevresinde bulunan hücrelerdeki hasarın arttığı gözlemlendi. Ayrıca bu grupta 50mg/kg ve 100 mg/kg karvakrol grubuyla karşılaştırıldığında ancak periferik zondaki hepatositlerde yağlı dejenerasyonun büyük bir oranda ortadan kalktığı tespit edildi.

Alkol grubu, 50 mg/kg ve 100mg/kg karvakrol grubuyla karşılaştırıldığında lökosit inflamasyonunun portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde devam ettiği gözlemlendi. Ayrıca sinüzoidal dilatasyon ve konjesyonun devam ettiği tespit edildi.

Masson'un Trikrom boyası uygulanan karaciğer kesitlerinde, kontrol grubundaki karaciğer kesitlerinin histolojik yapısı benzer bulundu portal alanlarda ve vena sentralis çevresinde fibrozise rastlanmadı.

Toluidin mavisi uygulanan karaciğer kesitlerinde mast hücresi sayısında kontrol ve sham grubuyla karşılaştırıldığında 200mg/kg karvakrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Ayrıca alkol grubuyla karşılaştırıldığında granüle mast hücre sayısında anlamlı bir fark yokken 100mg/kg karvakrol grubunda olduğu gibi degranüle hücre sayısında anlamlı bir artış tespit edildi (granüle:  $P>0.05$ , degranüle:  $*P<0.05$ ) (Tablo 6).

Alkol grubuyla karşılaştırıldığında 200mg/kg karvakrol grubunun AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi (AST:  $P<0.01$ , ALT:  $P<0.05$ ) (Tablo 4).

**Tablo 3:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının AST ve ALT Değerleri

<b>AST</b>		
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
<b>Kontrol</b>	5	134,8 ± 4,2
<b>Sham</b>	5	151,5 ± 5,7
<b>Alkol</b>	5	188,6 ± 13,4
<b>50 mg/kg karvakrol</b>	5	254,0 ± 23,5
<b>100 mg/kg karvakrol</b>	5	251,5 ± 27,6
<b>200 mg/kg karvakrol</b>	5	248,6 ± 11,9

<b>ALT</b>		
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
<b>Kontrol</b>	5	41,6 ± 2,4
<b>Sham</b>	5	45,2 ± 2,8
<b>Alkol</b>	5	76,0 ± 3,9
<b>50 mg/kg karvakrol</b>	5	83,0 ± 33,1
<b>100 mg/kg karvakrol</b>	5	87,4 ± 27,4
<b>200 mg/kg karvakrol</b>	5	86,5 ± 30,1

**Tablo 4:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının AST /ALT Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırması.

	<b>AST p değeri</b>	<b>ALT p değeri</b>
<b>Kontrol - Sham</b>	P>0.05	P>0.05
<b>Alkol -Kontrol ve Sham</b>	P<0.05	P<0.01
<b>50 mg/kg - Alkol karvakrol</b>	P<0.01	P<0.05
<b>100 mg/kg – Alkol karvakrol</b>	P<0.01	P<0.05
<b>200 mg/kg - Alkol karvakrol</b>	P<0.01	P<0.05



**Tablo 5:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının Granüle ve Degranüle Mast Hücre Sayısı Değerleri.

<b>Granüle</b>		
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Kontrol	5	0,24 $\pm$ 0,18
Sham	5	0,42 $\pm$ 0,13
Alkol	5	0,16 $\pm$ 0,11
50 mg/kg karvakrol	5	0,25 $\pm$ 0,14
100 mg/kg karvakrol	5	0,32 $\pm$ 0,10
200 mg/kg karvakrol	5	0,36 $\pm$ 0,11

<b>Degranüle</b>		
	n	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$
Kontrol	5	1,10 $\pm$ 0,30
Sham	5	4,48 $\pm$ 0,87
Alkol	5	5,06 $\pm$ 0,78
50 mg/kg karvakrol	5	5,82 $\pm$ 1,05
100 mg/kg karvakrol	5	7,98 $\pm$ 1,53
200 mg/kg karvakrol	5	7,96 $\pm$ 2,77

**Tablo 6:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının Granüle ve Degranüle Mast Hücre Sayısı Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırması.

	<b>Granüle p değeri</b>	<b>Degranüle p değeri</b>
<b>Kontrol - Sham</b>	P<0.05	P<0.05
<b>Alkol -Kontrol ve Sham</b>	P<0.05	P<0.05
<b>50 mg/kg - Kontrol ve Sham karvakrol</b>	P<0.05	P<0.05
<b>50 mg/kg - Alkol karvakrol</b>	*P>0.05	*P>0.05
<b>100 mg/kg – Kontrol ve Sham karvakrol</b>	P<0.05	P<0.05
<b>100 mg/kg – Alkol karvakrol</b>	P>0.05	*P<0.05
<b>200 mg/kg - Kontrol ve Sham karvakrol</b>	P<0.05	P<0.05
<b>200 mg/kg - Alkol karvakrol</b>	P>0.05	*P<0.05

\*Yükselen değerler

## 5. TARTIŞMA

Tüm dünyada alkol kullanımı ile ilişkili sorunlar oldukça yaygın ve sorunun çözümü de oldukça masraflıdır. Ülkelerin ekonomik ve sosyal durumlarından bağımsız olarak tıbbi harcamaların büyük bir kısmı alkol kullanımına bağlı hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Yine alkol kullanımının oluşturduğu etkiler üretkenliğin önemli ölçüde azalmasına neden olabilmektedir. Birleşik devletlerde genel tıbbi yardım isteyen hastaların 1/5 inde alkol bağımlılığı olduğu tahmin edilmektedir (52).

Kuzey Amerikada yetişkin ölümlerinin en önemli sebeplerinden biri alkoldür. Ekonomik gelişme ve yaşam standartlarının artmasıyla beraber tüm dünyada alkolün sebep olduğu hastalıkların görülme sıklığı artmıştır (42).

Alkol kullanımının karaciğer hastalıklarına yol açtığı yüzyıllardır bilinmektedir. Alkolün karaciğer hastalıklarına yol açmasının altında yatan esas neden, alkolün başlıca karaciğerde metabolize olmasıdır. Midenin ihmal edilebilir küçük katkısını göz ardı edersek, alkol metabolizmasında asıl sorumlu olan organ karaciğerdir (30). Uzun süre alkol kullanımının karaciğer hastalıklarına yol açtığı günümüzde tartışmasız bir gerçektir ve tüm dünyada alkolik karaciğer hastalığından muzdarip milyonlarca insan bulunmaktadır. Alkolik karaciğer hastalığı, yağlı dejenerasyon, inflamasyon, nekrozun görüldüğü ve alkol kullanımı bırakılmaz veya tedavi edilmezse siroza kadar gidebilen ölümcül bir hastalıktır (7, 11, 74).

Birçok bilim adamı tarafından çok uzun yıllardan beri alkolik karaciğer hasarının tedavisi araştırılmış fakat henüz çok etkili bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Araştırmacılar karaciğer harabiyetini önlemek veya tedavi etmek amaçlı bir çok kimyasal madde ve bitki kullanmışlardır. Karaciğer hasarı, değişik yollarla inhibe ve aktive ederek yada antioksidan savunma sistemini çeşitli yollarla güçlendirerek tedavi edilmeye çalışılmıştır.

Hücresel metabolizmada normal olarak reaktif oksijen türleri de (ROS) üretilir. Düşük seviyelerdeki ROS miktarları hücreler arası sinyal mekanizmaları ve birçok hücrenin fonksiyonu için hayati öneme sahip olsa da bu moleküllerin in vivo olarak aşırı oluşumu hücre fonksiyonlarına ters etki yapmaktadır. ROS transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin sinyal iletim yollarını ve proteaz aktivitesini etkileyerek; inflamatuvar mediatörlerin ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu stimule ederek inflamasyon ve hücre ölümüne sebep olur. Bu travmalardan sonra hepatosellüler fonksiyonların geri dönüşümü için serbest oksijen radikallerinin normal seviyesini korumak gereklidir (69).

Karaciğer hasarının oluşumundaki en belirgin sebep serbest oksijen radikallerinin hepatositlere olan bu etkileridir. Oksijen radikallerinin üretiminin artması, sitokrom P450 2E'nin indüklediği lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır. Oksidatif stres etanolün sebep olduğu karaciğer hasarında önemli bir rol oynamaktadır ve oksidatif hasarın derecesi tüketilen etanol miktarına bağlı olarak değişmektedir (47, 69).

NO karaciğerde parankimal ve parankimal olmayan hücrelerde üretilen yüksek reaktif olan bir oksidandır. NO'nun sitokrom P-450'nin down regülasyonunda rol oynayarak ve karaciğerde protein ve DNA sentezini suprese ederek nekroz ve apoptozise neden olduğu in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Son zamanlarda nitrik oksit (NO) hepatotoksitede önemli bir mediatör olduğu ve NO oluşumundaki değişimlerin patolojik durumlara neden olduğu ve NO'nun karaciğerde yüksek miktarlarda üretilmesi sonucunda serbest radikallerin oluşumunu arttırması nedeniyle hasara sebep olduğu düşünülmektedir. Kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda ve kronik olarak etanol verilmiş olan sıçanlarda monositlerdeki NO üretiminin arttığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte birçok inflamasyon modelinde NO inhibisyonu doku disfonksiyonunu ve hasarının arttırdığı da gösterilmiştir (43, 53, 69).

NO'nun karaciğer hasarındaki rolü tartışmalı olmasına rağmen nitrik oksit sentetaz (NOS) inhibisyonunun alkolizme prooksidan ve antioksidan etkileri daha önce çalışılmamıştır. Uzun ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada NOS inhibisyonunun sıçanlarda alkolün sebep olduğu oksidatif strese etkisi araştırılmış ve NOS inhibisyonu için nonselektif bir inhibitör olan Nw-Nitro-L-arjinin metil esteri (L-NAME) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan sıçanlara 4 hafta boyunca etanol intragastik olarak, L-NAME ise sularına katılarak verilmiş ve biyokimyasal olarak AST, ALT, MDA ve NO seviyelerine bakılmıştır. Çalışmada sıçanlar 3 gruba ayrılmış; 1.grup kontrol, 2. grup etanol, 3. grup ise L-NAME grubu olarak belirlenmiştir. Sadece alkol verilen grupta ALT ve AST seviyeleri, kontrol ve L-NAME grubundakilerle karşılaştırıldığında yüksek çıkmış, fakat L-NAME grubunda bu enzim seviyelerinin kontrolle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Plazma MDA seviyesiyle ölçülen lipid peroksidasyonu ise alkol grubunda kontrol ve L-NAME grubuna göre önemli derecede yüksek çıkmış, L-NAME grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise L-NAME grubundaki plazma MDA seviyesi kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır. Bununla birlikte doku MDA seviyeleri gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır (69).

Plazma ve doku NO seviyeleri alkol grubunda, kontrol ve L-NAME grubuna göre yüksek, L-NAME grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise L-NAME grubunda düşük çıkmıştır. Bütün bu bulgulara bakılarak bu çalışmada L-NAME'nin antioksidan enzimleri arttırarak oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (69).

Nitrik oksit (NO) fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli bir mediatör olarak tanımlanmaktadır. Karaciğerde nitrik oksit sentetazın (NOS) en az iki izoformu üretilir. Bunlar endotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve inducible nitrik oksit sentetaz (iNOS) dır. eNOS vazodilatasyonda önemli rol oynarken, iNOS lipopolisakktlerin veya inflamatuvar sitokinlerin situmulasyonu ile indüklenir.

Nanji ve arkadaşları yaptıkları çalışmada NO için bir substrat olan arjininin karaciğer hasarını belirgin bir derecede azalttığını bulmuşlardır. Bir nonselektif NOS

inhibitörü olan L-NAME uygulaması ise karaciğer hasarını arttırdığı söylenmesine rağmen biraz öncede tartışıldığı gibi Uzun ve arkadaşları L-NAME'nin hasarı azaltıcı etkisinin olduğunu bildirmektedirler.

NF- $\kappa$ B inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde çok önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. NF- $\kappa$ B sitoplazmada I $\kappa$ B gibi proteinlere bağlı ve inaktif olarak bulunur. Stimulasyondan sonra nukleusa transloke olur dekametik DNA sekanslarına bağlanır ve hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. NF- $\kappa$ B'nin iNOS indüksiyonunda fonksiyonel bir öneme sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (77).

Guang-Jin Yuan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada balık yağı ile birlikte intragastrik olarak verilen etanolla oluşturulan alkolik karaciğer modelinde iNOS ve eNOS aktiviteleri ve bunların NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  ekspresyonu ve karaciğer hasarıyla ilişkisini araştırılmışlar ve alkolün sebep olduğu karaciğer hasarında NOS üretimine bağlı olarak iNOS ekspresyonu ve aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Sonuç olarak karaciğerde iNOS'un indüksiyonunun özellikle nekroinflamasyon olmak üzere karaciğer hasarına , NF- $\kappa$ B aktivasyonuna ve TNF- $\alpha$ 'nın mRNA ekspresyonunun artmasıyla ilgili olduğu bulunmuştur (77).

Kronik etanol uygulamasıyla artan serbest radikal oluşumu, inflamatuvar sitokinlerin yapımını regüle eden nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Ksantin oksidaz da serbest oksijen radikallerinin potansiyel bir kaynağıdır. Kono ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir çalışmada ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinolün serbest radikal oluşumunu engellemek suretiyle erken alkolik karaciğer hasarına etkisi araştırılmıştır. 4 hafta boyunca etanol ve yüksek yağ diyeti uygulanan sıçanlarda deneyin sonunda yağlı değişiklik, inflamasyon ve nekroz gözlenmişler, allopurinolün etanolün verdiği bu karaciğer hasarını %60 oranında düzelttiğini, ayrıca etanol grubunda kontrol grubuna göre artmış olan AST, ALT seviyelerini %50 oranında azalttığını göstermişlerdir. Karaciğerdeki nötrofil inflamasyonu etanol grubunda kontrol grubuna kıyasla

yaklaşık 3 katı yüksektir. Allopurinol ise bu artışı %50 oranında azaltmıştır. Kronik etanol uygulamasından sonra hepatik NF-kB aktivitesi yaklaşık 2.5 kat artmış, yine allopurinol bu artışı kontrol grubundaki seviyeye indirmiştir. Bu bilgilere dayanarak araştırmacılar allopurinolün NF-kB aktivitesini engelleyerek alkolün neden olduğu erken evredeki karaciğer hasarını önlediğini söylemektedirler (38).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar alkolik karaciğer hastalığında birçok mekanizmanın hatta çevresel faktörlerin bile hastalığın ilerleyişini etkilediğini göstermektedir. Alkolik karaciğer hastalığından ölümlerin artmasından dolayı araştırmacılar bu hastalığın patogenezi araştırmaya başlamışlardır. Bu hastalıkta hepatosellüler hasar perisentral zonda başlamakta daha sonra periportal alanlara yayılmaktadır. Perisentral zonda başlamasının sebebi alkol metabolizmasının ilk burada başlamasıdır. Perisentral hepatositlerde periportal hepatositlere göre CYP2E1 daha fazla bulunmaktadır. Kronik olarak alkol kullanımının hipermetabolizmaya bunun da hipoksiye neden olduğu bilinmektedir. Alkolik hasarın perisentral zonda başlamasının sebebi doku hipoksisi de olabilir. Hipoksi bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1 $\alpha$  aktivasyonunu başlatmaktadır çünkü HIF ailesinin bu alt ünitesinin aktivitesi sitoplazmadaki oksijen seviyesine bağlıdır (41, 42).

Çinli bilim adamlarının yaptığı bir çalışmada, hasarın neden perisentral zonda başladığı araştırılmaktadır. Bu çalışmada alkolik karaciğer hastalığının altında yatan sebebin hipoksiye bağlı olarak artan hipoksi-inducible factor-1 alpha HIF-1 $\alpha$  olduğu düşünülmüş ve hasardan sonra bu transkripsiyon faktörünün ekspresyonu ölçülmüştür. 24 hafta boyunca %56 lık etil alkol verilen sıçanlarda, RT-PCR analizi ile HIF-1 $\alpha$  ekspresyonuna bakılmışlardır. Alkol verilen grupta HIF-1 $\alpha$  arttığını saptamış ve buna bağlı olarak alkolik karaciğer hastalığının ilerleme sürecinin hipoksiden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (42).

Miller ve arkadaşları 1994 yılında, nonesansiyel bir amino asit olan glisinin böbrek proksimal tübüllerini ve hepatositleri hipoksiden koruduğunu göstermişlerdir.

Karaciğer transplantasyon modellerinde rinse solüsyonuna glisininde katılması reperfüzyon hasarını azaltarak karaciğerin canlı kalmasına yardım etmektedir.

Alkolik karaciğer üzerine bir başka çalışma bu bilgilerden yola çıkılarak Yin ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 6 hafta boyunca etanol verilen sıçanlara etanol kesilip 2 hafta boyunca glisinden zengin diyet uygulanmış ve bu tedavinin karaciğerin kendini tamir etmesine yardımcı olup olmadığı araştırılmıştır. 6 haftalık etanol uygulaması kandaki AST ve ALT seviyelerini arttırmış ve bir hafta etanol verilmeyen ve 1 hafta sadece glisin verilen gruplarda bu enzim seviyelerinin düştüğü fakat glisin verilen grupta bu düşüşün daha fazla olduğu görülmüştür. 2 hafta boyunca glisin verilen grupta ise en düşük enzim seviyelerine rastlanmıştır. 6 hafta etanol verilen grupta yağlı değişiklik, inflamasyon ve nekroz gözlenirken 1 hafta etanolü kesilmiş grupta yine bu patolojilere rastlanmış fakat glisin verilen grupta bu patolojiler %30 azalmıştır. 2 hafta glisin verilen grupta ise bu azalma oranı %80 olmuştur (74).

Glisin karaciğerde glikoneogenezde önemli bir role sahiptir. Ayrıca glisin makrofajların aktivasyonunu ve TNF- $\alpha$  salınımını inhibe eder. Bilimadamları tarafından yapılan birçok çalışma sonucunda glisinin kronik alkol kullanımından sonra karaciğer hasarını önlediği gösterilmiştir.

Rajagopal Senthilkumar and Namasivayam Nalini'nin yapmış olduğu bir çalışmada alkolik karaciğerde glisinin doku yağ asiti kompozisyonuna etkisi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda glisinin AST, ALT, ve GGT seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir ve glisinin karaciğerde ve beyinde serbest yağ asiti kompozisyonunu optimize ederek toksisiteyi azalttığı bulunmuştur (64).

Klormetiazol bugün Avrupada alkolün neden olduğu semptomları önlemek amacıyla kullanılan bir maddedir. Klormetiazolün (CMZ) alkolik hastalarda karaciğerde sitokrom P4502E1 (CYP2E1) aktivitesini in vivo ve in vitro olarak inhibe ettiği gösterilmiş ve insanlarda yapılan in vitro araştırmalar CMZ'nin



klorzoxazone (CHZ) metabolizmasının inhibe ettiğini göstermiştir. CYP2E1 tarafından CHZ hidrolizasyonu etanol alımından sonra artar ve bu artış in vivo da CMZ tarafından bloke edilir. Etanol CYP2E1'i indüklediğinden ve bu indüksiyon da karaciğerde serbest radikal hasarı oluşturdüğundan, serbest radikallerin oluşturduğu alkole bağlı karaciğer hasarını önlemede CMZ kullanılabilir. Bütün sıçan alkolik karaciğer modellerinde karaciğer hasarı CYP2E1'in inhibe edilmesiyle tedavi edilebilir.

Hu ve arkadaşları ise CMZ'nin karaciğerde CYP2E1'yi direkt olarak inhibe etmediğini göstermişlerdir. Hepatoma hücreleriyle yaptıkları bu çalışmada CMZ'nin CYP2E1 transkripsiyonunu inhibe ederek transkripsiyon sonrası seviyesini düşürdüğünü bulmuşlardır. Ayrıca bu bilgilerden yola çıkılarak CMZ CYP2E1'e karşı antikor oluşumunu baskıladığı düşünülmektedir (27).

Bu konuyla ilgili Gouillon ve arkadaşlarını yaptıkları çalışmada, sıçanlarda CMZ'nin etanolün sebep olduğu karaciğer hastalıklarına etkisini araştırmışlardır. Alkolik sıçan karaciğerine CMZ uygulaması in vivo CYP2E1 aktivitesini apoenzim oluşum mekanizmasıyla değil, CHZ yoluyla etkilediği bulunmuş ve sonuç olarak CMZ'nin CYP2E1 aktivitesini engelleyerek serbest radikallerin oluşumundan kaynaklanan hasardan karaciğeri koruduğunu belirtilmiştir (24).

Alkolizm tedavisinde bilim adamları uzun yıllar boyunca birçok kimyasal bileşim geliştirilmeye çalışmışlardır. Ancak birkaç yıldır araştırmacılar bitkilerden elde edilen doğal özlerle yapılan tedavilere yoğunlaşmışlardır. Çünkü kimyasal bileşimlerin zararlı ve önceden tahmin edilemeyen yan etkileri bulunabilmektedir. Bu amaçla geçmişte halk tarafından kullanılan ve şifalı olduğu söylenen bitkilerin ekstraktlarının kimyasal yapısı araştırılmış ve hepatoprotektan olarak düşünülen bitkilerin alkolik karaciğere etkisi denenmiştir (49).

Bizde çalışmamızda antioksidan özelliği bilinen monoterpenoik bir fenol olan karvakrolün alkolik karaciğer hasarı üzerine etkisini araştırdık. Bu madde aromatik

ve hoş kokulu özelliğinden dolayı ülkemizde baharat olarak kullanılan kekiğın içerdiği uçucu yağlardan biridir. Karvakrolün çeşitli aktiviteleriyle çok sayıda antioksidan özellikleri belirlendiği için ve kimyasal yapısında hidroksil (-OH) grupları bulunmasından dolayı antioksidan olarak değerlendirilir (68).

Ürsolik asit doğada bazı bitkilerin içeriğinde bulunan bir terpenoidtir. Ürsolik asitin Martin Aragon ve arkadaşları tarafından 2001 yılında antioksidan özelliği gösterilmiş ve 2005 yılında Rajendrasozhan Saravanan ve ekibi tarafından da alkolik karaciğer hasarına etkisi araştırılmıştır.. Yapılan bu çalışmada deneysel olarak alkolik karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda ürsolik asitin serumda AST ve ALT seviyelerini azalttığı ve lipid peroksidasyonu seviyesini düşürdüğü anlaşılmış ve histopatolojik olarak alkolün sebep olduğu vasküler dilatasyon ve hücre sel yağ birikimini azalttığı saptanmıştır (48, 62).

Joo Sun Choi ve arkadaşları, akut ve kronik alkolik karaciğer hasarına karşı *Acanthopanax senticosus* bitkisinden izole edilen bir glikoprotein (GF-AS) iyileştirici etkisi araştırmışlardır. Halk arasında “Siberian Ginseng” olarak bilinen bu bitki aynı zamanda kronik bronşit, hipertansiyon ve iskemide kullanılmıştır. Amerikada bu doğu kökenli bitkiye adatojen de denmektedir. Kore’de bu bitkinin ekstresi geleneksel bir ilaç olarak kullanılmış ve içeceği karaciğer hasarı ve alkol detoksifikasyonu için ticari olarak satılmaktadır. Daha önceleri GF-AS’ nin in vitro ve in vivo olarak CCl<sub>4</sub> hasarına karşı karaciğer koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. *A. Senticosus* bitkisinin içeriğinde bulunduğu bilinen bir çok maddenin dışında Joo Sun Choi ve arkadaşları bu bitkinin gövde kabuğundan elde edilen GF-AS glikoproteinini alkolik karaciğer hasarına etkisini araştırmışlardır. Deneysel protokolünde serum alkol konsantrasyonu, serum ve karaciğer lipid seviyeleri, hepatik lipogenik enzim aktivitesi ve histolojik analizler yapılmıştır. Bu deneysel sonucunda GS-AS’nin glutatyon ve antioksidan enzim seviyelerini arttırdığını görmüşler ve ayrıca bu glikoprotein kronik olarak alkol uygulanan grupta malik enzim, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi lipogenik enzim aktivitelerini önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır. Histolojik incelemede ise GF-AS’nin alkolün sebep

olduğu hepatik lezyonları ve yağlı değişikliği iyiye götürdüğü gösterilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sadece alkol verilen grupta multi fokal yağlı değişiklik, perivenüler sinüzoidal dilatasyon, fokal parankimal hemorajik nekroz ve hepatositlerde hafif perivenüler mikrovezikül oluşumu vardır. GF-AS bu hepatik lezyonların oluşumunu engellemiş nekrozu azaltmıştır. Bu sonuçlar hepatik lipid peroksidasyonu seviyelerine bakıldığında bu değerlerle de uyum göstermektedir. Serumda AST ve ALT seviyeleri de düşmüştür.

Sonuç olarak akut ve kronik alkolik karaciğer hasarında GF-AS antioksidan savunma sistemini arttırarak alkol nedenli hepatotoksisiteyi azaltmıştır (10).

Araştırmamızda karvakrol uygulanan gruplarda karvakrolün karaciğerdeki lobüllerin periferik zonlarındaki yağlı dejenerasyonu düzelittiği, hepatositlerde kısmen koruyucu özellik gösterdiğini belirledik. Ancak karvakrolün bu olumlu etkisinin serum AST ve ALT değerlerine yansımadağı gözlenmiştir.

Soya fasülyesinde karbonhidrat yağ, protein, lif ve kalsiyum bakımından iyi bir kaynaktır. Yakın bir zamanda soya proteininin kan kolesterol seviyesini düşürdüğü FDA tarafından da onaylanmıştır. Bu bitkinin besleyici, ekonomik ve sağlıklı olması gelecekteki çalışmaların bu bitki üzerine yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Soya fasülyesinin içeriğinde bulunan maddeler birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Bu konuyla ilgili en çok serum kolesterol seviyesi, , hepatosit membran ve yapısını koruyuculuğu, hepatik fibrozisi önleme veya tedavi çalışmaları yapılmıştır. Lovati tarafından yapılan bir çalışmada soya proteininin serumda toplam kolesterol, düşük densiteli lipoprotein (LDL), ve trigliserit düzeyini azalttığı ve bununla beraber yüksek densiteli lipoprotein (HDL) serumdaki konsantrasyonunu düşürdüğü gösterilmiştir. Soya proteininin besin olarak tüketilmesi karaciğer hastalıkları ve alkolizmin azalmasına yardımcı olabilmektedir. Ayrıca soya fosfolipidlerinin karaciğer hastalıklarının, kronik hepatitisin ve kötü beslenmeden kaynaklanan karaciğer yetmezliğinin semptomlarını azalttığı rapor edilmiştir.

Park ve arkadaşları Kore soya fasüyesinin 11S proteini kullanarak hazırladıkları tofunun kolesterolemiye ve alkolik karaciğere etkisini araştırmışlardır. Deneplerinde sıçanlara 6 hafta boyunca her gün etanol verilmiş, ve yine bu zaman içerisinde 11S proteini de oral olarak verilmiştir. Biyokimyasal olarak AST, ALT, total kolesterol ve total lipid seviyeleri ölçülmüştür. Alkol grubunda hepatositlerde dejenerasyon, inflamatuvar hücrelere, eozinofilik Mallory cisimciklerine, sinüzoidal dilatasyona, küçük lipid damlacıklarına rastlanmıştır. 11S proteini ile tedavi grubunda ise karaciğer yapısı kontrol grubu karaciğer yapısıyla benzerlik göstermiştir. Ayrıca alkol grubunda değerleri yüksek çıkan AST, ALT, total kolesterol ve lipid seviyeleri S11 grubunda belirgin bir derecede düşmüştür (57).

Alkol kullanan insanların karaciğer biyopsilerinde yağlanma önemli bulgularda birisidir. Yağlı karaciğer, hücrelerin en az %5inde görülen vakuoller yağ damlacıkları olarak tanımlanmaktadır. Bu hastalar alkol kullanımına devam ederlerse karaciğerlerinde fibrozis ve siroz gelişmektedir. Yağlı karaciğer tedavisinde bugüne kadar etkili bir yöntem geliştirilememiştir. Araştırmamızdaki alkol grubuna ait karaciğer kesitlerinde araştırmalarla uyumlu olarak yağlı dejenerasyonun lobüllerdeki periferik zonda yaygınlığı dikkat çekicidir.

Hyun-Jeong Kwon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yağlı karaciğeri tedavi etmek amacıyla karaciğer koruyucu ve anti-hepatik steatosis ajanı olarak bilinen birçok bitkinin karışımının alkolik karaciğerde etkisine bakılmıştır. Bu karışım *Astragalus membranaceus*, *Morus alba*, *Crataegus pinnatifida*, *Alisma orientalis*, *Salvia miltiorrhiza* ve *Pueraria lobata* bitkilerinden oluşmaktadır. Bu bitkilerin her birinin karaciğer koruyucu olduğu bilinmesine rağmen bunların karışımlarının oluşturacağı etki bilinmemektedir. Bu karışıma geleneksel Çin ilacı (TCM) adını vermişlerdir. Serum AST ve ALT seviyelerine bakmışlar ve TCM verilen grupta bu enzim seviyelerinin düştüğünü görmüşler. Histolojik incelemede ise alkol verilen grupta oluşan yağ damlacıkları TCM grubunda anlamlı derecede azaldığını saptamışlardır (39).

Bulgularımızda karvakrol uygulanan gruplardaki hepatositlerde yağlı dejenerasyonun azalmasını karvakrolün antioksidan etkisi nedeniyle oluşturduğunu düşünmekteyiz.

Fitokimyasallar polifenolik içeriklerinden dolayı potansiyel antioksidanlardır. Fenugreek bitkisinde bu özelliğinden dolayı antioksidan sayılan bir bitkidir. Fenugreek aynı zamanda hindistanda kullanılan bir baharattır ve geçmişte geleneksel olarak alternatif tıpta diyabette kullanılmış ve antidiyabetik özelliği kanıtlanmıştır. Thirunavukkarasu ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan çalışmalar bu bitkinin alkolik karaciğerde oksidatif stresi azalttığını göstermektedir. Kaviarasan ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da Fenugreek çekirdeği polifenol ekstresinin (FPET) karaciğer lipidleri üzerine etkisi araştırmış ve bu eksternin deneysel olarak etanol ile arttırılmış lipid seviyelerini normale düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca histolojik olarak bu FPET'nin yağlı değişikliği yok ettiği ve sinuzoidal dilatasyonu belirgin bir derecede azalttığı gözlenmiştir (37).

Uzun süreli alkol kullanımı sonucunda hepatik antioksidanlar ve glutatyonun tükenmesi sonucunda karaciğer hasarı meydana gelir.

Jong Cheol Park ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen eksterenin alkolik karaciğere etkisine bakmışlardır. Karaciğerde alkol uygulaması alkol metabolizmasında görev yapan MEOS, ADH ve ADLH sistemlerinin aktivitesini arttırmış fakat bu bitki ile tedavi grubunda bu aktivitenin daha fazla arttığı saptanmıştır. Ayrıca etanolün sebep olduğu lipid peroksidasyonundaki artış bitki ile tedavi grubunda azalmıştır. Sonuç olarak bu bitki, alkolün sebep olduğu toksisiteyi azaltmıştır (56).

Alkol karaciğerde serbest radikallerin oluşumunu arttırmaktadır. Oksidatif stres, direkt toksisite oluşturmasının yanısıra inflamatuvar cevabı da arttırmaktadır. Bu nedenle insanlarda alkolik karaciğer hastalığında antioksidanların kullanılması

teorik olarak uygundur. Bu nedenle araştırmamızda antioksidan özellikleri belirlenmiş karvakrolün alkolik karaciğer hasarı üzerine etkisi üç farklı dozda incelenmiştir.

*Ginko biloba* ağacının yapraklarının ekstresi yüzyıllardır tedavi amaçlı kullanılmıştır. Ekstre flavanoidler ve terpenoidler içermektedir. Flavonoidler polifenollerin geniş bir grubunu oluşturmakta ve bitkilerde doğal olarak bulunmaktadırlar. Bu yüzden kuvvetli antioksidanlardır. Bunlar özellikle oksijen kaynaklı serbest radikalleri nötralize ederler. *Ginko biloba*'nın CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer fibrozisinde ve biliyer tıkanıklıklarda hepatoprotektif etki gösterdiği birçoğ çalışmada gösterilmiştir. Buna rağmen alkolik karaciğerde bugüne kadar bu bitkinin çalışılmaması Çinli bilim adamlarının ilgisini çekmiş ve 2006'da yapılan bir çalışmada, balık yağıyla beraber verilen alkolün oluşturduğu karaciğer hasarına *Ginko biloba*'nın etkisi araştırılmıştır. Guangjin Yuan ve ekibinin yaptığı bu çalışmada 8 hafta boyunca %56lık etanol intragastrik gavaj yöntemiyle ve bizimde araştırmamızda uyguladığımız gibi ilk hafta 6gr/kg sonraki haftalarda ise her hafta dozun artırılmasıyla son hafta 8 gr/kg olacak şekilde uygulanmıştır. *Ginko biloba* ise yine bizim çalışmamızda olduğu gibi etanolle beraber farklı dozlarda verilmiştir. Araştırmanın sonunda *Ginko biloba* alkolün sebep olduğu nekroinflamasyonu ve yağlı dejenerasyonu önemli derecede azalttığı ve serum ALT seviyesi düşürdüğü saptanmıştır (76).

Tayvanda endemik olarak bulunan iki mantarın (*Antrodia camphorata* ve *Armillariella tabescens*) hepatoprotektif etkisi Tayvan bilimadamlarının ilgisinin çekmiş ve bunun üzerine bu mantarlarının karışımını akut alkolik karaciğer hasarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda sadece alkol verilen grupta artan AST, ALT seviyeleri tedavi grubunda azaldığı gözlenmiş ve alkol grubunda gözlenen karaciğer dejenerasyonu, hücresel yağlı dejenerasyonun ve portal alanlardaki inflamatuvar hücrelerin tedavi grubunda ortadan kalktığı belirlenmiştir. Ancak tedavi grubunda Kupffer hücre hiperplazisinin devam ettiği dikkat çekmiştir (46).

Doğu kökenli bir bitki olan *Phyllanthus emblica* Linn. çeşitli hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Jose ve Kuttan'ın 2003 yılında yaptığı bir çalışmada bu bitkinin CCl<sub>4</sub> hasarı oluşturulmuş karaciğerde hepatoprotektif olduğu bulunmuştur. *Phyllanthus emblica* Linn. içerdiği tanin ve flavanoidlerden dolayı antioksidan özelliindedir. Pornpen Pramyothin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Phyllanthus emblica* Linn.'in alkolik karaciğere etkisi araştırılmıştır. Bitki, bizimde çalışmamızda düşündüğümüz gibi hasar sonrası tedaviden çok koruyucu etkisi belirlemek amacıyla etanolla beraber verilmiştir. Çalışmanın sonucunda sadece etanol verilen gruba kıyasla alkolün sebep olduğu yağlı değişiklik ve karaciğer dejenerasyonunu *Phyllanthus emblica* Linn.+ etanol grubunda azaltmış ve bununla uyumlu olarak da serum AST ve ALT seviyeleri bu grupta anlamlı olarak düşmüştür (60).

Yine Pornpen Pramyothin ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı bir başka çalışmada *Thunbergia laurifolia* Linn. bitkisinin alkolik karaciğer hasarını engelleyici etkisi araştırılmış ve sonuçlar bu bitkininde hepatoprotektan olduğunu doğrulamıştır (59).

Aşıcıoğlu Y.'nin yaptığı bir çalışmada alkolle oluşturulmuş karaciğer hasarına antioksidan özellikleri bilinen likopenin etkisine araştırılmış ve çalışmanın sonunda likopenin alkolik karaciğer üzerine koruyucu etkisi ortaya konulmuştur(3) .

Çalışmamızda kullandığımız antioksidan özelliği bulunan karvakrol ile ilgili olarak İpek ve arkadaşları tarafından bir çalışma yapılmıştır. In vitro yapılan bu çalışmada karvakrolün antitümöral ve antimutajenik etkisi olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada da karvakrolün bazı mikroorganizmalar üzerine antibiyotik etkisi olduğu bildirilmiştir (68).

Başer ve arkadaşları tarafından sıçanlarda yapılan in vivo bir çalışmada karvakrolün akciğer kanserine karşı kuvvetli antitümöral özellik gösterdiği belirlenmiştir (78).

Yine Başer ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada karvakrolün fibroblast kültüründe belirli dozlarda hücrelerin çoğalmasını arttırdığı ancak doz artışına bağlı hücrelerde toksik etki yaparak çoğalmalarına engel olduğu hatta hücreleri öldürdüğü açıklanmıştır (5).

Karvakrolün sıçanlarda alkolik karaciğer hasarı üzerine etkisiyle ilgili daha önce yapılmış bir çalışma bulunmadığı için karaciğeri koruyucu yönde etkili olduğu düşünülen karvakrol dozu henüz belli değildir. Araştırmamızda kullandığımız karvakrol dozları sıçanlarda LD50=850 mg/kg karvakrol miktarları dikkate alınarak sıçanların vücut ağırlıklarına göre 50, 100, 200 mg/kg olarak ayarlanmış ve etanol içinde çözülerek intragastrik yolla verilmiştir.

Alkolün neden olduğu karaciğer hasarından kadınların daha fazla etkilendiği bilinmektedir. Bununla beraber 10 yıldan daha fazla düzenli olarak alkol kullanan obez kadınların hepatitis ve siroza yakalanma riski çok yüksektir. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş alkolik karaciğer modellerde, karaciğer hasarının dişilerde erkekler ile kıyaslandığında daha fazla olduğu belirlenmiş ve karaciğerde alkolün neden olduğu yağlı değişikliğin dişilerde daha büyük alanlara yayıldığı saptanmıştır. Yine dişilerde plazma endotoksin, serbest radikal, nötrofil infiltrasyonu seviyelerinin ve NF-κB'nin erkek sıçanlara göre 2 katı yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca östrojen verilen sıçanlarda Kupffer hücrelerinin endotoksine karşı olan duyarlılığı artmıştır. Bu bilgi, alkolik karaciğer hasarındaki Kupffer hücrelerinin aktivitesinin cinsiyete göre değiştiğini doğrulamaktadır (28 ,29, 67, 70).

Nanji ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılan bir çalışmada, alkolik karaciğer hasarından sonra erkek ve dişilerde sitokrom P-450 2E1(CYP2E1) aktivitesi, nukleer faktör-κB (NF-κB) aktivitesi, TNF-α, monosit kemotaktik protein-



1 (MCP-1), makrofaj inflammatör proteini-2 (MIP-2) seviyelerini ölçmüştür. Sonuç olarak dişilerde erkeklere oranla lipid peroksidasyonu ve NF-κB aktivitelerinin daha yüksek olduğunu ve MCP-1, MIP-2 kemokinlerinin upregülasyonunun daha fazla olduğunu gözlemişlerdir. Ancak TNF-α seviyesi ve CYP2E1 aktivasyonunun dişiler ve erkekler arasında değişmediği dikkat çekmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar lipid peroksidasyonu, NF-κB aktivasyonu ve kemokin üretiminin artışının karaciğer hasarını çoğalttığını buna karşılık TNF-α seviyesi ve CYP2E1 aktivasyonunun ise cinsiyete bağlı karaciğer hasarı farkını belirlemediğini ortaya koymuşlardır.

Nanji ve arkadaşları ayrıca dişi ve erkek karaciğerlerini histopatolojik olarak da incelemiş ve sonuç olarak dişilerde yağlı dejenerasyon, fibrozis, inflamasyon, nekroz ve serum ALT seviyelerinin erkeklere oranla fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (54).

Yine bir çalışmada Banerjee ve arkadaşları bir hücreler arası matriks proteini olan osteopontinin, alkolik steatosis oluşturulmuş dişi ve erkek sıçanlardaki farkını araştırmışlardır. Osteopontin alkolik karaciğerde yağlı dejenerasyonda artan bir proteindir ve nötrofil inflamasyonunda görev almaktadır. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar, dişilerin erkeklere oranla karaciğerlerinde daha fazla hasar oluşumunun, osteopontinin dişilerdeki ekspresyonunun erkeklerden yüksek olmasına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir. Ayrıca histolojik incelemelerinde yağlı dejenerasyon ve nötrofil inflamasyonunun dişilerde erkeklerle oranla fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (6).

Alkolün sebep olduğu karaciğer hasarında cinsiyetin etkisi birçok bilim adamı tarafından araştırılmış ve kadınlarda inflamatuvar cevabın, alkol metabolizmasının, hormon seviyelerinin, hipoksinin ve serbest radikallerin seviyeleri erkeklerdeki seviyeleriyle karşılaştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda kadınların alkolün neden olduğu karaciğer hastalıklarına yakalanma riskinin erkeklere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında bizde

araştırmamızda karvakrolün karaciğer üzerine etkisini daha iyi belirleyebilmek için dişi sıçanları tercih ettik.

Alkolik sıçan karaciğeri üzerine karvakrolün etkisini araştırdığımız çalışmamızın bulgularına göre histolojik yönden, etanolün sebep olduğu periferik zonlardaki yağlı dejenerasyonun karvakrolün olumlu etkisiyle ortadan kalktığı gözlemlendi. Ancak bu etkinin AST ve ALT değerlerine yansımamasının nedeni olarak sıçanlara verilen bu dozların kronik kullanımda yüksek olduğunu düşünmekteyiz. Yaptığımız histolojik incelemelerde ayrıca etanolün sebep olduğu vena sentralis çevresindeki hücre hasarının, lökosit inflamasyonunun, sinüzoidal dilatasyonunun ve konjesyonunun tüm karvakrol gruplarında da değişmediğini saptadık.

Alkolik karaciğer hastalığında, insanlarda ve sıçanlarda mast hücre sayısının arttığı bilinmektedir. Bu konu üzerinde mast hücre biyologları çok fazla yoğunlaşmadığından çalışmalar çok sınırlı kalmıştır (50,51).

Matsunaga ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada değişik karaciğer hastalıklarında (siroz, otoimmün hepatitis, hepatitB, hepatit C, hepatik litiyaz ve alkolik karaciğer hastalığı) mast hücre sayısının artışı karşılaştırılmıştır. Bu çalışma için bu hastalıklardan muzdarip 193 kişinin karaciğer biyopsisi örnekleri toluidin mavisi ve immunohistokimyasal boyalarla boyanmış ve mm<sup>2</sup> deki mast hücresi sayılmıştır. Sonuç olarak bu karaciğer hastalıklarında mast hücrelerinin sayısının arttığını gözlemlenmiştir. Ancak, bu artış hastalıklar arasında karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farkı olmadığı dikkat çekmiştir (50).

Karaciğer hasarı ile ilgili yapılan bir diğer çalışma ise Da-Hee Jeong ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada CCl<sub>4</sub> ile karaciğer hasarı oluşturulmuş ratlarda silymarin tedavisinin mast hücre sayısına etkisine bakılmıştır. Silymarinin hepatoprotektif etkisiyle yıllar önce kanıtlanmıştır ve günümüzde Asya ve Avrupa kliniklerinde karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.(13, 34). Silymarin *Silybum marianum* bitkisinden elde edilen bir maddedir ve yüksek bir

antioksidan kapasiteye sahiptir. Bu maddenin hücre zarını serbest oksijen radikallerinden koruduğu ve ayrıca kronik hepatitli ve siroz olan insanlarda kullanımının yüksek olan AST ve ALT değerlerini düşürdüğü belirtilmiştir. Da-Hee Jeong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CCl<sub>4</sub> hasarı karaciğerdeki mast hücrelerinin sayısını arttırmıştır. Silymarin ile tedavi grubunda ise mast hücresi sayısında belirgin bir düşüş olduğu gözlenmiştir (35).

Araştırmamızda mast hücre sayısının alkol grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğunu tespit ettik. Ayrıca tüm karvakrol gruplarında alkol grubuyla karşılaştırıldığında mast hücre sayısında beklenildiği gibi bir düşüş değil, anlamlı derecede bir artma saptadık. Karvakrol gruplarını kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda ise karvakrolün doz artışına paralel olarak mast hücre sayısında da anlamlı bir artış olduğunu tespit ettik. Mast hücreleri bilindiği gibi normal karaciğerde portal alanlarda az sayıdadır. Ancak karaciğer fibrozisinde mast hücrelerinde hiperplazi gözlenmektedir ve bu hücreler etkilerini degranülasyonla ortaya koymaktadır. Mast hücrelerinin bazı karaciğer hastalıklarında portal alanlardaki artışının kollajen senteziyle ilgili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca mast hücre granüllerinde yer alan histamin, heparin ve IL-4'ün fibroblast proliferasyonuna neden olduğu ya da Tip-I kollajen üretimini arttırdığı belirtilmektedir. Araştırmamızda da benzer çalışmalarla uyumlu olarak alkol uygulanan tüm gruplarda karaciğerdeki portal alanlarda mast hücre sayısı ve degranülasyonu artmıştır.

Araştırmamızın sonuçlarına göre, karvakrolün alkolik karaciğerde lobüllerin periferik zonlarındaki yağlı dejenerasyonu kısmen düzeltmesi, ancak biyokimyasal olarak AST ve ALT enzim değerlerinin ve histokimyasal olarak mast hücrelerinin sayıca ve degranülasyon yönünden alkol grubuna benzer şekilde yüksek olmasından dolayı, uygulanan karvakrol dozunun 50 mg/kg'ın altında tutulması gerektiğini düşünmekteyiz. Karvakrolün kompleks canlılarda *in vivo* etkisi konusundaki kapsamlı araştırmaların az olması nedeniyle uygun doz aralığını tespit etmek konusunda araştırmamızın öncü olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ

Sıçanlarda oluşturulan alkolik karaciğer hasarına antioksidan özellikleri bilinen karvakrolün etkisini belirlemeyi amaçladığımız araştırmamızın sonunda; monoterpenoik bir fenol olan karvakrolün, alkolün neden olduğu karaciğer hasarınında kısmen koruyucu özellik göstererek hepatositlerde yağlı dejenerasyonu azalttığını gözlenmiştir.

Karvakrol grupları alkol grubuyla karşılaştırıldığında, sentral ve periferik zondaki hasarın değişmediği tespit edilmiş ve bu hasarın serum AST ve ALT değerlerine yansıdığı görülmüştür. Karvakrol gruplarında AST ve ALT değerlerinin alkol grubuna göre de artmış olduğu gözlenmiştir.

Karvakrol grubu alkol grubuyla karşılaştırıldığında mast hücre sayısının karvakrol gruplarında arttığı ve karvakrol grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise karvakrolün doz artışına paralel olarak mast hücre sayısında da anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, karvakrolün 50 mg/kg'dan daha düşük dozlarda kullanıldığında alkolik karaciğer hasarını tamamen ortadan kaldırdığını düşünmekteyiz. Bu nedenle ileride yapılacak olan çalışmalarda, karvakrolün alkolik karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisinin dozunu belirlenmesinde araştırmamızın öncü olduğu görüşündeyiz.

## 7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	:Alanin Aminotransferaz
AST	:Aspartat Aminotransferaz
ALDH	:Asetaldehit Dehidrogenaz
ADH	:Alkol Dehidrogenaz
AMP	:Adenozin monofosfat
ATP	:Adenozintrifosfat
ATPaz	:Adenozintrifosfataz
ATP	:Adenozin trifosfat
BUN	:Kan üre nitrojeni
cAMP	:Siklik adenozin monofosfat
cGMP	:Siklik guanozin monofosfat
CCL <sub>4</sub>	:Karbontetraklorürü
CHZ	:Klorzoxazone
CMZ	:Klormetiazolün
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
eNOS	:Endotelyal nitrik oksit sentetaz
G1	:Hücre döngüsü presentetik büyüme evresi-1
G2	:Hücre döngüsü premitotik büyüme evresi-2
GER	:Granüllü Endoplazmik Retikulum
GFAP	:Gliyal fibrilar asidik protein
GGT	:Glutamil transpeptidaz
GPx	:Glutatyon Peroksidaz
H&E	:Hematoksilin eozin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	:Hidrojen peroksit
HDL	:Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HGF	:Hepatosit Büyüme Faktörü
HIF	:Hipoksi-inducible faktör-1 alfa
HNE	:Hidroksinonenal

HOCl	:Hipokloröz asit
IgE	:İmmunoglobulin E
IL-1	:İnterlökin-1
IL-4	:İnterlökin-4
IL-6	:İnterlökin-6
iNOS	:Inducible nitrik oksit sentetaz
L-NAME	:Nw-Nitro-L-arjinin metil esteri
LDH	:Laktat Dehidrogenaz
LD	:Latel doz
LDL	:Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	:Malondialdehit
MDH	:Malat Dehidrogenaz
MEOS	:Mikrozomal Etanol Okside Edici Sistem
NAD	:Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	:Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
N-CAM	: Nöral hücre adezyon molekülü
NF-κB	:Nükleer faktör-kappa B
NO	:Nitrik oksit
NOS	:Nitrik oksit sentetaz
NSAID	:Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar
O <sub>2</sub> <sup>↑↓</sup>	:Singlet oksijen
PAS	:Periyodik Asit Schiff
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	:Ters Transkriptaz Polimeraz zincir reaksiyonu
S	:Hücre DNA sentez evresi
SOR	:Serbest Oksijen Radikalleri
SOD	:Superoksit Dismutaz
STAT <sub>3</sub>	:Signal Transducers Activators of Transcription
TNF-α	:Tümör nekroz faktör-alfa
TNFR-1	:Tümör nekroz faktör reseptörü-1
TNFR-2	:Tümör nekroz faktör reseptörü-2

TGF- $\beta$	:Transforme edici faktör-beta
TGF- $\alpha$	:Transforme edici faktör-alfa
XO	:Ksantin oksidaz
VLDL	:Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

## 8. RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1:** Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti. Vena sentralis ve çevresindeki hepatositler gözlenmektedir. H&E.....59
- Resim 2:** Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alan. H&E.....59
- Resim 3:** Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alanda mast hücresi gözlenmemektedir. Toluidin mavisi.....60
- Resim 4:** Sham grubuna ait karaciğer kesiti. Vena sentralis ve çevresindeki hepatositler gözlenmektedir. H&E.....60
- Resim 5:** Sham grubuna ait karaciğer kesitinde gözlenen portal alandaki (→) mast hücreleri. Toluidin mavisi.....61
- Resim 6:** Sham grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alandaki bağ dokusu elemanları. Masson trikrom.....61
- Resim 7:** Alkol grubuna ait karaciğer kesitinde portalalanda gözlenen (→) inflamatuvar hücreler ve hepatositlerdeki lipid vakuolleri. H&E.....62
- Resim 8:** Alkol grubuna ait karaciğer kesitinde vena sentralis çevresindeki hepatositlerde dejenerasyon. H&E.....62
- Resim 9:** Alkol grubuna ait karaciğer kesiti. Sinüzoidal dilatasyon ve inflamasyon. H&E.....63
- Resim 10:** Alkol grubuna ait karaciğer kesiti. Sinüzoidal dilatasyon. H&E.....63



- Resim 11:** Alkol grubuna ait karaciğer kesiti. Periportal alanlardaki yağlı dejenerasyon gözlenmektedir. H&E.....64
- Resim 12:** Alkol grubuna ait karaciğer kesiti. Periportal alanlardaki yağlı dejenerasyon. (→) Yağ damlacıkları. H&E.....64
- Resim 13:** Alkol grubuna ait karaciğer kesiti. Büyük büyütmede hepatosit içindeki (→)yağ damlacıkları. H&E.....65
- Resim 14:** Alkol grubuna ait karaciğer kesitinde portal alandaki (→) mast hücresi sayısının arttığı gözlenmektedir. Toluidin mavisi.....65
- Resim 15:** 50 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesitinde vena sentralis çevresindeki hasarlı hepatositler. H&E.....66
- Resim 16:** 50 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Vena sentralis çevresinde sinüzoidal dilatasyon ve inflamatuvar hücreler.H&E.....66
- Resim 17:** 50 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesitindeki portal alandaki inflamasyon . H&E.....67
- Resim 18:** 50 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alandaki (→) artan mast hücre sayısı gözlenmektedir. Toluidin mavisi.....67
- Resim 19:** 100 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Vena sentralis çevresinde hasar gözlenmektedir. H&E.....68
- Resim 20:** 100 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alandaki inflamasyon. H&E.....68

- Resim 21:** 100 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alandaki (→) degranüle mast hücreleri. Toluidin mavisi.....69
- Resim 22:** 200 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Vena sentralis ve çevresinde dejenere hepatositler görülmektedir. H&E.....69
- Resim 23:** 200 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Periportal alanda (→) sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon. H&E.....70
- Resim 24:** 200 mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alandaki (→) degranüle mast hücreleri. Toluidin mavisi.....70
- Resim 25:** Alkol grubuna karaciğer kesiti. Portal alanda bulunan bağ dokusu elemanları. Masson trikrom.....71
- Resim 26:** 50mg/kg karvakrol grubuna karaciğer kesiti. Portal alanda bulunan bağ dokusu elemanları. Masson trikrom.....71
- Resim 27:** 100mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alanda bulunan bağ dokusu elemanları. Masson trikrom.....72
- Resim 28:** 200mg/kg karvakrol grubuna ait karaciğer kesiti. Portal alanda bulunan bağ dokusu elemanları. Masson trikrom.....72

## 9. TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1:** Bilinen Farmakolojik (Eksojen) Antioksidanlar

**Tablo 2:** Bilinen Doğal (Endojen) Antioksidanlar

**Tablo 3:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının AST ve ALT Değerleri

**Tablo 4:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının AST /ALT Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırması.

**Tablo 5:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının Granüle ve Degranüle Mast Hücre Sayısı Değerleri.

**Tablo 6:** Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarının Granüle ve Degranüle Mast Hücre Sayısı Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırması.

## 10. KAYNAKLAR DİZİNİ

1. ALBANO E: Free Radical Mechanisms in Immune Reactions Associated with Alcoholic Liver Disease. *Free Radic Biol Med.*; 15;32(2):110-4, (2002).
2. ARUOMA O., KAUR H., HALLIWELL B.: Oxygen Free Radicals and Human Diseases.; *J R Soc Health.*; 111(5):172-7, (1991).
3. AŞICIOĞLU Y. T., Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi, Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul, (2005).
4. AUGUSTYNIÁK A, WASZKIEWÍCZ E., SKRZYDLEWSKA E.: Preventive Action of Green Tea from Changes in the Liver Antioxidant Abilities of Different Aged Rats Intoxicated with Ethanol; *Nutrition*; 21 925–932 (2005).
5. AZAZ AD, IRTEM HA, KURKCUOĞLU M, BASER KH.:Composition and the in vitro Antimicrobial Activities of the Essential Oils of some Thymus Species. *59(1-2):75-80*, (2004).
6. BANERJEE A., APTE U.M., R SMÍTH R., RAMAIAH S.K.: Higher Neutrophil Infiltration Mediated by Osteopontin is a likely Contributing Factor to the Increased Susceptibility of Females to Alcoholic Liver Disease *Journal of Pathology J Pathol* 2006; 208: 473–485, (2006).
7. BRZÓSKA M., JAKONIUK J.M., MARCINKIEWICZ B.P., SAWICKI B.:Liver and Kidney Function and Histology in Rats Exposed to Cadmium and Ethanol: *Alcohol & Alcoholism*; Vol. 38, No. 1, pp. 2–10, (2003).

8. BÜYÜKBAŞ S., İNAL A. Erkeklerde Aşırı Alkol Kullanımının C Reaktif Protein ve Alfa-1 Antitripsin Üzerine Olan Etkileri:, Van Tıp Dergisi; 14 (1):19-24, (2007).
9. CARBONE D.L., DOORN J.A., KIEBLER Z., ICKES B.R., PETERSEN D.R.: Modification of Heat Shock Protein 90 by 4-Hydroxynonenal in a Rat Model of Chronic Alcoholic Liver Disease The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics JPET 315:8–15, (2005).
10. CHOI J.S., YOON T.J., KANG K.R, LEE K.H., KIM W.H., SUH Y.H., SONG J., JUNG M.H.:Glycoprotein Isolated from Acanthopanax senticosus Protects against Hepatotoxicity Induced by Acute and Chronic Alcohol Treatment Biol. Pharm. Bull. 29(2) 306-314 (2006)
11. CLOT P., TABONE M., ARICO S., ALBANO E.: Monitoring Oxidative Damage in Patients with Liver Cirrhosis and Different Daily Alcohol Intake. Gut; 35(11):1637-43, (1994).
12. COCHRANE C.G.: Cellular Injury by Oxidants., Am J Med.; 30;91(3C):23-30, (1991).
13. CONTI M., MALANDRINO S., MAGISTRETTI M.J.: Protective Activity of Silipide on Liver Damage in Rodents Japan J.Pharmacol.60,315-321, (1992).
14. ÇELİK S., Proantosiyanidin ve Melatoninin Ateroskleroz Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kasım (2005).

15. DAİ L., GONG J.P., ZUO G.Q., WU C.X., SHİ Y.J., Lİ X.H., PENG Y., DENG W., Lİ S.W., LİU C.A.:Synthesis of Endotoxin Receptor CD14 Protein in Kupffer Cells and its Role in Alcohol Induced Liver Disease World J Gastroenterol 9(3):622-626, (2003).
16. DOLAR E.: Klinik Karaciğer Hastalıkları; Bölüm 4, s:133-146, 1.Baskı, Nobel&Güneş Tıp Kitabevi; (2002).
17. DORGAN JF., SOWELL A., SWANSON CA., POTİSCHMAN N., MİLLER R., SCHUSSLER N., STEPHENSON HE. JR. : Relationships of Serum Carotenoids, Retinol, Alpha-tocopherol and Selenium with Breast Cancer Risk: Results from a Prospective Study in Columbia, Missouri(United States). Cancer Causes Control.; 9(1):89-97, (1998).
18. EDİTORİAL, Mast cells in the liver: Clinical and Experimental Allergy, 1999, Volume 29, pages 155–158
19. ERBENGİ T. Histoloji Atlası ve Özel Histoloji, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul (1994)
20. ERKOÇAK A. Özel Histoloji,A.Ü. Tıp Fakültesi Basımevi-1982-Ankara
21. FİCKERT P., ZATLOUKAL K., RATON B.: Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease: Handbook of Alcoholism FL: CRC Press, 317-323, (2000).
22. GANONG W.F.: Review of Medical Physiology. Appleton and Loinge, (2002).
23. GARTNER, L.P., HIATT, J.L.: Color Textbook of Histology, First Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, (1997).

24. GOUILLON Z.Q., LUCAS D., LI J., HAGBJORK A.L., FRENCH B.A., FU P., FANG C., SUNDBERG M.I.: Inhibition of Ethanol-Induced Liver Disease in the Intragastric Feeding Rat Model by Chlormethiazole; P.S.E.B.M vol 224, (2000)
25. GUYTON A.C.: Textbook of Medical Physiology, Nobel Tıp Kitabevleri, (2001).
26. GÜÇLÜ C., Ratlarda Etandimetan Sülfonat (EDS) ile Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine E vitaminin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, (2002)
27. HU Y., MISHIN V., JOHANSSON T., VON BAHR C., CROSS A., RONIS MJJ., BADGER TM., INGELMAN-SUNDBERG M.: Chlormethiazole as an Efficient inhibitor of Cytochrome P450 2e1 Expression in the Rat Liver. J. Pharmacol. Exp. Ther. 269:1286-1291, (1994).
28. IKEJİMA K.N., ENOMOTO Y., İİMURO A., IKEJİMA D., FANG J., XU D. T., FORMAN D. A. BRENNER, THURMAN R.G.: Estrogen Increases Sensitivity of Hepatic Kupffer Cells to Endotoxin. Am. J. Physiol. 274 Gastrointest. Liver Physiol. G669-G676, (1998).
29. IKEJİMA K.N., ENOMOTO Y., İİMURO A., IKEJİMA D., FANG J., XU D. T., FORMAN D. A. BRENNER, THURMAN R.G.: Increased Susceptibility to Alcoholic Hepatitis in Female Rats is Associated with Elevated Free Radical Formation Hepatology; (1996).

30. İLTER T., TEKİN F., Alkol Metabolizması: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Güncel Gastroenteroloji; İzmir, (2005).
31. İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DERS KİTAPLARI:, Fiziyooloji Nobel Tıp Kitabevleri, (2001).
32. JAESCHKE H., GORES GJ., CEDERBAUM AI., HINSON JA., PESSAYRE D., LEMASTERS JJ.: Mechanisms of Hepatotoxicity. Toxicol Sci. 65(2):166-76, (2002).
33. JAESCHKE H., GORES GJ., CEDERBAUM AI., HINSON JA., PESSAYRE D., LEMASTERS JJ., WALLACH J.: Interpretation of Diagnostic Tests., 8:199-235, 7th edition, (2000).
34. JEONG D. H., LEE G. P., JEONGW.I., DO S.H., YANG H.J., YUAN D.Y., H.Y.PARK, KİM K.J., JEONG K.S. Alterations of Mast Cells and TGF-beta1 on the Silymarin Treatment for CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Fibrosis World J Gastroenterol 2005;11(8):1141-1148
35. JUNQUEIRA L.C., CARNEIRO J., KELLEY R.O.: Temel Histoloji; 8. Baskı, Barış Kitapçılık, (1998).
36. KARAÖZ E., Özel Histoloji, Süleyman demirel Üniversitesi, Yayın no: 29, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Isparta, (2002).
37. KAVİARASAN S., VİSWANATHAN P., ANURADHA C.V.: Fenugreek Seed (Trigonella foenum graecum) Polyphenols Inhibit Ethanol-Induced Collagen and Lipid Accumulation in Rat Liver Cell Biol Toxicol,(2007).



38. KONO H., RUSYN I., BRADFORD B.U., CONNOR H.D., MASON R.P, THURMAN R.G., Allopurinol Prevents Early Alcohol-Induced Liver Injury in Rats The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics JPET 293:296–303, (2000).
39. KWON H.J., KIM Y., CHOUNG S.Y.:Amelioration Effects of Traditional Chinese Medicine on Alcohol-Induced Fatty Liver World J Gastroenterol; 11(35):5512-5516, (2005).
40. KUMAR V., COTRAN R., ROBBIN S.: Basic Pathology, Sixty Edition, Saunders Company, 47-70, (2000).
41. LI J., FRENCH B., YONG WU, VENKATESH R., MONTGOMERY R., GORCE F.B., KITTO J., SAMUEL W.: Liver Hypoxia and Lack of Recovery after Reperfusion at High Blood Alcohol Levels in the Intragastric Feeding Model of Alcohol Liver Disease. FrenchExperimental and Molecular Pathology 77 184– 192, (2004).
42. LI L., CHEN S.H., ZHANG Y., YU C.H., LI S.D., LI Y.M .: Is the Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha mRNA Expression Activated by Ethanol-Induced Injury, the Mechanism Underlying Alcoholic Liver Disease? Hepatobiliary Pancreat Dis Int; 5: 560-563, (2006).
43. LI YM., CHEN SH., YU CH., ZHANG Y., XU GY.: Effect of Acute Alcoholism on Hepatic Enzymes and Oxidation/antioxidation in Rats. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 3(2):241-4, (2004).
44. LIEBER C. S.: Alcoholic Fatty Liver: Its Pathogenesis and Mechanism of Progression to Inflammation and Fibrosis. Alcohol; 34(1): 9-19, (2004).

45. LOEW M, BOEİNG H, STÜRMER T,: Relation among alcohol dehydrogenase 2 polymorphism, alcohol consumption, and levels of gamma glutamyltransferase, *Alcohol*; 29: 131-5 (2003).
46. LUA Z.M., TAO W.Y., ZOUB X.L., FUB H.Z., AO Z.H.:Protective Effects of Mycelia of *Antrodia Camphorata* and *Armillariella Tabescens* in Submerged Culture against Ethanol-Induced Hepatic Toxicity in Rats *Journal of Ethnopharmacology*, 110 160–164, (2007).
47. ŁUCZAJ W., SKRZYDLEWSKA E.: Antioxidant Properties of Black Tea in Alcohol Intoxication *Food and Chemical Toxicology* 42 2045–2051, (2004).
48. LUKIVSKAYA O, ZAVODNIK L, KNAS M, BUKO V.: Antioxidant Mechanism of Hepatoprotection by Ursodeoxycholic Acid in Experimental Alcoholic Steatohepatitis. *Adv Med Sci.*;51:54-9, (2006).
49. LUPER S.: A Review of Plants Used in the Treatment of Liver Disease: Part 1; *Altern. Med. Rev.*;3(6):410-421,(1998).
50. MASALKARA PD, ABHANGB SA: Oxidative Stress and Antioxidant Status in Patients with Alcoholic Liver Disease; *Clinica Chimica Acta*; 355: 61–65 (2005).
51. MATSUNAGA Y, TERADA T.: Mast Cell Subpopulations in Chronic Inflammatory Hepatobiliary Diseases. *Liver*; 20: 152–156. C, (2000)
52. MİRSAL H. , PEKTAŞ Ö., KALYONCU Ö. A., BEYAZYÜREK M., The Relationship Between Liver Function Tests And Sociodemographic-Clinical Characteristics Of Alcohol Dependent Patients; *Bagimlilik Dergisi*; 3(1): 27-30, (2002).

53. MİSKEVİCH DA, BORODİNSKIİ AN, PETUSHOK NE, KONOVALENKO OV, LELEVİCH VV: Interrupted Alcohol Treatment and Liver: Free Radical Homeostasis, Nitric Oxide, Adaptive Mechanisms, *Biomed Khim.*;52(5):489-95. (2006).
54. NANJI A., JOKELAINEN K., FOTOUHINIA M., RAHEMTULLA A., THOMAS P., TIPOE G.L., SU G.L., DANNENBERG A.J. Increased Severity of Alcoholic Liver Injury in Female Rats: Role of Oxidative Stress, Endotoxin and Chemokines: *Gastrointest Liver Physiol*; 281: G1348–G1356, (2002).
55. PAKER Ş., *Histoloji*, Uludağ Üniversitesi Basımevi,1.Baskı, Bursa, (1986).
56. PARK J.C., HUR J.M., PARK J.G., KİM S.C.,1, PARK J.R., CHOİ S.H., CHOİ J.W.: Effects of Methanol Extract of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* and its Principle, Hispidulin-7-O-Neohesperidoside on Hepatic Alcohol-metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation in Ethanol-treated Rats *Phytother. Res.* 18, 19–24 (2004).
57. PARK K.J., KIM H.Y., CHANG B.J., LEE H.: Ameliorative Effects of Soy 11S Protein on Liver Damage and Hyperlipidemia in Alcohol-Fed Rats; *Biol. Pharm. Bull.* 27(10) 1636-1641 (2004).
58. PORTER NA.: Chemistry of Lipid Peroxidation. *Methods, Enzymol.*;105:273-282, (1984).
59. PRAMYOTHİN P., CHİRDCHUPUNSARE H., RUNGSİPİPAT A., CHAİCHANTİPYUTH C.: Hepatoprotective Activity of *Thunbergia Laurifolia* linn Extract in Rats Treated with Ethanol: In vitro and in vivo studies *Journal of Ethnopharmacology*; 102 408–411, (2005).

60. PRAMYOTHIN P., SAMOSORN P., POUNGSHOMPOOB S., CHAICHANTIPYUTH C.: The Protective Effects of *Phyllanthus emblica* linn. Extract on Ethanol Induced Rat Hepatic Injury *Journal of Ethnopharmacology* 107 361–364, (2006).
61. RHOADES R., PFLANZER R.: *Human Physiology, Second edition, Pathophysiology, concepts of Altered Health States*, Carol Mattson Porth, Lippincott, fifth Edition. *Human Physiology from Cells to Systems*, Lauralee Sherwood, (1992).
62. SARAVANAN R., VISWANATHAN P., PUGALENDI K.V., Protective Effect of Ursolic Acid on Ethanol-Mediated Experimental Liver Damage in Rats *Life Sciences* 78 :713 – 718, (2006).
63. SASAKI K., WADA K., TANAKA Y., YOSHIMURA T., MATUOKA K., ANNO T., Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Leaves and Its Constituents Increase the Activities of Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Mouse Liver. *J Med Food* 8 (2) 184–189 (2005).
64. SENTHILKUMAR R., NALINI N.: Effect of Glycine on Tissue Fatty Acid Composition in an Experimental Model of Alcohol-Induced Hepatotoxicity: *Clinical and Experimental Pharmacology and physiology*; 31 456–461, (2004).
65. SOUTHORN PA., POWIS G.: Free Radicals in Medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions., *Mayo Clin Proc.*;63(4):381-9, (1988).
66. ŞENTÜRK H., Serbest Radikal Hasarının Hepato-Biliyer Sistem Hastalıklarındaki Rolü: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, *Kocatepe Tıp Dergisi* 5; Ek Sayı 1-8, (2004).

67. THURMAN R.G.: Mechanisms of Hepatic Toxicity II. Alcoholic Liver Injury Involves Activation of Kupffer Cells by Endotoxin: Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol; 275:605-611, (1998).
68. UYANOĞLU M.: Parsiyal Hepatektomi Yapılmış Sıçanlarda Karvakrolün Karaciğer Üzerine Etkileri, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Doktora tezi, (2006).
69. UZUN H., ŞİMSEK G., AYDİN S., UNAL E., KARTER Y., YELMEN N.K., VEHİD S., CURGUNLU A., KAYA S.: Potential Effects of L-NAME on Alcohol-Induced Oxidative Stress World J Gastroenterol;11(4):600-604,(2005)
70. WALL C.A., THURMAN R.G.: Female Rats Exhibit Greater Susceptibility to Early Alcohol-Induced Injury than Males: Am. J. Physiol., Gastrointest. Liver Physiol.; G1186–G1194, (1997).
71. WALLACH J.: Interpretation of Diagnostic Tests: 7th edition, Lippincott Williams Wilkins, 8:199-235 (2000).
72. [www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm](http://www.geocities.com/pakizedemirkalem/shac3c25.htm)
73. VANDER AJ, SHERMAN JH, LUCIANO DS,: İnsan Fizyolojisi Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı, 6.baskı, (1997).
74. YIN M., IKEJIMA K., ARTEEL G.E., SEABRA V., BRADFORD B.U., KONO H., RUSYN I., THURMAN R.G.:Glycine Accelerates Recovery from Alcohol-Induced Liver Injury Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics; vol. 286, No. 2JPET 286:1014–1019, (1998).

75. YOU M., CRABB DW. : Recent Advances in Alcoholic Liver Disease II. Minireview: Molecular Mechanisms of Alcoholic Fatty Liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 287(1):G1-6, (2004).
76. YUAN G., GONG Z., LI J., LI X.: Ginkgo biloba Extract Protects against Alcohol-induced Liver Injury in Rats *Phytother. Res.* 21, 234–238, (2007).
77. YUAN G.J, ZHOU X.R.,GONG Z.J., ZHANG P, SUN X.M., ZHENG S.H., Expression and Activity of Inducible Nitric Oxide Synthase and Endothelial Nitric Oxide Synthase Correlate with Ethanol Induced Liver Injury: *World J Gastroenterol* 12(15):2375-2381, (2006).
78. ZEYTİNOĞLU H., İNCESU Z., BASER KH.: Inhibition of DNA synthesis by Carvacrol in Mouse Myoblast Cells Bearing a Human N-RAS Oncogene. *Phytomedicine*; May;10(4):292-9 (2003).

## ÖZGEÇMİŞ

**Doğum tarihi ve yeri:** 29.04.1982/ Ankara

**Eğitim** : Embriyoji Sertifikası (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezi).....2006

Yüksek Lisans Eğitimi (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı).....2005-

Lisans Eğitimi (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü).....2000-2004

Staj (GATA Tüp Bebek Merkezi).....2003

Lise Öğrenimi (Ömer Seyfettin Lisesi).....1996-1999

İlk ve orta öğrenimi (Özel Arı Lisesi).....1988-1996