

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM
DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**KOLEDOK LİGASYONUNUN NEDEN OLDUĞU
KARACİĞER HASARINA KARŞI
N-ASETİL SİSTEİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Referans no: 399557

Uğur DİLEKÇİ

EDİRNE – 2011

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM
DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**KOLEDOK LİGASYONUNUN NEDEN OLDUĞU
KARACİĞER HASARINA KARŞI
N-ASETİL SİSTEİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Uğur DİLEKÇİ

Destekleyen Kurum: TÜBAP 2010-131

Tez No :

EDİRNE – 2011

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Mehmet KANTER danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Uğur DİLEKÇİ tarafından tez başlığı “Koledok Ligasyonunun Neden Olduğu Karaciğer Hasarına Karşı N-Asetil Sisteinin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **12/05/2011** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

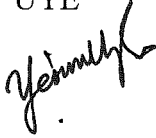


Prof. Dr. Mehmet KANTER

JÜRİ BAŞKANI

Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ

ÜYE



Yrd. Doç. Dr. Selman ÇIKMAZ

ÜYE



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Eđitimim süresince, yetiŐmemde büyük emeği olan ve benden hiçbir fedakârlığı esirgemeyen aileme minnettarım. Lisansüstü eğitimim boyunca beni yetiŐtiren, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, çalıŐmam sırasında bilimsel katkıları ve yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER'e, araŐtırmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN ve Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a ve çalıŐmam boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Öğr. Gör. Dr. Cevat AKTAŐ, AraŐ. Gör. Dr. Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŐIR, AraŐ. Gör. Dr. Melike SAPMAZ METİN, Mustafa ERBOĐA, Yeliz BOZDEMİR DÖNMEZ, Duygu UZUN, Őamil ÖZTÜRK, Zeynep FİDANOL, İlhan ÖZDEMİR, Ahmet HATIPOĐLU ve Soner UYSAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
KARACİĞER	3
SAFRA KESESİ	10
TIKANMA SARILIĞI	13
KARACİĞER HASARI	13
ALFA DÜZ KAS AKTİN (α-SMA)	17
NİTRİK OKSİT	17
SİTOKERATİN	19
N-ASETİL SİSTEİN (NAS)	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
BULGULAR	27
TARTIŞMA	40
SONUÇLAR	44
ÖZET	45
SUMMARY	47
KAYNAKLAR	49
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ	58
ÖZGEÇMİŞ	60
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
α-SMA	: Alfa düz kas aktin
ECM	: Ekstrasellüler matriks
HF	: Hepatik fibrozis
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HSH	: Hepatik stellat hücre
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
NAS	: N-asetil sistein
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PBS	: Fosfat Buffer Solüsyonu
μm	: Mikrometre

GİRİŞ VE AMAÇ

Sıçanlarda koledok ligasyonu ile indüklenen karaciğer fibrozu, insandaki primer veya sekonder olarak gelişen karaciğer fibrozuna uygunluğu ve hızlı gelişmesi sebebiyle son zamanlardaki bilimsel çalışmalarda ilgi duyulan bir fibroz modeli olmaktadır. Koledok ligasyonu sıçanlara uygulandığında karaciğerde başta kollajen olmak üzere hücre dışı matriks proteinleri oluşturduğu ve bu modelin sıçanlarda sekonder olarak karaciğer fibrozu gelişimi için uygun bir model olduğu bilinmektedir (1).

Koledok ligasyonu safra akımının engellenmesi ve safranın karaciğerde birikimi ile karakterizedir. Hepatosit hasarına yol açan kolestaz safra asitlerinin birikimi sonucu oluşur. Sitotoksik safra asitleri karaciğerde nekroz ve fibroza yol açmaktadır (2). Koledok ligasyonu sonucu safra kanalları tıkanır. Tıkanan safra kanallarından, safranın geriye doğru birikmesi ile safra ve safra ile atılan toksik maddeler; başta karaciğer olmak üzere diğer organlarda da hasar verici etkilere neden olurlar (3). Karaciğerde kolestaz sonucu; hepatositlerde dejenerasyon, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, kanama pıhtılaşma sürelerinde uzama, kanama diyatezi riskinin artması, bilirubin yüksekliğine bağlı mental değişiklikler meydana gelir. Ekstrahepatik biliyer tıkanıklıkta biliyer kanal epitelyal hücre hiperplazisi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve periportal fibrozis stereotipik karaciğer zararları oluşur (2).

Karaciğer sirozu, hepatik fibrozis (HF) den kaynaklanır. HF; karaciğer yıldız hücre aktivasyonu ile karakterize edilen ve kronik karaciğer hastalığına bağlı oluşan bir yara iyileşme sürecidir ve hücre dışı matriks bileşenlerinin aşırı üretimi anlamına gelir (4). Sirozun başlangıç şekli olan HF, kronik karaciğer hastalarında oluşan ciddi karaciğer zedelenmesinin

bir sonucudur ve özellikle Disse aralığında kollajen ve ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerinin birikimi ile karakterizedir (5).

Karaciğer fibrozunun etiopatogenezinde; serbest radikallerce oluşturulan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış etkili bulunmuştur (1,5). Oksidatif stres ve lipid peroksidasyon ürünleri hepatik stellat hücrelerini (HSH) uyararak kollajen sentezini artırabilmektedir (6).

Hepatik fibrozis tekrarlayan veya kronik karaciğer hasarına sekonder gelişen ve karaciğerde progresif olarak bağ dokusu birikimiyle sonuçlanan karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Bu süreçte gözlenen olaylar zinciri altta yatan etiyojoloji, ECM aşırı yapımına karışan hücreler, bağ dokusunun dejenerasyonu ile ilişkili olarak gelişir ve bir grup hastada siroz ile sonuçlanır (7). İlerleyici fibrozis siroza yol açarken, başlangıç dönemindeki fibrozisin reversibl olduğu iddia edilmiştir. Erken dönem sirozun da reversibl olabileceği yönünde ciddi deliller bulunmaktadır. Fakat fibrozisin hangi döneminde reversibl hangi döneminde irreversibl olduğu konusu henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır (8).

Hepatik fibrozis tedavisi için, ilaç geliştirme ve test etme alanında, yakın gelecekte önemli ilerlemelere neden olacak, çok önemli çalışmalar mevcuttur. Antifibrotik tedavi, şu ana kadar yapılan ilaç tedavileri henüz onaylanmamış da olsa, gelişmekte olan bir realitedir. HSH aktivasyonuna yönelik çalışmalar, tedavide asıl hedefi oluşturmaktadır. Bu amaçla; A) karaciğer hasarını önlemek için primer hastalığın tedavisi, B) HSH aktivasyonunu stimüle etmekten sakınmak için, inflamasyonu veya konakçının cevabını azaltmak, C) HSH aktivasyonunda downregülasyon sağlamak, D) proliferatif, fibrojenik, kontraktıl ve/veya HSH'lerin proinflamatuvar cevabını nötralize etmek, E) HSH apoptozisini stimüle etmek, F) skar matrix yıkımını artırmak, tedavinin esasını oluşturmaktadır (9).

N-asetil sistein (NAS); antioksidan, mukolitik, vazodilatör etkileri olan bir thiol molekül olup L-sistein ve indirgenmiş glutatyon prekürsörüdür. NAS hücrelerde OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizlemekte ayrıca lipid peroksidasyonunu da azaltabilmektedir (10).

Çalışmamızdaki amaç, sıçanlarda koledok ligasyonu sonucu indüklenen karaciğer fibroz modelinde NAS'ın koruyucu etkilerinin olup olmadığını, ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal yöntemler ile incelemektir.

GENEL BİLGİLER

KARACİĞER

Anatomi

Karaciğer, vücudumuzun en büyük bezi ve deriden sonra gelen en büyük organıdır (11). Ağırlığı 1200 –1500 gr civarındadır (12). Genişliği 14 cm, yüksekliği ise 16 cm kadardır. Karaciğerin diyaframla komşu olan yüzü konveks (facies diaphragmatica), iç organlarla komşu olan yüzü ise konkavdır (facies viseralis). Karaciğerin iç organlarla komşu olan yüzünde üç oluk bulunur. Enine durumda olan ve iki yan oluğu birbiriyle birleştiren orta oluğa karaciğer kapısı (porta hepatis) adı verilir. Buradan, karaciğere giren çıkan kan damarları, safra yolları, sinirler ve lenf damarları geçer. Bu üç oluk karaciğeri dört loba ayırır. Sağ oluğun sağında bulunan kısma sağ lob, sol oluğun solundakine sol lob, porta hepatisin önündeki parçaya lobus quadratus (kuadrat lob), arkasındakine lobus caudatus (kaudat lob) denir. Lobların en geniş ve kalın olanı sağ lobdur (13).

Karaciğer hilumda kalınlaşan, elastik ve kollajen liflerden oluşan Glisson kapsülü adı verilen özel bir kapsül ile örtülüdür (14). Karaciğer intraperitoneal bir organ olup diyaframa komşu olan area nuda kısmı hariç neredeyse tamamı periton ile kaplıdır (15). Diyafram aracılığı ile akciğer, plevra, fibröz perikardiyum ve kalbin ventriküler bölümünden ayrılır (16,17).

Karaciğer vücutta dolaşan toplam kanın %15'ini içerir (17). Karaciğer bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek üzere vücudun dolaşım sistemi içinde oluşmuştur. Karaciğer portal ven ve hepatik arter olmak üzere iki kan damarından beslenir (18). Dakikada

karaciğere gelen 1500 ml kanın % 25' i hepatik artere % 75' i ise portal vene aittir (13,14). Hepatik arter karaciğer dokusunun ihtiyaçları doğrultusunda birçok düzenleyici ajana benzer cevap verir (18). Karaciğer kanlanmasının %20'sini oksijenlenmenin ise %50'sini sağlar (19). Portal ven, içinde kapak bulunmayan bir damardır. Mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere taşır. Vena mezenterika süperior ile vena lienalisin birleşmesinden oluşur (13,14). Portal ven, gastrointestinal emilim sonrası emilen sıvıları karaciğer kapillerine doğru taşır (18). Portal ven akımı, karaciğer kanlanmasının %80'ini, oksijenlenmesinin ise %50'sini sağlar (19).

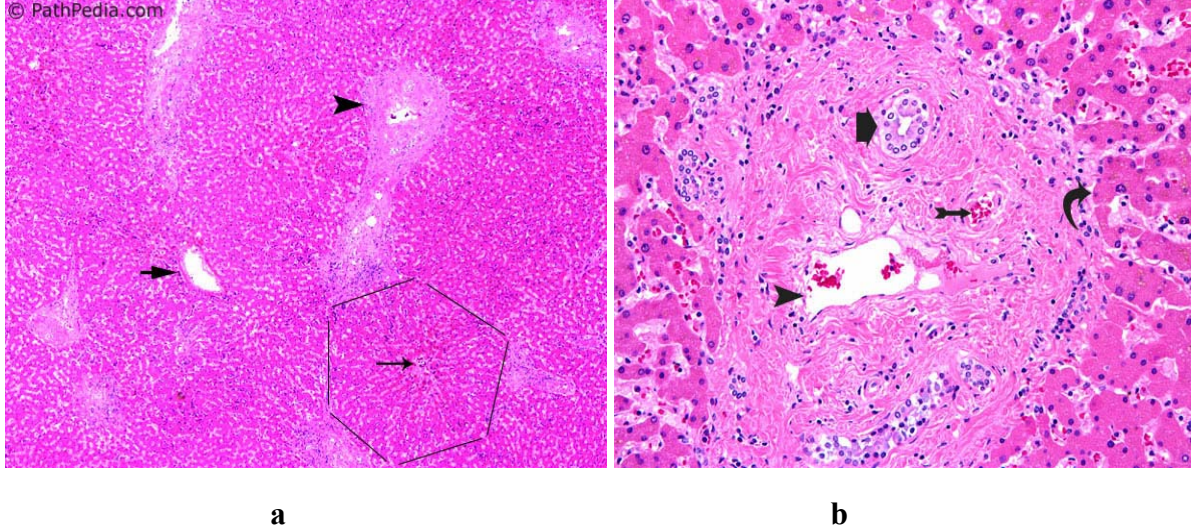
Karaciğer, ductus thoracicus'a gelen lenf sıvısının %25-%50'sini üretir. Karaciğerin lenf damarları derin ve yüzeysel olmak üzere iki grupta toplanır. Derin olanları karaciğer damarları etrafındaki bağ dokusu içerisinde, yüzeysel olanları ise Glisson kapsülünde bulunur (20). Hilumda organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar (21). Karaciğerin innervasyonu medulla spinalis'in T9 ve L1 segmentlerinden gelen sempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur (13,14).

Histoloji

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi, karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimlerdir. Bu lobüller birkaç mm uzunluğunda 0,8-2mm çapında ve silindirik yapıda 50.000-100.000 adet bulunan poligonal doku kitleleridir. Karaciğer lobülleri çoğu bölümlerinde birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırlarını belirlemek oldukça güçtür (21). Her lobülün merkezinde karaciğerden kalbe kan taşıyan santral ven yer alır (Şekil 1a). Bu santral venler giderek genişleyen sublobuler venlerle infrahepatik venlere drene olur ve en sonunda vena cava inferiora katılan vena hepatikayı oluştururlar. Periferde birçok lobül arasında yer alan portal traktus veya portal triad adıyla bilinen bir bağ dokusu topluluğu vardır. Bu bağ doku topluluğu içinde portal ven, hepatik arter ve safra kanalikülleri yer alır (Şekil 1b). Bu üçlü yapıdan venül, genellikle en büyük olanıdır, duvarı ince ve lümeni düzensizdir. Arter ise, venüle göre daha küçük, daha kalın duvarlı ve daha düzgün lümenlidir. Safra kanalının ise belirgin bir tek katlı kübik epiteli vardır (21).

Portal ven ve hepatik arterin uç dalları sinüzoidlerle temas halindedir. Portal ven ve hepatik arterin dalları bir seri bölünmeden sonra daha küçük dallara ayrılarak doğrudan sinüzoidlere dökülür. Safra yolları sistemi, hücre zarının bir bölümünü oluşturan ince safra kanalikülleri olarak başlar. Hepatositler tarafından oluşturulan safra bu ince kanaliküllere

drene olur. Safra kanalikleri yoluyla intralobüler duktuslara ve daha sonra da portal traktus içindeki büyük safra kanallarına dökülür (21,22).

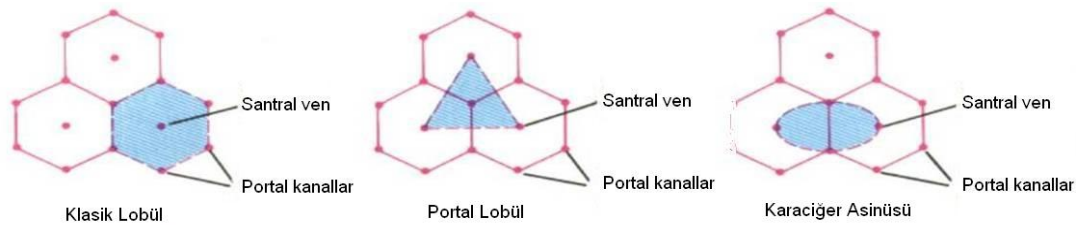


Şekil 1. a) Karaciğerin histolojik yapısı. Okbaşı; portal triad, ince ok; santral ven (karaciğerin altıgen lobüllerinin merkezinde), ok; interlobüler portal ven b) Portal triad yapısı. Okbaşı; portal ven, kuyruklu ok; hepatik arter, kalın ok; safra kanalı, kavisli ok; portal sistem sınırlayıcı plaka (23).

Karaciğer lobülleri; hepatik venlere oradan da vena kavaya boşalan bir santral ven etrafındaki yapılardan oluşur. Venöz sinüzoidlerin etrafında tipik endotel hücreleri ve büyük Kupffer hücreleri bulunmaktadır. Venöz sinüzoidleri çeviren endotel hücrelerinde yaklaşık 1 mikron çapında çok geniş porlar bulunur. Sinüzoidlerin endotel hücreleriyle hepatositler arasındaki çok dar olan doku aralığına Disse aralığı denir. Disse aralığında retiküler liflerle hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Endotelin büyük porları nedeni ile plazmadaki maddeler Disse aralığına geçebilirler. Karaciğer sinüzoidlerinin iç yüzlerinde, kan akımına doğru uzanan pek çok Kupffer hücresi vardır. Bu hücreler çok yüksek fagositik aktivite göstererek portal venöz kandaki bakterilerin % 99'unu, hatta fazlasını kan, karaciğer sinüzoidlerinden ayrılmadan tutarlar. Karaciğerden bir dakikada geçen kan akımı miktarı ortalama 1500 ml kadardır. Bir dakikada bu kadar fazla miktardaki kanın geçiş yeri olan karaciğerin, makrofaj sistemine katkısı yadsınamaz ölçüdedir (22,24,25).

Karaciğer parankiminin organizasyonu ile ilgili kabul edilen üç önemli model vardır (Şekil 2) (26). Bunlar klasik karaciğer lobül kavramı, portal lobül kavramı ve karaciğer asinusu kavramıdır. Klasik karaciğer lobül kavramı; ortada santral ven ve santral venden

ışınal biçimde perifere uzanan karaciğer hücre kordonları ve bu kordonların arasında yer alan sinüzoidlerden oluşur. Portal lobül kavramı; hepatositler tarafından salgılanan safranin salgılanışı göz önünde bulundurularak tasarlanmıştır. 3 klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesiyle oluşan üçgenden oluşur. Bu modele göre, bu üç lobülde oluşan safra ortada yer alan portal alandaki safra kanalına ortak olarak akmaktadır. Son model ise karaciğer asinüsü modelidir. Bu modele göre, bir lobüldeki hepatositler, dağıtıcı damarlardan aldıkları farklı içerik ve miktardaki kanlanmaya göre 3 zona ayrılırlar. Periferik zon (Zon I); kan damarları lobülün periferinden merkezine doğru ilerlediğinden, oksijenden ve besin maddelerinden en zengin kanla karşılaşan hücrelerden oluşur. Fonksiyonel olarak lobüldeki en aktif hücrelerdir. Ara zon (Zon II), orta bölgedeki hücrelerdir. Orta düzeyde aktivite gösterirler. Santral zon (Zon III), santral veni çevreleyen en içte kalan hücre gruplarından oluşur. Periferik zondaki hücelere göre daha az aktiftirler (27-29).



Şekil 2. Karaciğer lobülünün histolojik sınıflandırılması (30)

Karaciğerde beş tip hücre bulunmaktadır. Bunlar; hepatositler, kupffer hücreleri, endotel hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitelyum hücreleridir (31).

Hepatositler: Karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık %80'ini oluştururlar. Karaciğerin, endokrin ve ekzokrin görev yapan fonksiyonel hücreleridir. Ekzokrin fonksiyonu; safra salgılamasıdır. Endokrin fonksiyonu; albumin, globulin, fibrinojen, lipoprotein, protrombin gibi proteinlerin ve glikozun sentezlenip sinüzoidlerine salgılanmasıdır. Hepatositler, ortalama 20-30 mikrometre çapındadırlar ve vena sentralisleri lobülün periferine doğru radyer tarzda uzanan tek ya da iki hücre kalınlığında hücre kordonları oluştururlar. Bu kordonlar, lobül içerisinde birbirleriyle anastomozlaşmıştır. Bu kordonların arasında kalan boşluklarda sinüzoidal kapillerler bulunmaktadır (18,26).

Hepatositler ışık mikroskopik olarak poligonal veya kübik şekilli olup, nukleusları yuvarlak ve merkezdedir. Nukleusları heterokromatin yapıda olup bir veya iki nukleolus

içerir. Sitoplazmaları asidofiliktir. Organel bakımından zengindirler. Hepatositlerde bol miktarda endoplazmik retikulum bulunur. Ayrıca karaciğer metabolik aktivitesi yoğun bir organ olduğundan, peroksisom, lizozom, mitokondri gibi organeller yoğun olarak bulunur.

Hepatositlerin bazolateral ve apikal olmak üzere iki yüzü vardır. Bazolateral yüz, hepatositlerin sinüzoidlere ve Disse aralığına bakan yüzünü oluşturur. Bu bölgede çok sayıda düzensiz şekil ve büyüklükte mikrovillus bulunur. Bu yapılar hücrenin sekresyon ve absorpsiyon alanını yaklaşık 6 kez artırır. Apikal yüz ise; safranin ilk salgılandığı bölümün duvarlarını oluşturur. Komşu hücre ile sıkı temasta olan bu yüzde, özellikle safra kanalikülünün hemen altında ve üstünde kalan bölgelerde, hücreler arasında zonula okludens tipi sıkı bağlantı birimleri bulunur. Böylece safranin bu kanalikül dışına sızması önlenmiş olur ve bir tür kan-safra bariyeri oluşturur. Yani bu bölge safranin geri kaçışını önler (21,32,33).

Kupffer hücreleri: Perisinüzoidal alanda yer alan lokal makrofajlardır (34). Bu hücreler kandaki monositlerden köken alır ve mononükleer fagositer sistemin üyesidir. Sitoplazmik uzantılar içeren, fagositoz yeteniğindeki hücrelerdir (27). Bu hücreler yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek, immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamak ve kalın bağırsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmakla görevlidir (21). Ayrıca hücrel immuniteyi de aktive etmektedir (18,31).

Endotel hücreleri: Sinüzoidlerin duvarlarında yer alan geçirgen yani madde geçişine izin veren hücrelerdir. Karaciğer oldukça vasküler bir organ olduğundan endotel hücrelerinden zengindir. Bu hücreler barsaklardan gelen makromoleküllerin hepatositlere geçişine olanak sağlar (31,32).

Stellat hücreler: Disse aralığında (perisinüzoidal aralıkta) lokalize olan, A vitamini metabolizması ve depolanmasında görev alan yıldızlı hücrelerdir. İto hücreleri veya yağ hücreleri olarak da adlandırılırlar. Patolojik durumlarda bu hücreler kollajen üreten miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (26,27). Sitokin sekresyonu, retinoid metabolizması ve kan akımı düzenlenmesi gibi fonksiyonlar gösterirler (34).

Safra kanalikülleri: Karaciğerin ekzokrin salgısı olan safranin hepatositler arası iletildiği kanalcıklardır. Bu kanalcıklar, karaciğer lobülünün plakları boyunca birleşerek kompleks bir ağ oluşturur ve portal alanda sonlanır. Bu nedenle safra, kan akışının tersi

yönünde, yani klasik lobül merkezinden periferine doğru akar. Kanalcıkların duvarlarını oluşturan karaciğer hücreleri arasında safra sızıntısını önleyen zonula adherens tipte sıkı bağlantı kompleksleri bulunur. Safra, safra kanalcıklarından lob içi safra kanalcıklarına oradanda lobül dışındaki Hering kanalını geçerek portal alandaki safra kanallarına veya kanalcıklarına boşalır. Safra kanalcıkları karaciğer içi safra kanallarında birleşirler. Hepatositler tarafından çevrili olan safra kanalcıklarını, safra kanalı epitelyum hücreleri ile çevrili kanallara birleştiren yapılara Herring kanalı denilmektedir ve bu bölgede hepatosit kök hücrelerine ev sahipliği yaptığı için bu kanal stratejik bir öneme sahiptir. Hering kanalı tek katlı yassı epitelden tek katlı kübik epitele değişen bir epitel ile döşelidir. Safra kanalı ise tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Bu kanallar giderek genişleyip, birleşerek sağ ve sol hepatik kanalları oluşturur. Daha sonra bu kanallar karaciğeri terk ederek duodenum lümenine açılır (26,27,31).

Embriyoloji

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları, dördüncü hafta başında ön bağırsağın kaudalinden ventrale doğru hepatik divertikül adı verilen bir çıkıntı olarak gelişir. Hepatik divertikül, gelişmekte olan kalp ve mide arasındaki splanknik bir mezoderm kitlesi olan septum transversum doğru uzanır. Septum transversum, diyaframın bir kısmını ve bu bölgedeki ventral mezogastriyumu oluşturur. Hepatik divertikül, ventral mezogastriyumun yaprakları arasında büyürken, iki kısma ayrılır; büyük kranial parça ve küçük kaudal parça (35,36).

Büyük kranial parça; karaciğer taslağını oluşturur. Çoğalan endodermal hücreler, ağ şeklinde yayılan hepatik kordonları ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitel hücrelerini yaparlar. Karaciğerin fibröz dokusu, hematopoietik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversum mezenşiminden köken alır (36,37).

Altıncı haftada başlayan hematopoiezis, karaciğere parlak, kırmızı bir renk verir. Gebeliğin son iki ayında hematopoetik aktivite yavaş yavaş azalır ve artık asıl hematopoetik aktiviteyi kemik iliği yapmaya başlar. Onikinci haftada, karaciğer hücreleri safra yapmaya başlarlar (38).

Küçük kaudal parça; safra kesesini oluşturur. Hepatik divertikülün sap kısmı da sistik kanalı oluşturur. Başlangıçta, ekstrahepatik safra yolları epitel hücreleriyle tıkalıdır ancak daha sonra bu hücrelerin dejenerasyonu sonucu vakuoller oluşur ve kanalize olur. Hepatik kanal ve sistik kanalı duodenuma bağlayan kordondan koledok kanalı gelişir. Bu kanal

başlangıçta duedonum halkasının ventral yüzüne bağlıdır, ancak daha sonra duedonumun gelişip rotasyon yapmasıyla, duedenumun dorsal yüzüne taşınmış olur. Safranin duedenuma gelişini onüçüncü haftadan sonra olur ve mekonyum denilen barsak içeriğine koyu yeşil renk verir (35,39).

Fizyoloji

Karaciğer, bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek ve depolamak üzere vücudun dolaşım sistemi içinde oluşmuş bir organdır (18). Karaciğerin birçok metabolik ve yaşamsal fonksiyonu vardır. Bunlar; sindirilen proteinlerin, karbonhidratların ve lipidlerin metabolize edilmesi.

Karbonhidrat metabolizmasında; glikoz, fruktoz ve galaktozu glikojene çevirerek depo eder (glikogenez). Lipitlerin gliserol parçaları ve aminoasitlerden glikoz yapar (glikoneogenez). Protein metabolizmasında; aminoasitlerin deaminasyonu, amonyağın uzaklaştırılması, esansiyel olmayan aminoasitlerin sentezi, albumin ve globulin gibi plazma proteinlerinin sentezi, pıhtılaşma faktörlerinden fibrinojen, protrombin, faktör V, faktör VII, faktör IX ve faktör X'un sentezini sağlar. Lipit metabolizmasında; yağ asitlerinin beta oksidasyonu, safra tuzu yapımı, fosfolipit sentezi, kolesterol yapımı ve diğer steroidlere dönüşümü, östrojenlerin metabolize ve inaktive edilmesi ve testosteronun parçalanmasını sağlar (3,17).

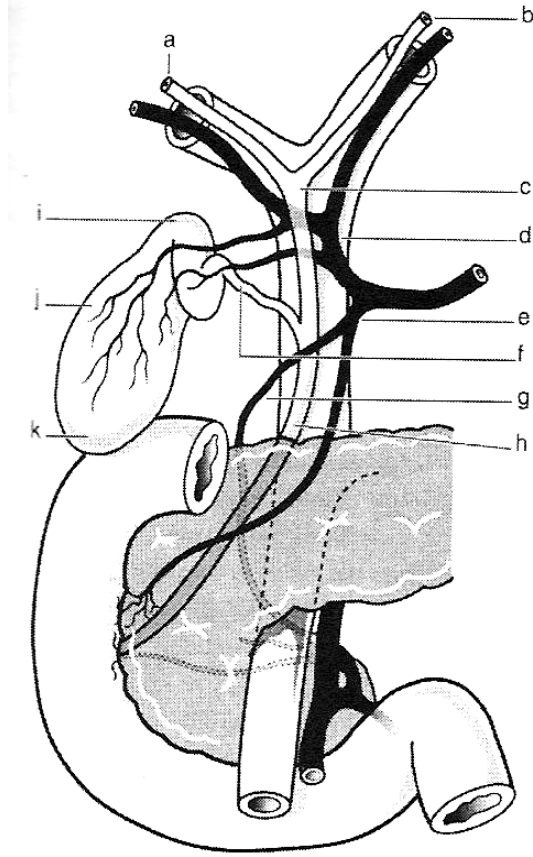
Doğrudan kana emilen vitaminlerin işlenmesi, A, D, B12 gibi vitaminlerin ve demirin depolanmasını sağlar. İlaçların, hormonların, endojen atık ürünlerin, zararlı ksenobiyotiklerin ve diğer zararlı ajanların detoksifiye edilip atılmasını sağlar. Karaciğerin diğer işlevleri; safranin sentezlenip salgılanması, kanın depo edilmesi ve filtrasyonu, hematopoez, toksinler ve steroidlerin etkisizleştirilmesi, bağışıklık, bilirübinin metabolize edilmesi ve atılımı şeklinde sıralanabilir (17,40).

SAFRA KESESİ

Anatomi ve Histoloji

Safra yolları karaciğer gibi ön barsağın ventral yüzündeki divertikülden oluşmuştur. Bu divertikülün kraniyal bölümünden karaciğer, kaudal bölümünden pankreas ve ara

bölümünden de safra kesesi meydana gelir. Ekstrahepatik safra yolları; sağ ve sol hepatik kanallar, ana hepatik kanal, safra kesesi, sistik kanal ve koledok kanalını içerir (Şekil 3) (41).



Şekil 3. Safra yolları anatomisi, a) sağ hepatik kanal, b) sol hepatik kanal, c) ana hepatik kanal, d) hepatik arter, e,g) gastroduodenal arter, f) sistik kanal, h) koledok kanalı, i) safra kesesi boynu, j) safra kesesi korpusu, k) safra kesesi fundusu (42)

Safra kesesi (vesica biliaris), karaciğerin visseral yüzünde sağ ve sol lobları ayıran olukta yerleşmiş, dört-ondört cm uzunluğunda (ortalama 8,5 cm) ve 3 cm genişliğinde, armut şekline benzeyen bir organdır. Ortalama kapasitesi 30-50 ml olan safra kesesi safranın konsantre hale getirilip depolandığı organdır. Fundus, korpus ve boyun olmak üzere üç anatomik bölümü vardır (25,41).

Hepatositler tarafından üretilen safra; hepatositlerin aralarında yerleşik, duvar yapıları olmayan, hücrelerarası boşluklar olan safra kanalcıklarına (canaliculus biliferi) geçerler. Bu kanalcıklar lobüllerin periferinde birleşerek intralobüler kanalcıkları (Hering kanalları), intralobüler kanalcıklarda birleşerek fonksiyonel olarak karaciğerin sağ ve sol loblarını drene

eden sağ ve sol hepatik kanalları oluşturur. Bu iki kanal, porta hepatis'te birleşerek yaklaşık 3 cm uzunluğundaki ductus hepaticus communis'i (ana hepatik kanalı) yapar. Sistik kanal safra kesesini boşaltır. Hepatik kanal ile sistik kanal birleşerek ortak safra kanalı olan koledok kanalını (ductus choledochus, ductus biliaris) oluştururlar. Koledok kanalı duodenuma duodenal papilladan girer ve bu giriş etrafında oddi sfinkteri ile çevrilidir. Koledok kanalı duodenuma girmeden ana pankreatik kanalla (Wirsung kanalı) birleşerek m. sphincer ampulla'yı (oddi sfinkteri) oluşturur. Ampullanın distal ucu, safra kanallarının en dar yeri olup, safra taşı tikanıklarının en sık olduğu bölgedir. Bununla beraber ductus cysticus veya ductus hepaticus'ada yerleşebilir ve epigastrik bölgede safra kiliğine neden olur. Safra keseden boşalamazsa kana karışarak tıkanma sarılığına neden olur (15,35,40,41).

Safra kesesi, sağ hepatik arterden ayrılan sistik arterle beslenir. Ekstrahepatik safra yollarının venöz drenajı portal vene olmaktadır. Safra yolları sisteminin innervasyonu karaciğer gibidir. Safra kesesi ve salgı kanallarının duyusunu sağ nervus phrenicus alır. Bu sinir lifleri plexus coeliacus vasıtasıyla organa ulaşır. Parasempatik uyarı safra kesesinin kasılmasına (oddi sfinkterinde gevşemeye), sempatik uyarı ise safra kesesinin gevşemesine (oddi sfinkterinde kasılmaya) sebep olur (14,43). Safra kesesinin boşalma mekanizması sinirsel kontrolden çok hormonaldir. Ağıza yiyecek alındığında ve yağ içeren besinlerin duodenuma teması ile kolesistokinin salgılanır. Safra kesesinde biriken safra basıncı 100 mm/H₂O'yu aştığı zaman safra kesesindeki düz kasların kasılmasına neden olur, oddi sfinkteri gevşer ve safra duodenuma akar (31,44).

Safra kesesinin duvarı histolojik olarak şu tabakalardan oluşur: tek katlı prizmatik epitel ve lamina propriadan oluşan mukoza, düz kas tabakası (muskuler tabaka), perimüsküler bağ dokusu tabakası ve seröz membran. Mukoza; özellikle boş kesede belirgin olan çok sayıda kıvrımlar içerir. Epitel ve lamina propriadan oluşur. Epitel, tek katlı uzun prizmatik hücrelerden oluşur. Hücrelerin apikal kısmında düzensiz mikrovilluslar bulunur ve mikrovillusların üzeri glikokaliks örtüsü ile kaplıdır. Epitel hücreleri mitokondriden zengindir. Bu hücrelerin tümü az miktarda mukus salgılama yeteneğine sahiptir. Lamina propria; gevşek bağ dokusu karakterindedir ve kan damarlarından zengindir. Kese kanalı yakınında bulunan tübüloasiner bezler safrada bulunan mukusun büyük bölümünün üretiminden sorumludur. Mukus bezleri sadece safra kesesinin boyun kısmında bulunur. Bu tabakada muskularis mukoza bulunmaz. Muskuler tabaka; elastik liflerden zengin bir bağ dokudan, birçok yönde uzanan düz kas demetlerinden yapılmış olup, bu tabaka pleksiform bir yapıya sahiptir. Perimüsküler tabaka; oldukça kalın, damardan zengin gevşek bağ dokusudur.

Seröz tabaka; kollajen ve elastik lifler, fibroblastlar ve makrofajlar içeren gevşek bağ dokusu yapısında bir tabakadır (21,22).

Fizyoloji

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından biri de metabolizmaya katılan safranın yapımıdır. Günlük 600-1200ml safra salgılanmaktadır. Büyük kısmı kan hücrelerinin ve bileşenlerinin metabolizması sonucu oluşan safranın, safra kesesi içine salgılanması ise karaciğerin ekzokrin fonksiyonudur. Karaciğer hepatositlerinde üretilen safranın iki önemli işlevi vardır. Bunlardan birincisi, yağların sindirim ve emilimindeki işlevidir. İkinci işlevi ise kandan bilirubin ve kolesterol gibi çeşitli yıkım ürünlerinin atılmasıdır (17,22).

Karaciğerden safranın salgılanması iki aşamada gerçekleşir. Birincisi hepatositler tarafından safra üretilir ve hepatik hücrelerin arasındaki küçük safra kanaliküllerine salgılanır. İkinci aşama ise üretilen safranın interlobüler septumlara ve buradan da safra kanallarına akışıdır. Büyük safra kanallarına geçen safra salgısı ya duodenuma dökülür ya da sistik kanal yoluyla safra kesesinde depolanır. Safra salgısı duodenumda gereksinim doğuncaya kadar safra kesesinde depo edilir (45,46). Yemek yedikten yaklaşık 30 dakika sonra yağ içeren besinlerin duodenuma geçmesiyle kese duvarında ritmik kontraksiyonlar başlar ve safra duodenuma boşalır. Safranın duodenuma boşalmasıyla koledok kanalında kontraksiyon, oddi sfinkterinde ise gevşeme olur. Safra kesesinde kontraksiyonları başlatan en güçlü uyarın duodenumdan salınan kolesistokinin hormonudur. Bu hormon oddi sfinkterinde gevşetici etkiye sahiptir. Bunun dışında safra kesesi vagus ve enterik sinir sistemindeki asetilkolin salgılayan sinir lifleri tarafından da uyarılır. Safra kesesinin etkili boşalabilmesi için hem safra kesesinde kontraksiyon olmalı hem de oddi sfinkterinde gevşeme olmalıdır. Sonuç olarak safra duodenumdaki peristaltik dalgaların gevşeme fazı ile senkron olacak şekilde duodenuma dökülür (17).

TIKANMA SARILIĞI

Sarılık (ikter) teriminin anlamı vücut dokularının sarıya boyanmasıdır. Tıkanma sarılığı, safra kanallarının tıkanması veya karaciğer hücrelerinin hasar görmesiyle normal miktardaki bilirubinin gastrointestinal sisteme çıkarılamamasıdır. Serbest ve konjuge şekilleri içeren plazma bilirubin konsantrasyonu normalde 0.5 mg/100 ml kadardır. Deri, bilirubin konsantrasyonu normalin üç katına yani 2 mg/100 ml'ye çıktığı zaman sararmaya başlar. Sarılık durumunda vücutta deri ve derin dokular sararır (47). Uzun süreli safra yolu

tıkanıklıklarında safranın intestinal sisteme salınmaması safra tuzları ve bilirubin birikmesine yol açar. Bu birikme sonucu toksik etkileri olan safra tuzları ve bilirubin, sistemik ve hepatik fonksiyonlarda birtakım değişiklikler meydana getirirler (48).

Tıkanma sarılığı barsakta safra asitlerinin yokluğuyla karakterizedir. Tıkanma sarılığında başlıca komplikasyonlar sepsis ve renal yetmezliktir (49,50). Tıkanma sarılığında, serumdaki bilirubin, alkalin fosfataz (ALP) ve alanin aminotransferaz (ALT) yükselmeleri karaciğer hasarını gösteren spesifik belirteçlerdir (51). Safra yolu tıkanıklığında bilier basınç artar (30-40 cmH₂O) ve karaciğerde birtakım histopatolojik değişiklikler meydana gelir. Akut safra yolu tıkanıklıklarında en erken bulgu kanaliküler kolestaz olup daha sonra safra duktus hücreleri proliferer olurken, kronik tıkanıklarda periduktal bağ dokusu artışı ve fibröz tabakalar ortaya çıkar. Kronik kolestaz erişkin ve çocuklarda siroz gelişmesine öncülük eder (52).

Safra yolu tıkanıklığında portal bölgedeki bağ dokunun önemli derecede arttığı, safra yollarındaki basınç artışı sonucunda safra kanalı epitelyum hücrelerinde ve hepatositlerde proliferasyonunun arttığı, inflamatuvar hücrelerin arttığı, dejenerasyon ve nekrosis ile sirotik değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir (53).

KARACİĞER HASARI

Metabolik, toksik, mikrobik, dolaşımsal ve neoplastik birçok farklı hastalık karaciğeri etkiler. Bazı durumlarda hastalık primer olarak karaciğerde oluşurken, kalp yetmezliği, yaygın kanser, ekstrahepatik enfeksiyonlar ve alkolizm gibi hastalıklarda karaciğer sekonder olarak hasara uğrar (3). Karaciğerin hasar verici olaylara karşı beş adet genel cevap şekli vardır:

İnflamasyon

Akut ya da kronik inflamatuvar hücrelerin karaciğere gelerek hepatositlerde oluşturduğu hasara hepatit adı verilir. İnflamasyon sadece portal bölgede (lökositlerin giriş bölgesinde) sınırlı olabileceği gibi, tüm parankime de yayılabilir. Bazı durumlarda inflamasyonu hepatosit nekrozu izlese de, bunun tam tersi de gerçekleşebilir. Hepatositler nekroza uğradığında kupffer hücreleri (makrofajlar) ölü hücreleri hemen fagosite ederler ve normal parankim içerisinde inflamatuvar hücre gruplarını oluştururlar (3).

Dejenerasyon

Çeşitli zararlı etkiler hücre ve dokuların yapılarının bozulmasına ve görevlerini yerine getirememesine neden olur; buna dejenerasyon denir. Toksik ya da immunolojik nedenlerle meydana gelen hasar, hepatositlerde düzensiz kümelenmiş, büyük berrak boşluklar içeren, sitoplazmalı, ödemli bir görünüm oluşmasına neden olur (balonlaşma dejenerasyonu). Hepatositlerde demir, bakır, atılmayan safra materyali gibi bazı maddeler birikebilir. Yağ damlacıklarının hepatositler içinde birikmesine steatoz denir. Nukleusun yerini değiştirmeyen birden fazla küçük yağ damlacığının varlığı mikrovjesiküler steatoz olarak tanımlanır. Bu alkolik karaciğer hastalığı, gebeliğin akut yağlı karaciğeri gibi bazı durumlarda meydana gelir. Nukleusu iten bir tek büyük yağ damlacığının varlığına makrovjesiküler steatoz denir ve alkolik karaciğerde ya da şişman ve diyabetik kişilerin karaciğerlerinde görülür (3).

Nekroz

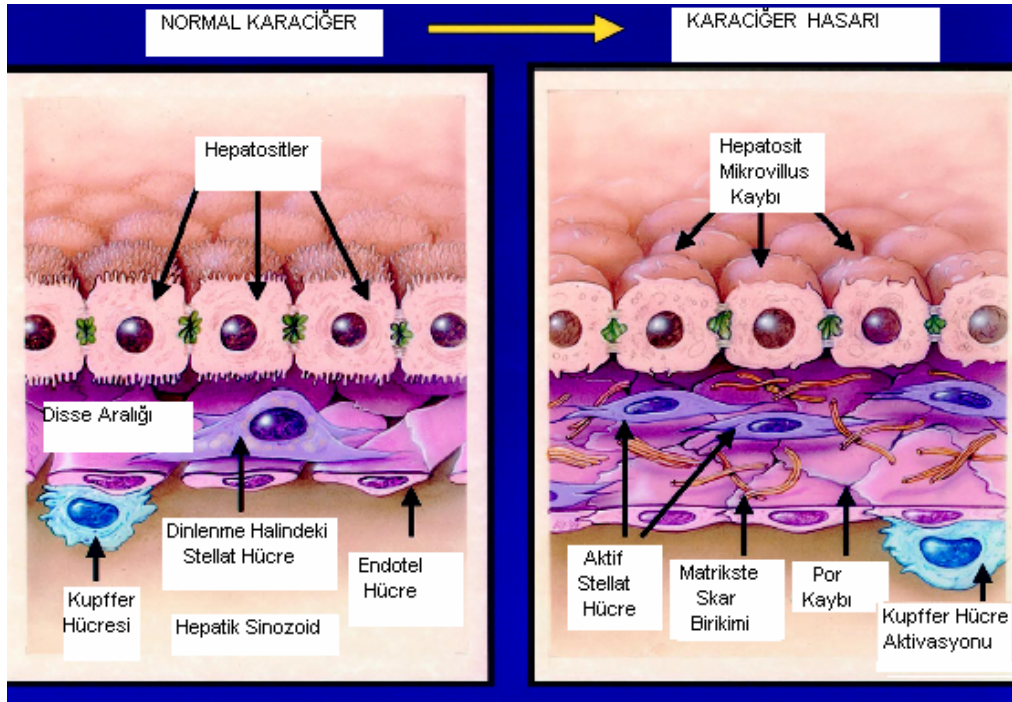
Canlı bir organizmada hücre ve dokunun patolojik ölümüne nekroz denir. Nekrozu yapan başlıca etken iskemi, yani kanlanma bozukluğudur. Karaciğerde hasara yol açan herhangi bir olay hepatosit nekrozuna yol açabilir. Hepatosit nekrozu, karaciğer lobülleri içerisinde tek tek hücrelerde görülebilir (odaksal nekroz) ya da periportal parankim ile inflamasyonlu portal bölgeler arasında izlenebilir (güve yeniği nekrozu). Daha ağır bir iltihabi hasar meydana geldiğinde hepatosit gruplarının nekrozu, birbirlerine komşu lobülleri, portal-portal, portal-santral ya da santral-santral bağlantıları ile birleştirebilir (köprüleşme nekrozu) (3).

Karaciğer Fibrozisi

Siroz patogenezinde temel patoloji olan HF, karaciğerde başta kollagen olmak üzere ECM birikimi ile karakterizedir (34). Akut hasar sonucunda parankimal hücrelerdeki rejenerasyon yeterli olurken, kronik hasarda rejenerasyon yeterli olmaz (32). Karaciğerde fibroze yol açan kronik hasar; viral hepatit (özellikle hepatit B ve C), alkol alışkanlığı, ilaçlar, demir ya da bakır birikimine neden olan metabolik hastalıklar, hepatosit ya da safra yolu epitelinin otoimmün saldırısına neden olan cevaba karşı oluşur. Karaciğer fibrozisi reversibl iken, fibrozisin en son ilerlemiş şekli olan siroz ise irreversibldir (54).

Karaciğer parankimi normal durumda; hepatosit, endotelin üst tabakası (porlarla oluşmuş sakin bir tabaka), Kupffer hücreleri ve HSH adı verilen perivasküler mezenşimal hücreleri içerir (55). HF'nin oluşmasında normal karaciğerde sakin olan HSH aktivasyonu

birincil olarak sorumlu tutulur. HSH karaciğer fibrozisinde anahtar rolü gören fibrojenik hücrelerdir (26). HF özellikle tip 1 kollajen olmak üzere aşırı düzeyde ECM bileşenlerinin üretimi ve depolanmasıyla karakterizedir. HSH'ler HF sırasında skar dokusunun aşırı üretiminden de sorumludur (56). Karaciğerin hücresel elementleri, epiteli (hepatositler) sinozoidal endotelyumdan ayıran subendotelyal Disse aralığında organize olurlar. Disse aralığı normalde membran benzeri bir matriks içerir (55). HF meydana geldiğinde ECM kompozisyonunda kalitatif ve kantitatif birtakım değişiklikler meydana gelir. Kollajen içeriği 3-5 kat artar. Subendotel aralıkta normal düşük yoğunluktaki matriks içeriğinden kollajen fibrilleri içeren interstisyel tip matriks içeriğine doğru ECM'de hafif bir değişim buna eşlik eder (55). Etiyolojik faktör ne olursa olsun HF'de; hyaluronik asit, fibronektinler, proteoglikanlar gibi matriks glukokonjugantları ile özellikle Tip I kollajenlere bağlı ortaya çıkan karaciğer skar organizasyonu ECM bileşenlerinin üretiminin artması ile karakterizedir. İlerlemiş evrelerde karaciğer normalin 6 katı kadar ECM içermektedir (57).



Şekil 4. Karaciğer hasarında (HF) meydana gelen sinuzoidal olaylar (55)

Şekil 4'de karaciğer hasarının cevabı; Disse'nin subendotelyal aralığı ve sinozoidde oluşan değişimler sonucu fibrozis gelişimi görülmektedir. HSH'lerin aktivasyonu matrikste skar birikimine yol açar ve biriken skar hepatositlerin (aynı zamanda mikro villusların kaybı) ve sinozoidal endotel porların kaybına neden olur. Sonuçta hepatik fonksiyonların

bozulmasıyla mikrovillus ve por kaybı meydana gelir. Kupffer hücre aktivasyonu karaciğer hasarına eşlik eder (55).

Siroz

Siroz, fibrozisin ilerlemiş en son şeklidir ve irreversibldır (55). Karaciğer sirozunun etiyojijisinde rol oynayan nedenler :

1-Viral hepatitler (hepatit B ve C)

2-Toksik (alkol, metotreksat)

3-Metabolik hastalıklar (Hemokromatoz, Wilson hastalığı, alfa-1 antitripsin eksikliği)

4-Biliyer (primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit)

5-Otoimmün hepatit

6-İdiyopatik (58)

Siroz patogeneziindeki temel olay, programlanmış fibrozistir. Sirozda tip I ve tip III kollajenler, lobülün tüm bölümlerinde birikir. Sirozdaki fazla kollajenin başlıca kaynağı; Disse aralığında bulunan HSH'lerdir ve bu hücreler normalde yağ ve A vitamini depolamakla görevlidir. Siroz gelişimi sırasında HSH'ler aktive olarak retinil ester depolarını kaybeder ve miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (3).Sirozda hepatosit hasarı (dejenerasyon ve nekroz), hepatosit rejenerasyonu, iltihabi reaksiyon, bağ dokusu septumlarının oluşması, safra kanalı proliferasyonu ve karaciğer içi damar yatağının distorsiyonu gibi histopatolojik değişiklikler görülebilir (59).

Daha önceleri HF'nin ilerleyici ve geri dönüşsüz (irreversibl) olduğu düşünülse de, fibrozisin patofizyolojisi hakkında son 20 yıldır artan hücresel ve moleküler bilgilerle, hayvan modellerinden ve insan çalışmalarından elde edilen veriler yakın zamanlarda bu yargıyı değiştirmiştir (53). Karaciğer fibrozisinin eskiden bilindiğinin aksine irreversibl olmadığı, ECM ve skar doku birikiminin statik değil dinamik ve regüle edilebilen bir süreç olduğu anlaşılmıştır (60). HF süresince ECM proteinaz aktivasyonundaki yetersizlik nedeniyle hasarlı karaciğer dokusunun normal yapıya yeniden dönüştürülmesi çok kolay değildir. Ancak fibrojenik uyarılma engellenebilirse aktif HSH miktarı azalır. Bu yolla HSH aktivasyonu yavaşlar ve mevcut proteinazların etkisiyle fibrozis geriye döndürülebilir (61).

ALFA DÜZ KAS AKTİN (α -SMA)

İntermediyer filament olmayan miyojenik bir markerdir. Aktin protein ailesinde altı izoform bulunur. Bunlar mikroflamentöz kontraktıl proteinlerdir ve çizgili kas alfa, düz kas

alfa ve gamma, kalp kası alfa, nonmiyojenik beta ve gamma aktinler olarak bilinirler. Alfa ve gamma kas izoformları, saf miyojenik diferansiyasyon gösteren dokularda bulunmasına karşın, fibroblast ve miyoepitel özelliğindeki hücrelerde de görülebilmektedir (62).

Normal ve hastalıklı insan karaciğeri İto hücrelerinde sinuzoid ve perisinuzoidal yapının gelişimi ile bağlantılı olarak alfa düz kas aktinin (α -SMA) immünoaktivitesi araştırılmış ve HSH'leri tanımlamak için α -SMA ile immunohistokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Normal yetişkin karaciğerinde ince sitoplazmik oluşumları olan perisinuzoidal hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve perisitler α -SMA pozitifler. Perisinuzoidal hücreler, sinuzoidal duvar boyunca dağınık ve ayrı ayrı tabakalar oluşturmuşlardır. İmmünoelektron mikroskobu, α -SMA pozitif perisinuzoidal hücrelerin, yağ damlacıkları içeren İto hücreleri olduklarını göstermiştir (63,64). Kronik karaciğer hastalıklarında α -SMA pozitif İto hücreleri, sayı, büyüklük ve özellikle nekrotik alanlarında immün boyanma yoğunluğunda artma göstermişlerdir. Bu hücreler, düzensiz uzamış sitoplazmik oluşumlar, mikrofilaman miktarının artması ve karakteristik yağ damlacıklarının kaybı ile beraber, şekil olarak dentritikleşmişlerdir. Böylece bunların ince yapı özellikleri miyofibroblastik hücreler ile uyumludur. Bu sonuçlar göstermiştir ki; anti- α -SMA antikoru kullanılan immünohistokimya, yetişkin insan karaciğerinde normal ve dönüşmüş İto hücrelerinin tanımlanması için güvenli ve duyarlı bir metoddur (63,65).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit (NO), 1987 yılında Palmer ve arkadaşları tarafından, kan damarlarının asetilkolin uygulaması sonrasında endotele bağlı şekilde gevşemesinden sorumlu molekül olarak keşfedilmiştir. NO, 1987 yılına kadar damar endotelinden kaynaklı gevşeme faktörü olarak biliniyordu. Bu yapının izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda endotel kaynaklı gevşeme faktörünün NO olduğu tespit edilmiştir (66,67). Bundan kısa bir süre sonra, damar endotel hücrelerinden köken alan NO'nun NOS denilen enzim grubunun katalizmesiyle bir aminoasit olan L-arjininden sitrüllin oluşumu esnasında L-arjinin'in guanidin nitrojen grubunun hidrosilasyonu sonucu oluşan bir ara üründür (68,69).

Nitrik oksit, çok yönlü bir biyolojik haberci ve farklı biyolojik etkilere sahip kimyasal bir moleküldür. Başlangıçta güçlü bir vazodilatatör ve nörotransmitter ajan olarak tanımlanan NO'nun, yapılan çalışmalarla intraselüler ve ekstraselüler olaylarda vücudun birçok organında

farklı fonksiyonlarının olduğu ortaya çıkarılmıştır. Aynı zamanda antitrombotik, antiinflamatuvar, antioksidan, sitotoksik ve immunomodülasyon etkilere de sahiptir (70).

Nitrik oksitin, bazal vasküler tonusun sağlanması, ateroskleroz gelişimini önleme, damar geçirgenliğinin kontrolü, sinirsel aktivite, ağrının hafifletilmesi, hafıza ve öğrenme fonksiyonları, penil ereksiyon, barsak ve böbreklerde tuz ve su emilimi, iştah ve besin alımı, yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (69,71,72). NO'nun çok önemli diğer bir etkisi de lökosit aktivasyonunu engelleyerek lökositlerin damar duvarıyla karşılıklı etkileşimini engellemesidir (73).

Nitrik oksitin koruyucu etkileri; antioksidan fonksiyonu, antiinflamatuvar etkileri, TNF toksisitesine karşı etkileri olup, zararlı etkileri ise antioksidanları tüketmesi, enzim inhibisyonu, deoksiribonukleikasit hasarları, lipid peroksidasyonu ve diğer toksik etkenlere duyarlılığı artırmasıdır (74).

Nitrik Oksit Sentaz Enzimleri ve Özellikleri

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin yapısal veya konstitütif NOS ve indüklenebilir NOS olmak üzere iki temel izoenzimi bulunmaktadır (71).

Konstitütif nitrik oksit sentaz (cNOS): Bu izoenzim özellikle damar endoteli, idrar yolu hücreleri, periferik ve santral sinir sistemi hücreleri, endokard, miyokard, trombosit, mast hücreleri ve nötrofillerde lokalize olmuştur. NOS, bu dokularda her zaman mevcuttur ancak aktif değildir. Hücre içi iyonize Ca^{+2} konsantrasyonunun arttığı durumlarda Ca^{+2} kalmodulinle birleşerek NOS enzimini aktive eder ve L-arjininden NO sentezi gerçekleşir. Yani enzimin aktif hale gelebilmesi için kalsiyuma ihtiyaç vardır. Enzimin kalsiyum-kalmodulin ile aktive olması nedeniyle kalsiyuma bağımlı NOS veya konstitütif NOS olarak adlandırılır (72).

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS): Endotoksin ve sitokinler tarafından indüklenen ve indüklendiğinde daha uzun sürede ve büyük miktarlarda NO üreten, kalsiyumdan bağımsız bir enzimdir. Diğer enzimlerin aksine hücre içinde bulunmaz. Bu özelliklerden dolayı indüklenebilir veya kalsiyumdan bağımsız nitrik oksit sentaz olarak adlandırılır. iNOS enzimi özellikle makrofaj, nötrofil, monosit, hepatosit, epitel hücreleri, damar düz kas hücreleri ve mikroglial hücrelerden sentezlenmektedir (75).

iNOS uyarıldığı zaman, uzun bir zaman dilimi boyunca ve fazla miktarda NO üretimine yol açar. Bu yolla üretilen NO çeşitli patofizyolojik süreçlerle ilgili olup, antibakteriyel (76) ve antiviral (77) etkinlik, mitokondriyon solunumunun engellenmesi (78), protein nitrasyonu ve doku hasarlanmasının uyarılması (79,80) gibi çeşitli olaylarla bağlantılıdır. Ayrıca, ağız yoluyla etanol verilen farelerin karaciğerlerinde nekroz, enflamasyon ve yağlı dejeneratif değişikliklerin görüldüğü, iNOS geni yönünden eksikliği olan farelerde ise bu tür değişikliklerin meydana gelmediği bildirilmiştir (81).

SİTOKERATİN

Hücreler, şekillerini korumak, mekanik dayanıklılıklarını sağlamak, hareket etmek ve bölünmede (mitoz ve mayoz) kromozomların ayrılması için protein fibriller içerirler. Bu fibriller aktin filamentleri, intermediate filamentler ve mikrotübüllerdir.

Aktin filamentleri (mikrofilamentler) ortalama 8 nm çapında olup, genelde hücrede hareket ve mekanik direnç ile ilgili görevlerde rol alırlar.

Intermediate filamentler, hücre iskeletinin önemli komponentleri olup organellerin stabilizasyonunu sağlarlar. Çapları 9-12 nm (ortalama 10 nm) arasında değişir. Intermediate filament proteinlerinin tip I (asidik keratinler) ve tip II (bazik keratinler) 'leri epitel hücre intermediate filament skeletonunu (sitokeratinleri) oluştururlar.

Intermediate filamentler her biri belirli hücre türlerine özgü 5 ana gruba ayrılır.

Keratin: Epitelyal hücrelerde bulunur.

Vimentin: Fibroblastlarda bulunur.

Glial fibriler asidik protein: Glial hücrelerde bulunur.

Desmin: Kas hücrelerinden bulunur.

Nörofilament proteinleri: Sinir hücrelerinde bulunur (82).

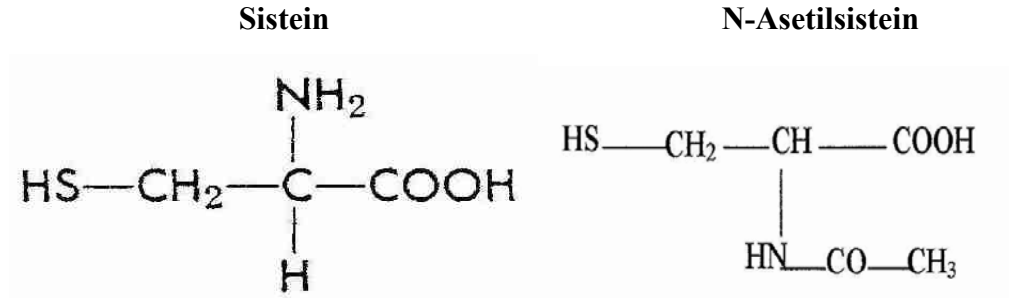
Molekül ağırlıkları ve izoelektrik noktalarına göre 20'nin üzerinde sitokeratin tipi tanımlanmıştır. Spesifik sitokeratinler bazı tip epitelleri tanımlamak amacıyla kullanılabilir. Çünkü her sitokeratin molekülü spesifik morfolojik veya fizyolojik özelliklere sahip epitel ile ilişkilidir (83).

Sitokeratinler iki gruba ayrılırlar:

Tip I sitokeratinler asidik proteinlerden oluşur ve sitokeratin 9'dan sitokeratin 23'e kadar olan sitokeratinleri içerirler. Tip II sitokeratinler alkalidirler ve sitokeratin 1'den sitokeratin 8'e kadar olan sitokeratinler bu gruba girerler. Sitokeratin epitelyal farklılaşmanın en belli başlı belirleyicisidir. Sitokeratin hücrenin tipini ve farklılaşma durumunu yansıtır (84).

N-ASETİL SİSTEİN (NAS)

N-asetil sistein, bir tiol molekülü olup, doğal bir aminoasit olan L-sistein ve indirgenmiş glutatyonun prekürsörüdür (85). NAS hücrelerde sülfidril gruplarının önemli bir kaynağı olup, OH gibi reaktif oksijen türleriyle etkileşerek konjugasyon veya redüksiyon yoluyla serbest radikalleri temizler (Şekil 5) (86).



Şekil 5. Sistein ve N-asetilsisteinin yapısal formülü (86)

N-asetil sistein mukolitik bir ajan olup, molekül ağırlığı 163.2 ve molekül formülü $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$ 'dür. Majör atılım ürünü inorganik fosfat şeklindedir (85). NAS'ın kullanıldığı değişik hastalıklar arasında akciğer hastalıkları, kanser, kardiovasküler hastalıklar, metal toksisitesi, karaciğerin parasetamol toksisitesi, HIV enfeksiyonu, epilepsi, romatoid artrit ve siklofosfamide bağlı oluşan hemorojik sistit sayılabilir (85,87,88).

N-asetil sistein apoptozu önleyebilmekte, çeşitli proteinlerin aktivitelerini düzenleyerek hücrenin hayatta kalım süresini uzatmakta ve endotelial disfonksiyonu azaltmaktadır. Ayrıca inflamasyon, fibroz, invazyon, kartilaj erezyonu, asetaminofen detoksifikasyonu ve transplantasyon ihtiyacının geciktirilmesini sağlamaktadır (89). NAS antioksidan bir maddedir ve NAS'ın antitoksitesindeki mekanizmalar glutatyon artışı, serbest radikalleri temizlemesi ve karaciğer kan akımını artırmasıdır (90). NAS, akciğer ve karaciğerde glutatyon sentezine sistein verici olarak katılır ve glutatyon sentezini artırır. NAS ve glutatyon karaciğerde nötrofillerin oluşturduğu SOR'ni bağlar ve olası hücre hasarını önleyerek koruyucu etki gösterir. NAS'ın parasetamol (asetaminofen) zehirlenmelerinde karaciğer harabiyetini azaltıcı etkisi de vardır (91). NAS sıçanlarda toksik kadmiyum ile birlikte verildiğinde lipit peroksidasyonunu önleyerek karaciğer toksisitesini azalttığı görülmüştür (92). Karaciğer transplantasyonunda reperfüzyon ile gelişen oksidatif hasar da NAS ile anlamlı derecede azaltılabilmektedir. NAS karaciğerde oksidatif strese karşı tedavi

edici etkisi ile transplantasyon hasarı, alkolizm, metal toksisitesi ve fibrozda tedavi rolü oynayabilir (87).

Ayrıca NAS, in vitro olarak tümör hücre invazyonunu, in vivo olarak da metastaz oluşumunu ve salgılanan matriks metalloproteinaz aktivitesini inhibe ederek engelleyebilmektedir. Yine metalloproteinaz inhibisyonu yoluyla anjiyogenezi de önleyebilmektedir (93). NAS'ın özellikle *Pseudomonas aeruginosa* başta olmak üzere birçok bakteriye karşı bakteriyostatik etkiye sahip olduğu da saptanmıştır (94).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 24 adet Wistar albino türü erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22±1 0C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı. Deneyde toplam 3 grup oluşturuldu.

Grup 1 (Kontrol) (n=7): Bu grupta bulunan sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Grup 2 (Ligasyon) (n=10): Karın boşluğu açılarak koledok kanalı serbestlendikten sonra, koledok kanalı duodenuma yakın bölgede üst ve alt kısımdan bağlanarak kesildi.

Grup 3 (Ligasyon+ NAS) (n=7): Ligasyon işlemi yapılan deneklere 200 mg/kg dozunda NAS deney süresince (28 gün) intraperitoneal (ip) verildi.

Çalışma için Trakya Üniversitesi Etik Kurulu'ndan (Ek 1) 05.07.2010 tarihinde onay alındı.

KOLEDOK LİGASYON YÖNTEMİ

Sıçanlara operasyon öncesi ketamin (Ketalar®, 10ml, 50mg/ml, Pfizer, ABD) (25mg/kg, intramuskuler) 50mg/kg/ip, xylazine (Rompun® 50ml, 23.32 mg/ml, Bayer, Almanya) 5mg/kg/ip ile genel anestezi uygulandı. Karın bölgesi povidon-iyot (İsosol®, %10 povidon-iyot, 1 litre, Merkez Laboratuvarı, Türkiye) ile bölge asepsisi sağlandıktan sonra orta hat kesisi yapılarak karın açıldı. Safra ligasyonu işlemi Criado (95) ve arkadaşlarının

uyguladığı tekniğe uygun olarak karaciğer lobları ile duodenum arasında yerleşik koledok kanalı açığa çıkarıldı çevre dokulardan temizlenerek tıkanma oluşturmak amacı ile iki yerden 4,0 ipek iplikle bağlandı. Birinci düğüm hepatik kanal kavşağının hemen altından, ikinci düğüm ise pankreatik kanalın giriş yerinin hemen üstünden yapıldı. Sonra bu iki bağlantı arasından kesi yapılarak işlem gerçekleştirildi. Cilt ve cilt altı birbirinden bağımsız olarak devamlı sütürle kapatıldı. Cerrahi girişim yeri 6-7. günlerde sorunsuz olarak kapandı. Safra yolu ligasyonu yapılan 7 adet sıçana 200 mg/kg/ip NAS 28 gün boyunca günde bir kez uygulandı.

Yirmisekizinci günün sonunda tüm deneklere ketamin 50mg/kg/i.p ile anestezi sağlanarak karın orta hattan tekrar açıldı ve sıçanlar sakrifiye edildi. Sıçanların karaciğerleri tümüyle çıkarıldı. Alınan karaciğer örnekleri ışık mikroskop ve immünohistokimyasal inceleme için Bouin fiksatifinde (75 cc pikrik asit + 25 cc formalin + 5 cc Asetik asit) tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için karaciğer dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında işlemlendirildi. Bu amaçla karaciğer dokuları Bouin fiksatöründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 1'er saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün karaciğer dokuları yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindri mikrotom kullanılarak 6 µm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alındı. Karaciğerdeki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler Masson trichrome ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

Fibrozinin histopatolojik değerlendirilmesi aşağıdaki Tablo 1'e göre yapıldı.

Tablo 1. Fibrozisin histopatolojik değerlendirilmesi

	Skor
Fibrozis yok	0
Portal fibrozis	1
Septumlu fibrozis	2
İnkomplet siroz (Nadir nodüllerle birlikte belirgin köprüleşme (porto-portal ve/veya porto-sentral köprüleşme)	3
Siroz (Diffüz fibrözis ve nodül oluşumu)	4

İnflamasyonun histopatolojik değerlendirilmesi aşağıdaki tabloya göre yapıldı.

Tablo 2. İnflamasyonun histopatolojik değerlendirilmesi

	Skor
İnflamasyon yok	0
Bazı veya tüm portal alanlarda hafif	1
Bazı veya tüm portal alanlarda orta	2
Bazı veya tüm portal alanlarda orta/belirgin	3
Bazı veya tüm portal alanlarda belirgin	4

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

İmmünohistokimyasal inceleme için karaciğer dokusundan 6 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemi takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Hæn 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler Fosfat Buffer Solusyonu (PBS; pH 7.6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikorlar, fare monoclonal anti-actin, smooth muscle antibody (Cat. # MS-113-P, Neomarkers, USA), fare monoclonal Keratin, Pan antibody (Ab-1 (AE1/AE3) Thermo Scientific/LabVision MS-343-P0, USA) ve tavşan polyclonal iNOS antikor (iNOS antibody (ab15323), ABD) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20

dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS’de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9 etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı.

Her preparata ait α -SMA pozitif hücrelerin sayısının skorlaması yapıldı. Her preparatta rasgele seçilen 10 alanda şu şekilde skorlama yapıldı; 0 = pozitivite yok; 1 = Damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki hücrelerin 10%’dan az kısmı pozitif; 2 = Damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki hücrelerin 11–20%’lik kısmı pozitif; 3 = Damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki hücrelerin 21–40%’lik kısmı pozitif; 4 = Damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki hücrelerin 40%’dan fazla kısmı pozitif.

Her preparata ait sitokeratin pozitif safra kanallarının sayısının skorlaması yapıldı. Her preparatta rasgele seçilen 10 alanda şu şekilde skorlama yapıldı; 0= safra kanalı proliferasyonu yok; 1= Yalnızca portal alanlarla sınırlı orta derecede safra kanalı proliferasyonu; 2 = Porto-portal köprüleşme alanlarında, belirgin safra kanalı proliferasyonu.

Her preparata ait iNOS pozitif hücrelerin sayısının skorlaması yapıldı. Her preparatta rasgele seçilen 10 alanda şu şekilde skorlama yapıldı; 0 = safra kanalı proliferasyonu yok; 1 = Yalnızca portal alanlarla sınırlı orta derecede safra kanalı proliferasyonu; 2 = Porto-portal köprüleşme alanlarında, belirgin safra kanalı proliferasyonu. Karaciğer dokusundaki iNOS pozitif hücrelerin sayımı için; Olympus marka BX 51 model mikroskoba uyumlu 100 kare oküler mikrometre kullanıldı. iNOS immünboyanması uygulanan kesitlerden elde edilen preparatlarda, karaciğer dokusunda rastgele belirlenen 10 alanda 40’lık objektif büyütmesinde, 100 kare içerisine düşen birim alandaki iNOS pozitif hücreler sayıldı. Her grup için kesitlerin sayılması ile elde edilen rakamların aritmetik ortalaması alındı. Böylece 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama iNOS pozitif hücre sayısı saptandı. Mikrometrik lam yardımı ile 40’lık objektif büyütmesi için 100 kare oküler mikrometrenin

alanı belirlendi. Bu hesaplama sonucunda grup başına 625 mikrometrekare (μm^2)’deki ortalama iNOS pozitif hücre sayısı tespit edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi’ndeki S0064 Minitab Release 13 programı (Lisans No: WCP1331.00197) kullanıldı. Tüm veriler ortalama (\pm) standart sapma (S.S) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki sonuçların farklılıkları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

IŞIK MİKROSKOPİK BULGULAR

Kontrol grubundaki sıçanların Masson trichrome boyalı karaciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; karaciğer kesitlerinin normal histolojik görünümde oldukları izlendi. Karaciğer parankim hücreleri olan hepatositlerin santral venler etrafında düzenli şekilde yerleşerek hepatosit kordonlarını oluşturduğu görüldü. Hepatik lobüllerin etrafında yer alan portal alanlarda ise portal vene ait dal, hepatik arteriyol ve safra duktusunun olduğu gözlemlendi (Resim 1).

Ligasyon grubundaki sıçanların Masson trichrome boyalı karaciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; normal parankimal yapının bağ dokusu artış sonucu fibröz septumlarla çevrili nodüler yapıya dönüştüğü ve hepatosit dizilerinin bu nodüller içinde adacıklar şeklinde kaldığı görüldü. Portal alanlarda belirgin köprüleşmeyle birlikte nekrotik alanların varlığı saptandı. Ayrıca parankimal alanlarda sinüzoidal dilatasyon ve hepatosit dejenerasyonu ile birlikte, portal alanlarda da mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanalı proliferasyonu ve genişlemesi görülmektedir (Resim 2).

Ligasyon+NAS grubundaki sıçanların Masson trichrome boyalı karaciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; ligasyon grubuna göre fibrozisin önemli ölçüde azalmasıyla birlikte bağ dokusu artışında da azalma olduğu görüldü. Ayrıca portal alanlardaki mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanalı proliferasyonu ve nekrotik alanlarda önemli derecede azalma olduğu görüldü (Resim 3) (Tablo 3).

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Alfa Smooth Muscle Actin (α -SMA)

Kontrol grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; pozitif α -SMA reaktivitesi sadece santral ven, portal ven ve hepatik arteriyöl damarlarının düz kas hücrelerinde görüldü (Resim 4,5).

Ligasyon grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; pozitif α -SMA reaktivitesi damarların düz kas hücreleriyle birlikte sinüzoidlerin, proliferen olan safra kanallarının etrafında ve fibrotik septalarda gözlemlendi (Resim 6,7).

Ligasyon+NAC grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde ise; deney grubuna göre pozitif α -SMA reaktivitesinde belirgin bir azalmanın olduğu gözlemlendi (Resim 8,9) (Tablo 3).

Sitokeratin

Kontrol grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; pozitif sitokeratin reaktivitesi sadece portal alanlardaki safra kanalı epitel hücrelerinde gözlemlendi (Resim 10).

Ligasyon grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; pozitif sitokeratin reaktivitesinin daha çok portal alanlarda ve lobçuğun paransim kısmında sayıları oldukça artan safra kanallarının epitel hücrelerinde yoğun olduğu izlendi (Resim 11).

Ligasyon+NAC grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde ise; ligasyon grubuna göre safra kanalı proliferasyonundaki azalmayla birlikte pozitif sitokeratin reaktivitesinde de belirgin bir azalmanın olduğu saptandı (Resim 12) (Tablo 3)

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

Kontrol grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; az sayıda iNOS pozitif hücre görüldü (Resim 13).

Ligasyon grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde; portal alanlardaki fibrotik alanların artışıyla birlikte çok fazla sayıda iNOS pozitif hücrenin olduğu gözlemlendi (Resim 14,15).

Ligasyon+NAC grubuna ait sıçanların karaciğer kesitleri incelendiğinde ise; ligasyon grubuna göre portal alanlardaki fibrotik alanların azalmasıyla birlikte iNOS pozitif hücrelerde belirgin bir azalmanın olduğu izlendi (Resim 16,17) (Tablo 3)

Tablo 3. Kontrol, ligasyon ve ligasyon+NAS grupları arasındaki ışık mikroskopisi incelemesinde inflamasyon ve fibrozis skorları ve karaciğer dokusu sitokeratin, alfa düz kas aktin, indüklenbilir nitrik oksit sentaz immünreaktivitelerinin yoğunluğunun istatistiksel olarak karşılaştırılması.

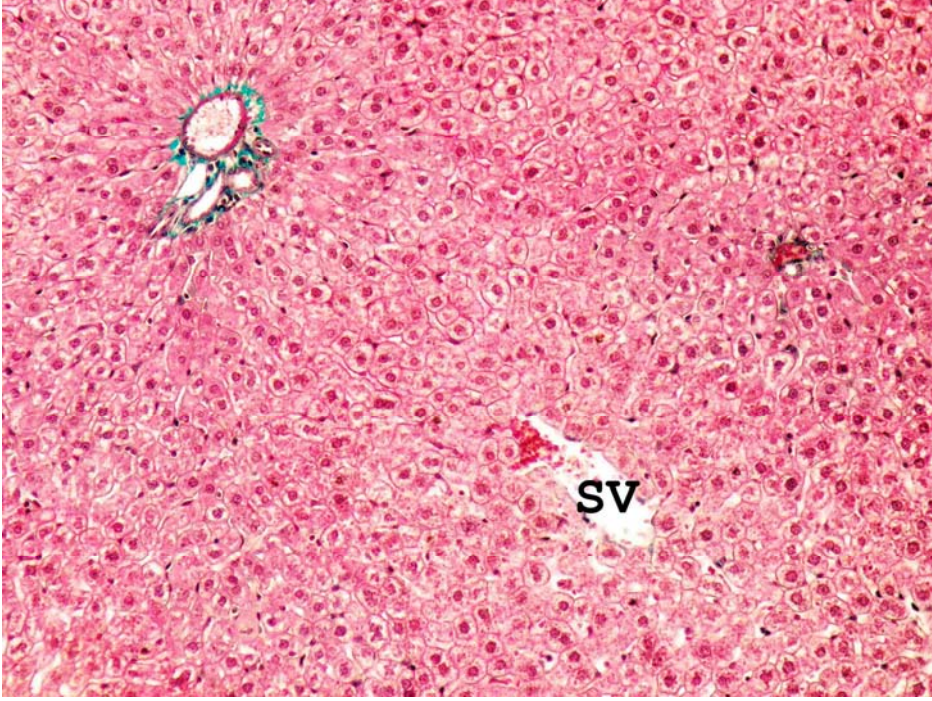
	Kontrol	Deney	Tedavi
Fibrozis	0.00 ± 0.00	2.82 ± 0.23 ^a	1.35 ± 0.12 ^b
İnflamasyon	0.00 ± 0.00	2.44 ± 0.18 ^a	1.16 ± 0.08 ^b
Sitokeratin	0.09±0.01	1.42±0.13 ^c	0.65±0.07 ^b
α-SMA	0.08 ± 0.01	2.71 ± 0.21 ^a	0.63 ± 0.07 ^d
iNOS	2.14 ± 0.16	69.54 ± 7.21 ^e	17.10 ± 2.08 ^d

^a P < 0.001 kontrol ile karşılaştırıldığında, ^b P < 0.05 deney ile karşılaştırıldığında,

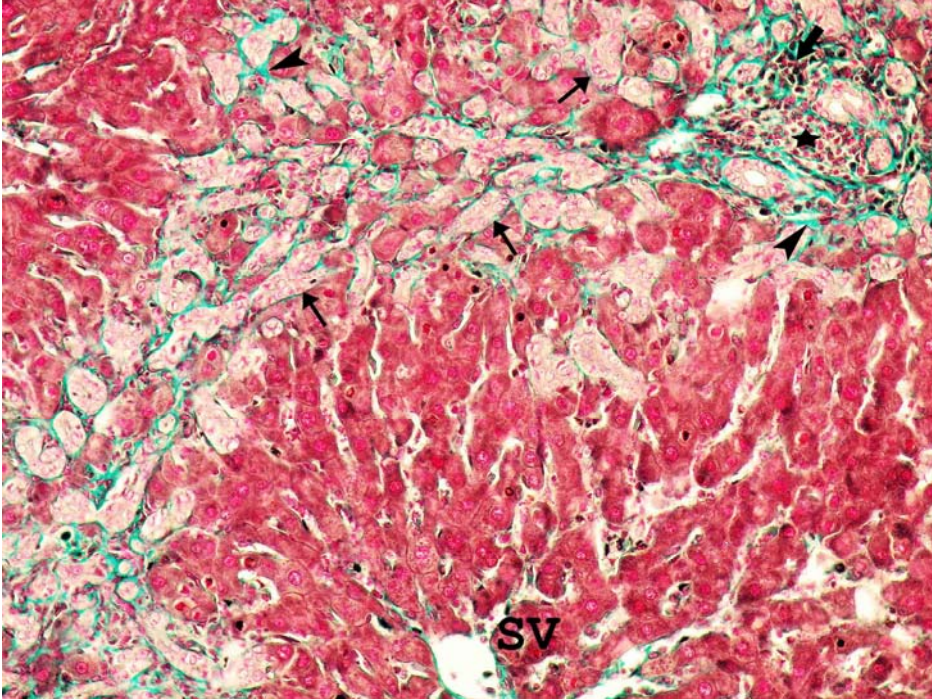
^c P < 0.01 kontrol ile karşılaştırıldığında, ^d P < 0.0001 deney ile karşılaştırıldığında.

^e P < 0.00001 kontrol ile karşılaştırıldığında.

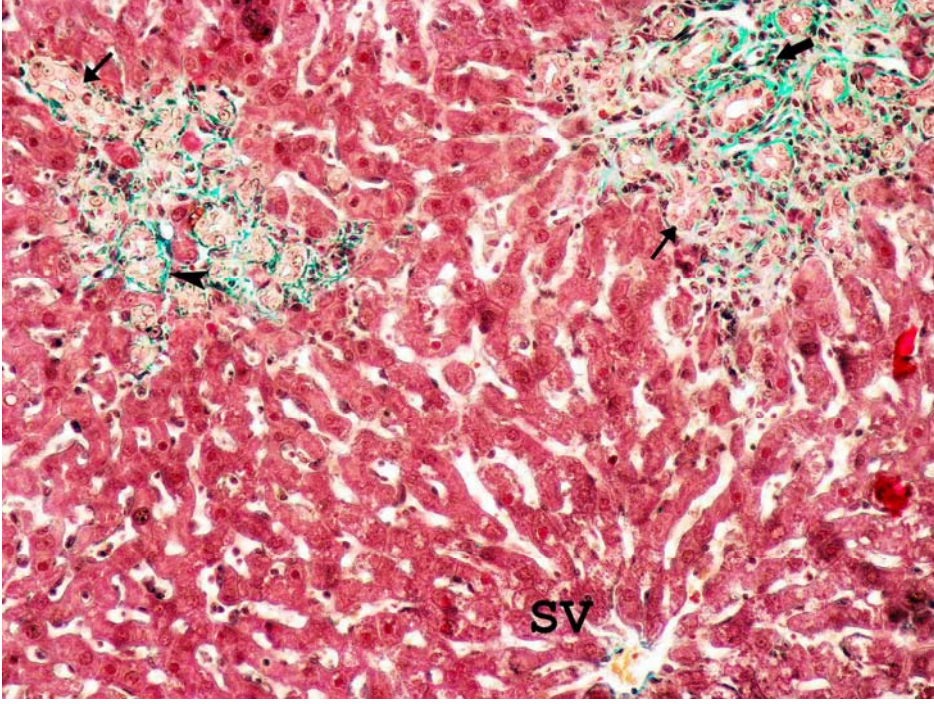
α-SMA: Alfa Smooth Muscle Actin, **iNOS:** İndüklenbilir Nitrik Oksit Sentaz



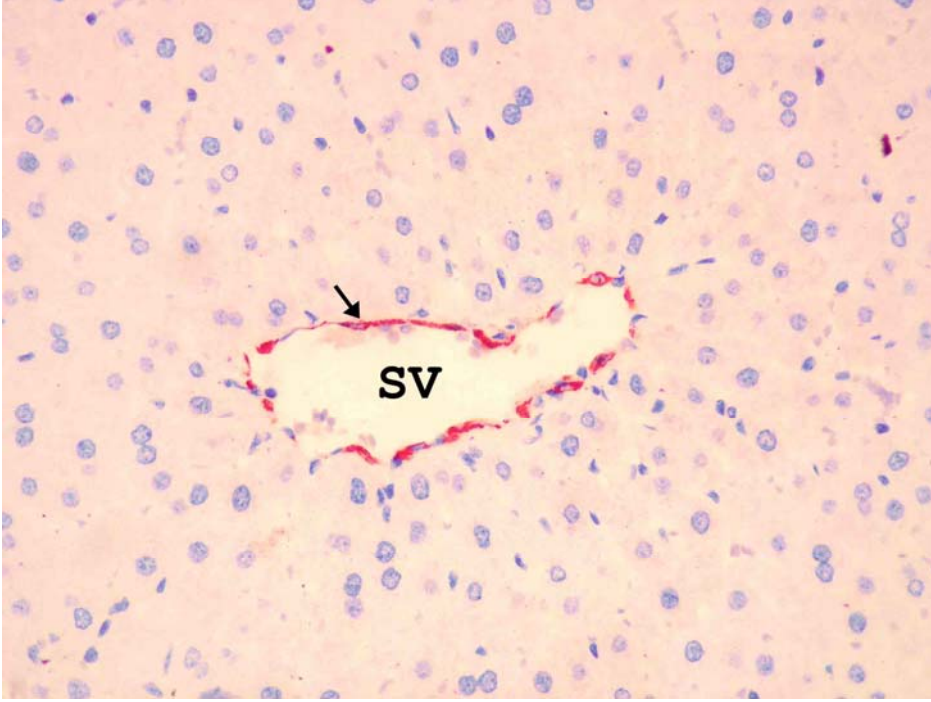
Resim 1. Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik görünümü. SV: Santral ven. Masson trichrome, X200



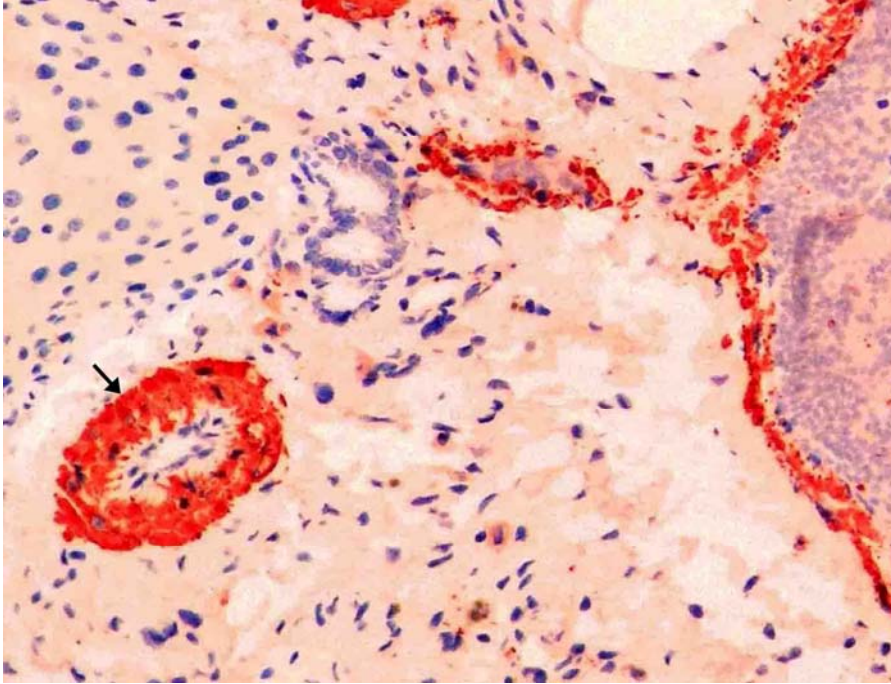
Resim 2. Ligasyon grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. SV: Santral ven. Yıldız: Nekrotik alan, Okbaşı: Bağ doku, İnce Ok: Safra kanalları. Kalın Ok: Mononükleer hücre infiltrasyonu. Masson trichrome, X200.



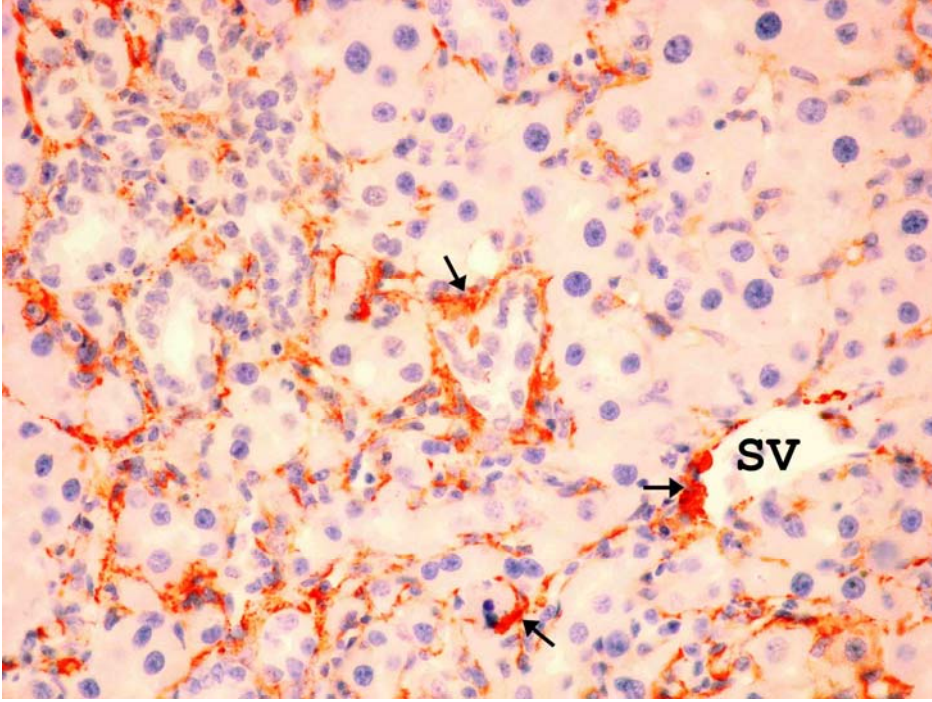
Resim 3. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. SV: Santral ven. Okbaşı: Bağ doku, İnce Ok: Safra kanalları. Kalın Ok: Mononükleer hücre infiltrasyonu. Masson trichrome, X200.



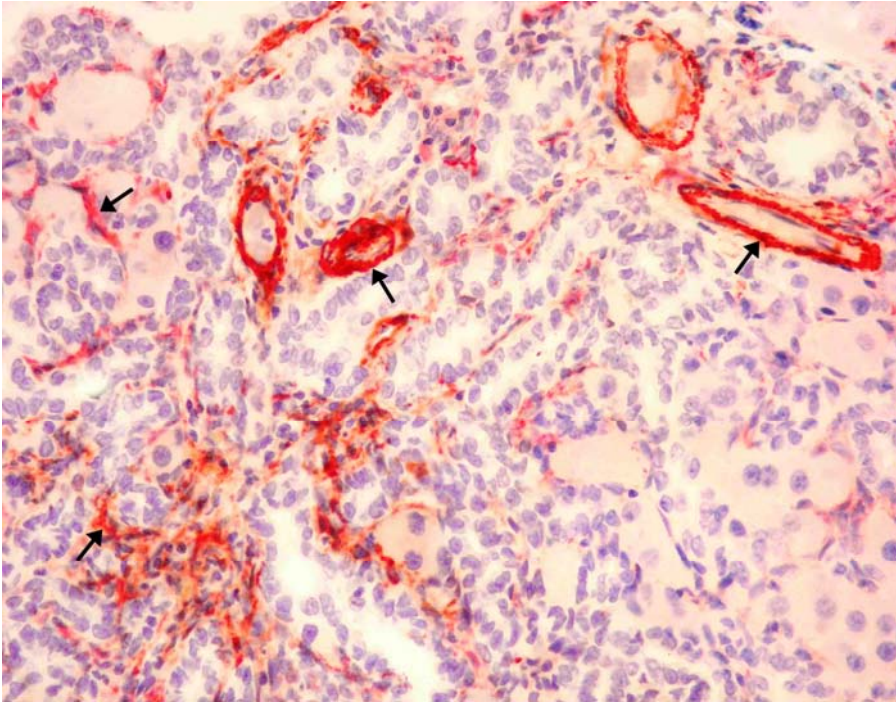
Resim 4. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. SV: Santral ven. Ok: Santral ven etrafında yer alan düz kas hücrelerindeki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400.



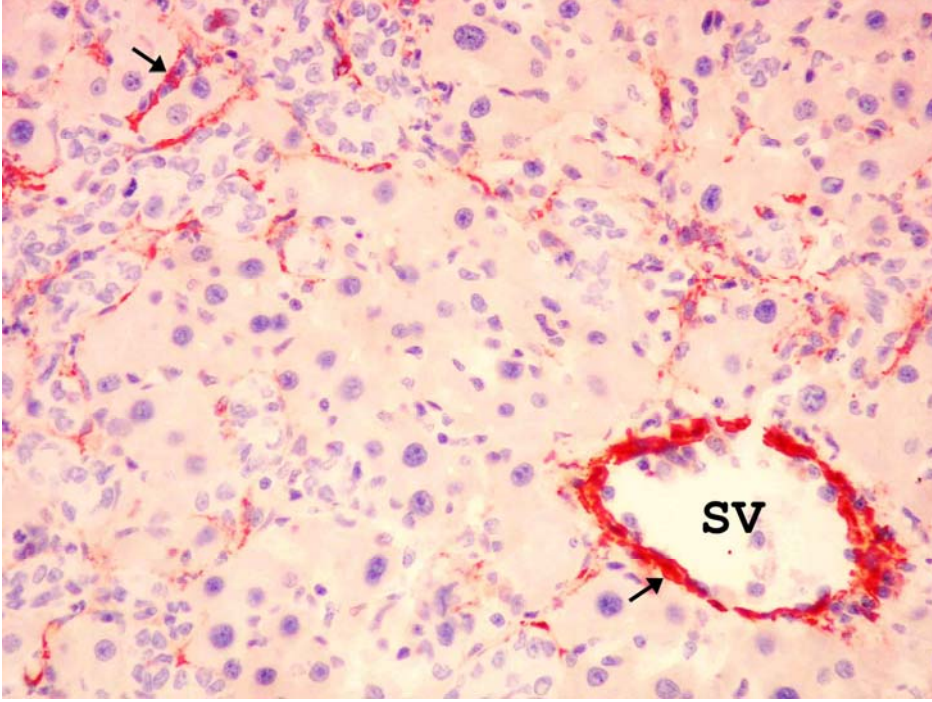
Resim 5. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. Ok: Portal alanda yer alan damar düz kas hücrelerindeki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400.



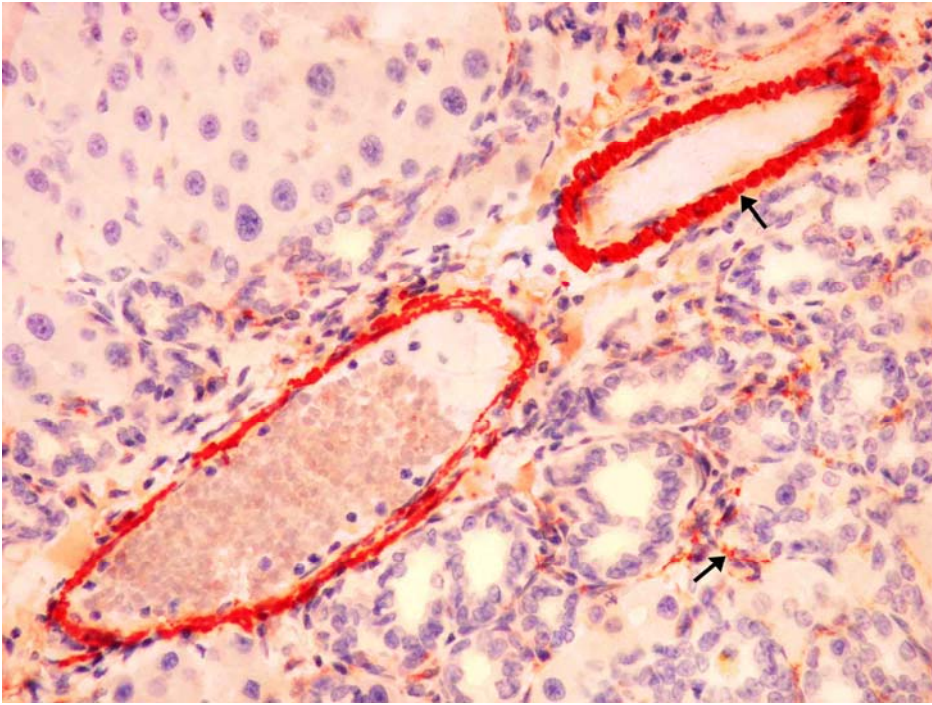
Resim 6. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. SV: Santral ven. Ok: Santral ven etrafında yer alan düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400.



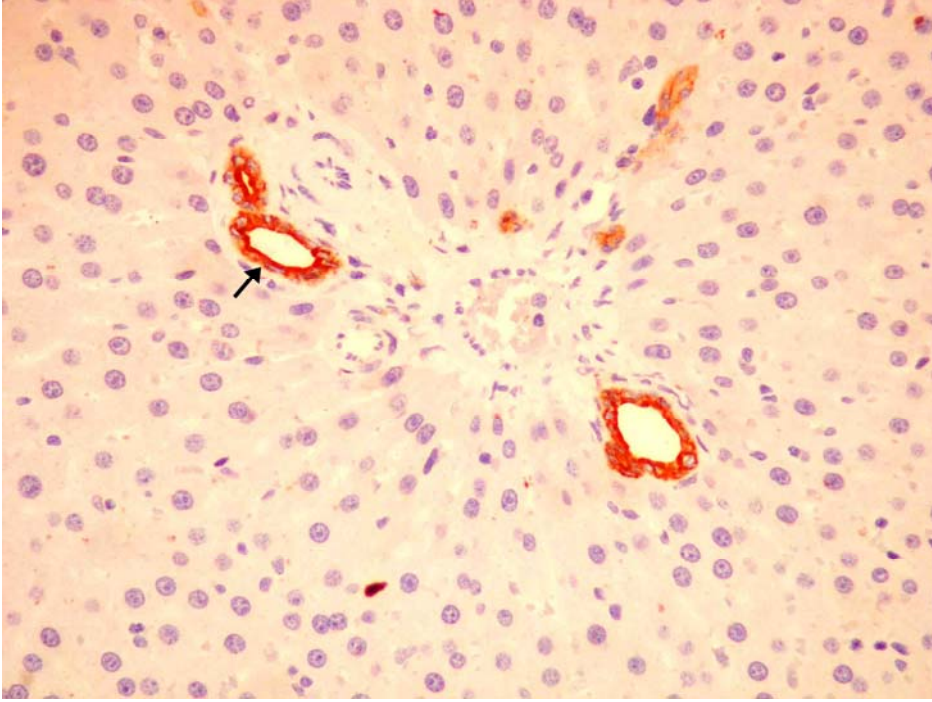
Resim 7. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. Ok: Portal alanda yer alan damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400.



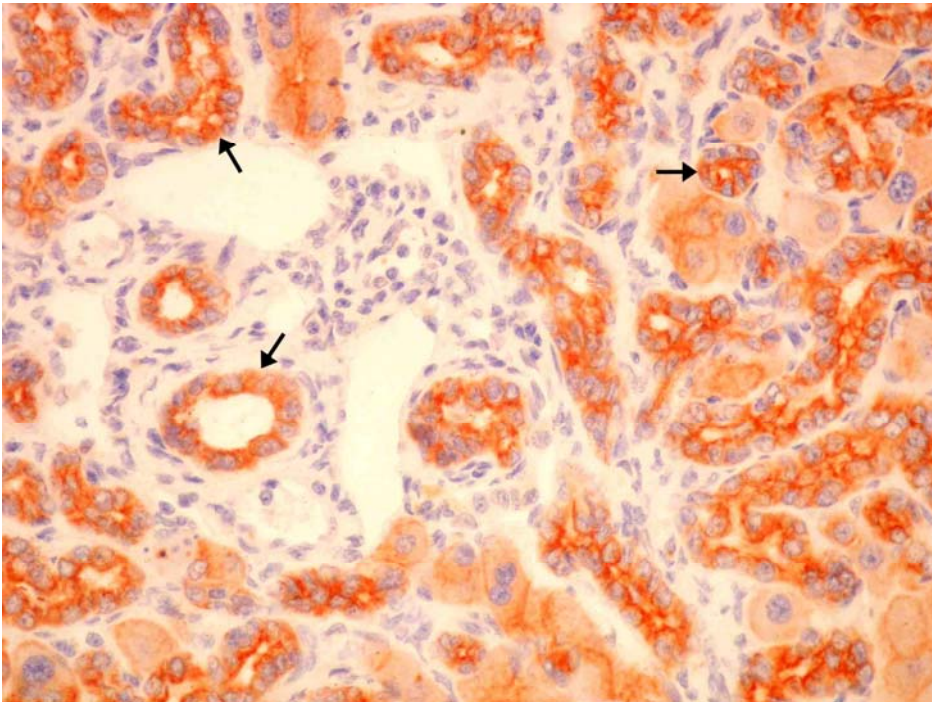
Resim 8. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. SV: Santral ven. Ok: Santral ven etrafında yer alan düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400.



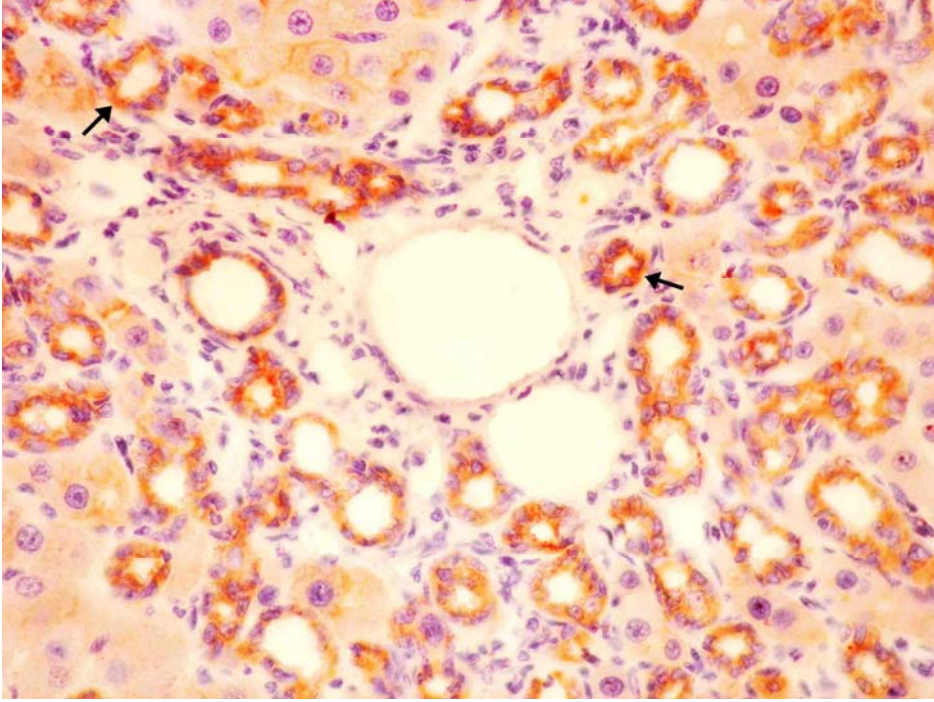
Resim 9. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması. Ok: Portal alanda yer alan damar düz kas hücreleri, sinüzoidler, proliferen olan safra kanallarının etrafı ve fibrotik septalardaki α -SMA pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400.



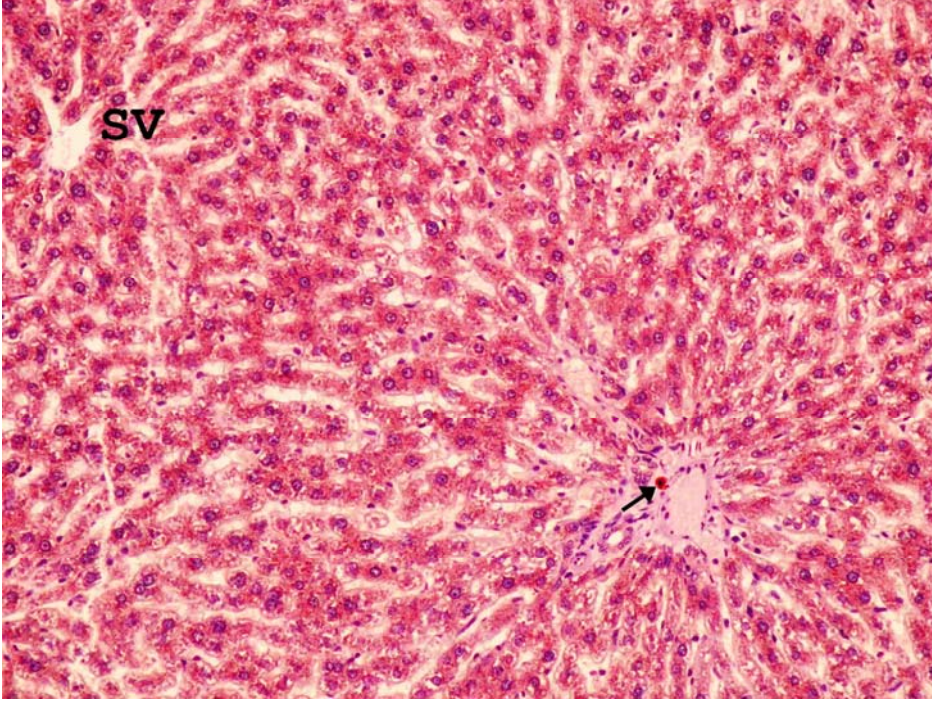
Resim 10. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması. Ok: Pozitif sitokeratin safra kanalları. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyması, X400.



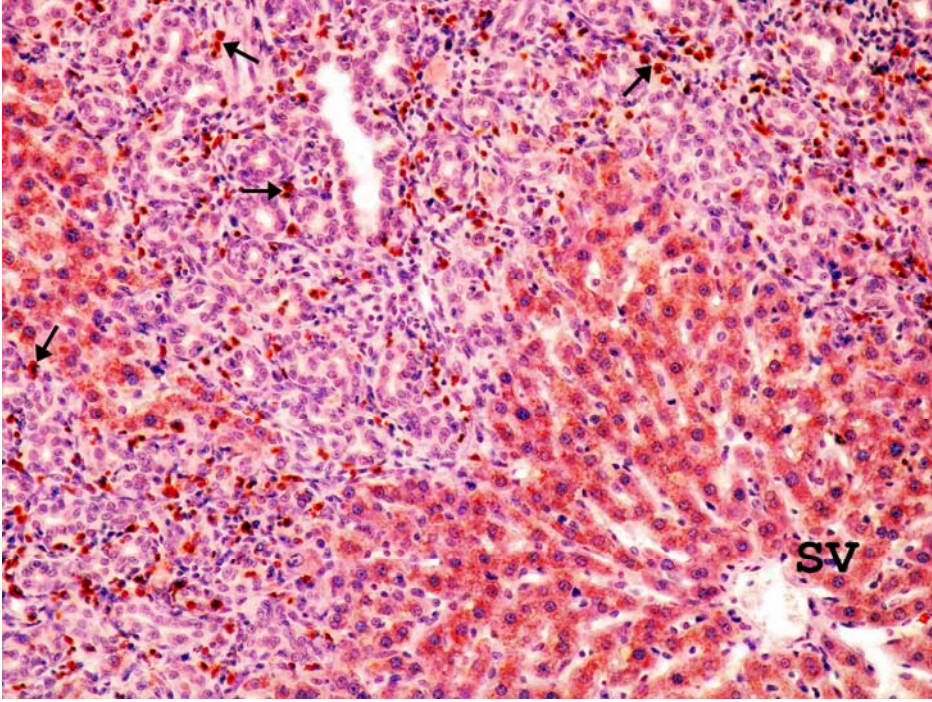
Resim 11. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması. Ok: Pozitif sitokeratin safra kanalları. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyması, X400.



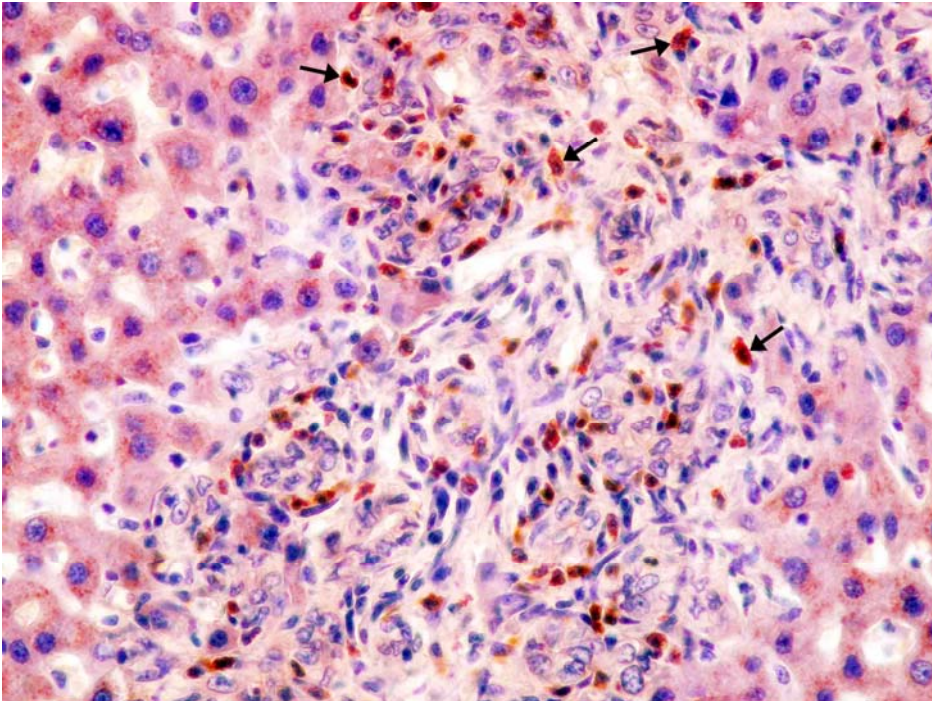
Resim 12. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması. Ok: Pozitif sitokeratin safra kanalları. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyması, X400.



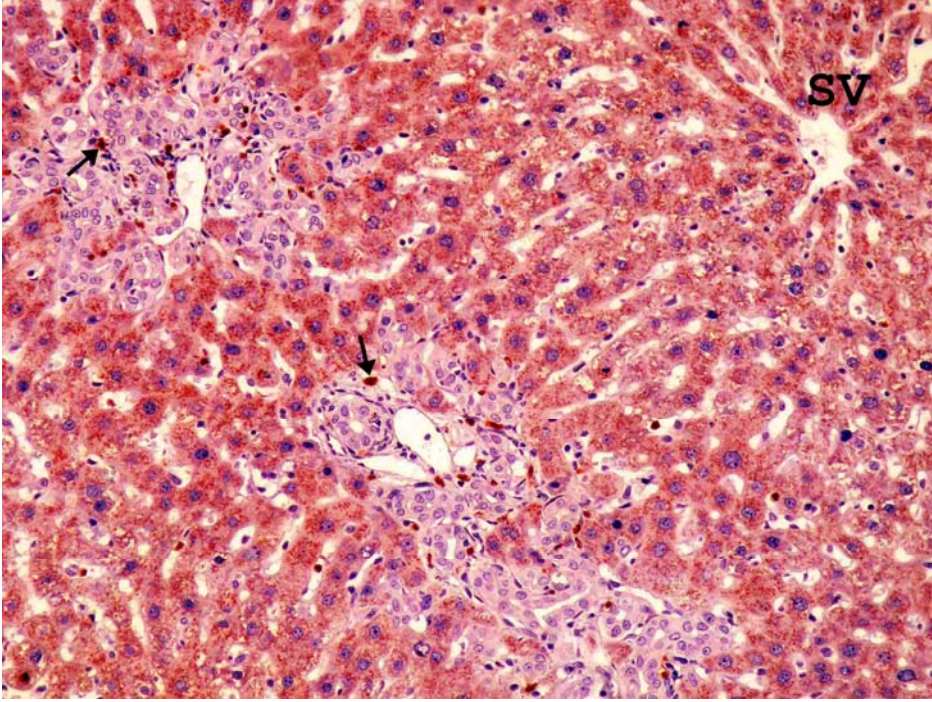
Resim 13. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması. Ok: Portal alanlardaki iNOS pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyması, X200.



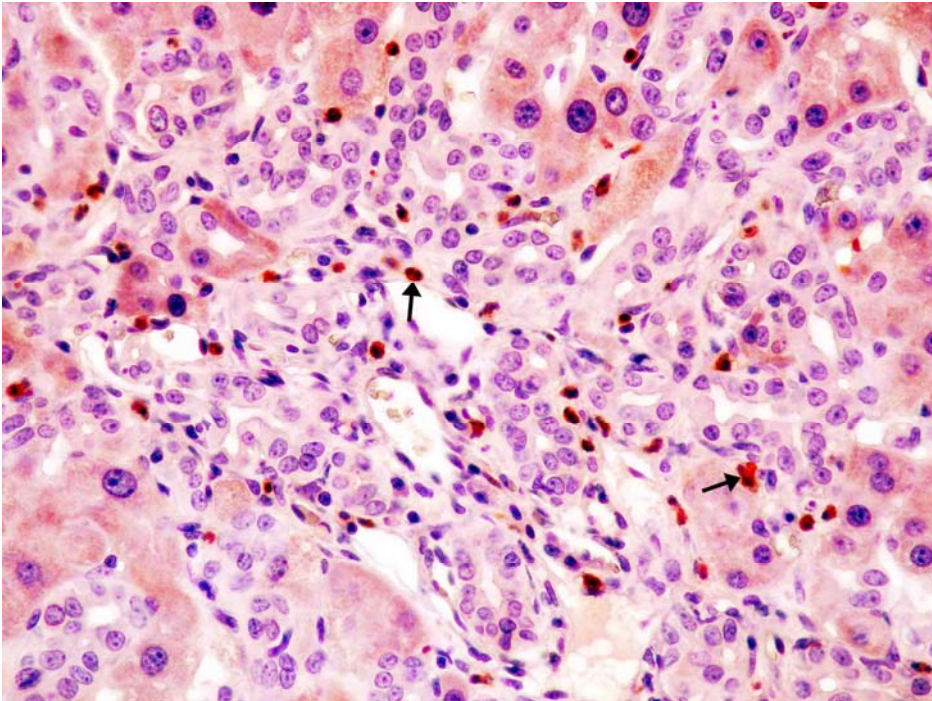
Resim 14. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması. Ok: Portal alanlardaki iNOS pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyması, X200.



Resim 15. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması. Ok: Portal alanlardaki iNOS pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyması, X400.



Resim 16. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması. Ok: Portal alanlardaki iNOS pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyması, X200.



Resim 17. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması. Ok: Portal alanlardaki iNOS pozitif immünreaktivite. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyması, X400.

TARTIŞMA

Kolestaz, ekstrahepatik ya da intrahepatik bilier basıncın artması ve safra tuzlarının karaciğer içinde birikimi ile karakterize olan patofizyolojik bir durumdur. Safra yolu tıkanmalarında artmış biliyer basınç (30-40 cmH₂O) ve safra stazı karaciğerde histolojik değişikliklere neden olur. Akut safra yolu tıkanıklıkları; kanaliküler kolestaz, safra duktus hücreleri proliferasyonu, portal traktüs değişiklikleri, kronik süreçte peri duktal bağ dokusu artışı ve fibroz tabakaların gelişimi ile sonuçlanır (52). Karaciğer fibrozisi yapısal ve metabolik bozukluklara bağlı olarak ortaya çıkan patolojik bir tablodur ve çok sayıda faktör buna neden olabilmektedir. HSH'ler, fibrozisin oluşmasında anahtar rol oynamaktadır. Aktifleşen bu hücreler miyofibroblast özelliği kazanmakta, kollajen tip I ve tip III artışı yanında ECM artışı da ortaya çıkmaktadır (96,97). ECM kompozisyonundaki hızlı değişiklikler, hasarlı hepatositler, kupffer hücreleri ve endotel hücreleri HSH aktivasyonunu başlatan uyaranlardır (56). Hepatik hasar ve fibrozisle sonuçlanan çeşitli karaciğer hastalıklarının patogenezinde serbest radikaller ve lipit peroksitleri de rol oynamaktadır. (98).

Hepatik fibrozis önceleri pasif ve irreversibl kronik karaciğer hasarı olarak tanımlanırken, günümüzde fibrozisin dinamik bir süreç olduğu ve kısmen reversibl olduğu kabul edilmektedir (99). HF, geri döndürülebilir dönemde tedavi edilirse başarı oranı yüksektir ve siroza gidiş önlenir. Sirozun önlenmesi veya ilerleyişinin kontrol edilmesi hala bir sorun olarak durmaktadır. Etkili ilaçların veya maddelerin bulunması için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Buna rağmen karaciğer fibrozisinin tedavisi için henüz hiçbir ilaç onaylanmamıştır.

Gelişmiş veya gelişmekte olan fibrozisi engellemek için çeşitli ilaçlar, antimitojenik faktörler, antioksidan maddeler, bitki ekstratları kullanılmasına rağmen fibrozis tedavisinde

belli bir standart bulunmamaktadır (100). Çalışmalar sonucunda malotilat (101), İnterferon (102), deksametazon (103), ACE inhibitörleri (104), kolşisin (105), sarımsak ekstresi (106) ve Tiazolidinedion grubu antidiyabetiklerin (107) fibroziste kısmen olumlu etkileri görülmüştür. Alloprunol, NAS, A, C ve E vitaminleri ise antioksidan olarak etki ederek, HSH aktivasyonunu engellemektedir (10,31,108). NAS in vivo ve in vitro çalışmalarda geniş kullanım alanı bulunan antioksidan bir maddedir. Güçlü antioksidan özelliği ile kanser tedavisinde, kalp hastalıkları, kolit ve pankreatitte, parasetamol toksisitesinde ve serbest oksidatif hasar ile karakterize olan durumlarda kullanılmaktadır (109,110). Hücre kültür ortamında NAS'ın fibroziste rol oynayan hücrelerin aktivasyonunu önleyici etkileri tanımlanmıştır (111). Ligasyon oluşturulup NAS ile tedavi edilen deneklerin glutasyon düzeylerinin azaldığı, AST ve ALT değerlerinin düştüğü ancak oksidatif stres değerlerinin değişmediği, histopatolojik bulguları ve inflamasyonu azalttığı saptanmıştır (112).

Safra kanalı ligasyonu oluşturulan sıçanlarda portal alanda fibrozisin uyarıldığı, erken evrede safra kanal epitellerinin ve çevresindeki fibroblastların çoğaldığı ve inflamasyonun arttığı gösterilmiştir (113).

Bataller ve ark. (27) hepatik stellat hücreler üzerinde etkili sitokin olan, prooksidan ve fibrojenik özellikleri bulunan anjiotensin II'yi koledok ligasyon modelinde test etmiş ve bu etkinliğin NADPH oksidaz ile kritik kontrolünün bulunduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada NAS uygulaması da olumlu etkinlik sağlayabilmiştir.

Vendemiale ve ark. (10) dimetil nitroz amin ile geliştirilen fibroz modelinde oksidatif stresin etkinliğini ve modelde NAS uygulamalarının oksidatif stres ile karaciğer fibroz parametrelerindeki etkinliğini çalışmışlardır. Bu çalışmada dimetil nitroz amin ile karaciğer fibrozu ve oksidatif stres tetiklenmiştir. NAS uygulaması ile fibroz markeri fibronektin düzeyi belirgin şekilde azaltılmış, hepatik glutasyon artırılmış ve MDA düzeyinin düştüğü görülmüştür.

Kawada ve ark. (111) hücre kültürü ortamında, sıçan hepatik stellat hücre ve Kupffer hücrelerinin fonksiyonları üzerine antioksidan ajanların etkilerini araştırmışlardır. Bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları, aynı zamanda karaciğer hasarından sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada resveratrol, quersetin ve NAS bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları yoluyla oluşan hasarı azaltmışlardır. Bu etki, kullanılan ajanların koruyucu özelliklerine bağlanmıştır.

Pereira-Filho ve ark. (114) yaptıkları çalışmada CCL₄ ile oluşturulan siroz modelinde NAS'ın oksidatif stres ve fibrozis üzerine koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Sadece siroz

oluşturulan gruptaki sıçanların karaciğer dokularındaki kollajen miktarının normal karaciğer dokusuna göre 5-6 kat arttığı görülmüştür. NAS verilen siroz grubunda ise kollajen miktarının sadece siroz grubuna göre anlamlı derecede azalma gösterdiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda da kontrol grubuna göre sadece ligasyon yapılan grupta fibrotik alanların oldukça fazla olduğu gözlemlendi. NAS verilen ligasyon grubunda ise sadece ligasyon yapılan gruba göre bağ doku artışının azalmasıyla, fibrotik alanların önemli derecede azaldığı gözlemlendi.

Tahan ve ark. (115) yaptıkları bir çalışmada NAS'ın koledok ligasyonu sonucu oluşan karaciğer hasarı tedavisinde oksidatif hasarı azaltıcı etkiye sahip olduğunu ancak hepatik fibrozisi önlemede etkili olmadığını göstermişlerdir. Sonuç olarak bu çalışmada NAS'ın biyokimyasal parametreler (AST, ALP) ve oksidatif stres parametreleri (MDA, luminol, glutatyon) üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir. Işık mikroskopik olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada sadece ligasyon grubundaki sıçanların Masson trichrome boyalı karaciğer kesitleri incelendiğinde; normal parankimal yapının bağ dokusu artış sonucu fibröz septumlarla çevrili nodüler yapıya dönüştüğü ve hepatosit dizilerinin bu nodüller içinde adacıklar şeklinde kaldığı görüldü. Portal alanlarda belirgin köprüleşmeyle birlikte nekrotik alanların varlığı saptandı. Ayrıca parankimal alanlarda sinüzoidal dilatasyon ve hepatosit dejenerasyonu ile birlikte, portal alanlarda da mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanalı proliferasyonu ve genişlemesi görülmektedir. NAS verilen ligasyon grubundaki sıçanların Masson trichrome boyalı karaciğer kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde ise deney grubuna göre fibrozisin önemli ölçüde azalmasıyla birlikte bağ dokusu artışında da azalma olduğu görüldü. Portal alanlardaki mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanalı proliferasyonu ve nekrotik alanlarda önemli derecede azalma tespit edildi. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak NAS'ın hepatik fibrozis tedavisinde koruyucu etkinliği olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir. Ayrıca çalışmamızda NAS'ın koruyucu etkinliği α -SMA, sitokeratin ve iNOS immünohistokimyasal boyamaları ile de gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede, α -SMA ve iNOS pozitif hücreleri ile sitokeratin pozitif safra kanallarının kontrol grubuna göre ligasyon grubunda önemli derecede artış gösterdiği görüldü. NAS tedavisi ile ligasyon grubuna göre α -SMA ve iNOS pozitif hücreleri ile sitokeratin pozitif safra kanallarında belirgin bir azalmanın olduğu görüldü.

Fibrozisten sorumlu tutulan HSH'lerin tanımlanmasında α -SMA immün boyaması sıklıkla kullanılmaktadır (116). Aksu ve ark. (117) safra kanalı ligasyonu ile oluşturulan kolestaz modelinde, karaciğer hasarı ve oksidatif strese karşı metilen mavisinin koruyucu

etkinliğini çalışmışlardır. Bu çalışmada α -SMA immün boyaması yapılan ligasyon grubunda α -SMA pozitivitesi, özellikle damarların düz kas hücrelerinde, fibrotik septalarda ve proliferen olan safra kanallarının etrafında görülmüştür. Metilen mavisi verilen tedavi grubunda ise ligasyon grubuna göre α -SMA pozitivitesinin azaldığı görülmüştür.

Bizim çalışmamızda da ligasyon grubunda pozitif α -SMA reaktivitesi damarların düz kas hücreleriyle birlikte sinüzoidlerin, proliferen olan safra kanallarının etrafında ve fibrotik septalarda gözlemlendi. NAS verilen tedavi grubuna ait karaciğerlerde yapılan incelemelerde ise ligasyon grubuna göre pozitif α -SMA reaktivitesinde belirgin bir azalmanın olduğu gözlemlendi. Elde ettiğimiz α -SMA immünohistokimyasal bulgular yukarıdaki çalışmada görülen immünohistokimyasal bulgularla benzerlik göstermektedir.

Aydoğdu ve ark. (118) yaptıkları çalışmada, kadmiyumun oluşturduğu karaciğer hasarına karşı taurin, melatonin ve NAS'ın koruyucu ve tedavi edici etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak, kadmiyum verilen ligasyon grubunda iNOS pozitif hücrelerin arttığı görülürken; taurin, melatonin ve NAS verilen gruplarda iNOS immünoaktivitelerinde azalma olduğu görülmüştür.

Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak ligasyon grubundaki portal alanlarda çok fazla sayıda iNOS pozitif hücrelerin olduğu gözlemlenirken, NAS verilen tedavi grubundaki portal alanlarda ise ligasyon grubuna göre iNOS pozitif hücrelerin belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Elde ettiğimiz iNOS immünohistokimyasal bulgular literatürle uyumluluk göstermektedir.

Beaussier ve ark. (119) yaptıkları çalışmada; karaciğerde iskemi ve safra kanalı ligasyon modeli ile oluşturulan kolestatik hasarda portal mezenkimal hücrelerin yara iyileştirme cevabını araştırmışlardır. Bu iki modelde histopatolojik olarak fibrozis ilerleme oranları ve fibrozisin duktular reaksiyonla ilişkisi incelenmiştir. Duktular reaksiyonu göstermek için sitokeratin immün boyaması yapılmıştır. Ligasyon yapılan gruplardaki karaciğerlerde pozitif sitokeratin reaktivitesi, duktular reaksiyonun artmasıyla birlikte belirgin bir artış göstermiştir.

Yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da ligasyon grubuna ait karaciğerlerde pozitif sitokeratin reaktivitesinin portal alanlardaki safra kanallarıyla birlikte proliferen olan safra kanallarının epitel hücrelerinde de oldukça belirgin olduğu gözlemlendi. NAS verilen grupta ise ligasyon grubuna göre safra kanalı proliferasyonundaki azalmayla birlikte pozitif sitokeratin reaktivitesinde belirgin bir azalmanın olduğu gözlemlendi.

SONUÇLAR

Safra kanalı ligasyonuna bağlı ortaya çıkan karaciğer hasarını önlemede, NAS tedavisinin etkisini histolojik açıdan incelemek amacı ile planladığımız çalışmada, bu ajanın deneklerimizde ligasyon ile oluşturulan karaciğer hasarını önemli ölçüde önlediğini gözlemledik.

Işık mikroskopisi altında histopatolojik incelemede inflamatuvar aktivite ve Masson trichrome boyamada fibrozis skoru, sadece ligasyon yapılan gruba göre NAS verilen ligasyon grubunda daha düşük bulundu.

Karaciğer dokusunun immünohistokimyasal boyamasında ise α -SMA ve iNOS pozitif hücreler ile sitokeratin pozitif safra kanallarının NAS verilen ligasyon grubunda sadece ligasyon yapılan gruba göre önemli derecede azaldığını gözlemledik.

Sonuç olarak çalışmamız; ligasyon ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı NAS'ın koruyucu etkisini histopatolojik ve immünohistokimyasal metodlarla ortaya koymuştur. Çalışmamızdan elde edilen verilerin literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Koledok ligasyonu safra akımının engellenmesi ve safranın karaciğerde birikimi ile karakterizedir. Sitotoksik safra asitleri karaciğerde fibroza ve nekroz yol açmaktadır. Bu çalışmadaki amaç, sıçanlarda koledok ligasyonu sonucu indüklenen karaciğer fibroz modelinde N-asetil sisteinin koruyucu etkilerinin olup olmadığını, ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal yöntemler ile incelemektir.

Çalışmada 24 adet Wistar Albino cinsi erişkin sıçan kullanıldı. Hayvanlar biri kontrol ikisi deney grubu olmak üzere toplam üç gruba ayrıldı. Safra kanalı ligasyonu oluşturmak amacıyla kontrol grubu dışındaki deneklerin koledok kanalı duodenuma yakın bölgede üst ve alt kısımdan bağlanarak kesildi. Karaciğer hasarını önleyebilmek amacıyla üçüncü grup deneklere; ligasyon uygulamasından hemen sonra başlanarak deney süresi olan 28 gün boyunca, 200 mg/kg N-asetil sistein intraperitoneal yoldan verildi. Yirmisekizinci gün sonunda bütün sıçanlar sakrifiye edildi ve karaciğer dokuları alındı. Alınan karaciğer dokuları mikroskopik incelemeler için işlemlendirildi.

Çalışmamızda ligasyon grubundaki sıçanların karaciğer dokularında, normal parankimal yapının bağ dokusu artış sonucu fibröz septumlarla çevrili nodüler yapıya dönüştüğü ve portal alanlarda belirgin köprüleşmeyle birlikte nekrotik alanların varlığı, sinüzoidal dilatasyon, hepatosit dejenerasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra kanalı proliferasyonu ve genişlemesi görülmektedir. N-asetil sistein tedavisi ile ligasyon grubuna göre karaciğer dokularında önemli derecede iyileşme görüldü. İmmünohistokimyasal boyamada, alfa düz kas aktin ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz pozitif hücreleri ile sitokeratin pozitif safra kanallarının ligasyon grubunda kontrol grubuna göre önemli derecede

artış gösterdiği görüldü. N-asetil sistein tedavisi ile ligasyon grubuna göre alfa düz kas aktin ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz pozitif hücreleri ile sitokeratin pozitif safra kanallarında belirgin bir azalmanın olduğu görüldü.

Sonuç olarak, safra yolu ligasyonuna bağlı gelişen karaciğer hasarının önlenmesinde N-asetil sisteinin olumlu etkiler gösterdiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Safra kanalı ligasyonu, N-asetil sistein, immünohistokimya, alfa düz kas aktin, sitokeratin.

THE PROTECTIVE EFFECTS OF N-ACETYL CYSTEINE ON BILE DUCT LIGATION INDUCED LIVER DAMAGE

SUMMARY

Common bile duct ligation is characterized by the prevention of bile flow and accumulation of bile in the liver. Cytotoxic bile acids in the liver lead to fibrosis and necrosis. The aim of this study is to determine whether N-acetyl cysteine has protective effects in liver fibrosis of rats induced by bile duct ligation model, with light microscopic and immunohistochemical methods.

In the study, 24 adult Wistar Albino rats were used. The subjects were divided into three groups; one control group and two experimental groups. In order to create bile duct ligation, the common bile ducts of rats, other than the control group rats, were cut by connecting the upper and lower parts, close to the region of duodenum. In order to prevent liver damage, the third group of rats was administered 200 mg/kg N-acetyl cysteine intraperitoneally starting immediately after ligation for 28 days. At the end of 28th day, all rats were sacrificed and liver tissues were taken. The liver tissues taken for microscopic examination were processed.

Our study, in the liver tissues of rats in ligation group, the normal parenchymal structures turned into nodular structure surrounded by fibrous septums as a result of an increase in the connective tissue and besides a significant bridging in the portal areas, the

presence of necrotic areas, sinusoidal dilatation, hepatocyte degeneration, bile duct proliferation and expansion, and mononuclear cell infiltration has been observed. Compared to the ligation group, the liver tissues showed significant improvement with the treatment of N-acetyl cysteine. It has been observed that in immunohistochemical stain, alpha smooth muscle actin, inducible nitric oxide synthase-positive cells, and cytokeratin-positive bile ducts ligation have significantly increased in ligation group compared to the control group. With N-acetyl cysteine treatment, alpha-smooth muscle actin and the inducible nitric oxide synthase positive cells and cytokeratin positive bile ducts were found to be significantly reduced compared to ligation group.

As a result, N-acetyl cysteine has been observed to have positive effects in the prevention of bile duct ligation induced liver damage.

Keywords: Bile duct ligation, N-acetyl cysteine, immunohistochemistry, alpha smooth muscle actin, cytokeratin

KAYNAKLAR

1. Montilla P, Cruz A, Padillo FJ, Tunez I, Gasson F. Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J Pineal Res* 2001;31:138-44.
2. Parola M, Leonarduzzi G, Robino G, Albano E, Poli G. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free Radical Biol Med* 1996;20:351-9.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Çeviri: U. Çevikbaş). Robbins Temel Patoloji, 7. Baskı. İstanbul: Nobel; 2003;16:596-9.
4. Garcia-Trevijano ER, Iraburu MJ, Fontana L, Dominguez-Rosales JA, Auster A, Covarrubias-Pinedo A et al. Transforming growthfactor β 1 induces the expression of α 1(I) procollagen mRNA by a hydrogen peroxide-C/EBP β -dependent mechanism in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999;29:960-70.
5. Shimizu I, Ma YR, Mizobuchi Y, Liu F, Miura T, Nakai Y et al. Effects of sho-saiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology* 1999;29:149-60.
6. Casini A, Ceni E, Sazano R, Biondi P, Parola M, Gali A et al. Neutrophil-derived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology* 1997;25:200-5.
7. Yükselen V. Karaciğer Fibrozisi: Tanım ve Etiyoloji. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(16):1-4.
8. Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? *N Engl J Med* 2001;344:452-4.
9. Göral V. Therapy of hepatic fibrosis. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(16):44-8

10. Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M et al. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;175:130-9.
11. Ozan H. Karaciğer. In: Ozan H. (Ed). *Ozan Anatomi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi; 2004.
12. Tietz Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics* (4nd ed). Elsevier Saunders 2006:1818-30.
13. John L. Cameron: *Liver anatomy*. *Current surgery* 2001:309.
14. Ratych ER, SmithWG. *Anatomy and physiology of the liver*. George D. Zuidema GE (Eds). *Surgery of the Alimentary Tract, Fourth Edition*. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1996:357-74.
15. Bayramiçli M. *Deneysel Mikrocerrahi*, 1. Baskı. İstanbul: ARGOS; 2005;6:684-7.
16. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM (Çeviri: M. Yıldırım). *Gray's Anatomy for Student*. Ankara: Güneş Kitabevi; 2007;4:285-306.
17. Guyton AJ, Hall JE (Çeviri: H. Çavuşoğlu). *Tıbbi Fizyoloji*, 10. Baskı. İstanbul: Nobel; 2001:724-52.
18. William A, Sodeman JR, Thomas M (Çeviri: Hekimler Birliği). *Vakfı Sodeman's Fizyopatoloji*, 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikler Yayınevi; 1992;2:954-56.
19. Yıldırım M. *Topografik Anatomi*, 2.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2004:251-3
20. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. *Basic Pathology*. 6th ed. W.B. Philadelphia: Saunders Company; 2000:516-9.
21. Junqueira LC, Carneiro J (Çeviri: Y. Aytakin, S. Solakoğlu). *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006:332-44.
22. Januire LC, Carneo J, Long JA. *Digestive Tract. Basic Histology Fifth Edition*. California: 1996:354-79.
23. [http://www.pathpedia.com/Education/eAtlas/Histology/Liver and bile ducts/Images.html](http://www.pathpedia.com/Education/eAtlas/Histology/Liver_and_bile_ducts/Images.html) adlı web sayfasından yararlanılmıştır. (Nisan, 2011)
24. Emre A. *Karaciğerin Cerrahi Anatomisi: Genel Cerrahi / İ.Ü.T.F. Temel Ve Klinik Bilimler Ders Kitapları*. Nobel Tıp Kitabevleri; 2002;2:1083-6.
25. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*. Güneş Kitabevi; 1995. s.341-4.

26. Williams P, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy. 37th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1992. p.1384-96.
27. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. J Clin Invest 2005;115:209-31.
28. Abraham L, Kierszenbaum MD (Çeviri: R. Demir). Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1.baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006:447-74.
29. Eroscheno VP (Çeviri: R. Demir). Di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle Ankara: Palme Yayıncılık; 2000:219-25.
30. http://www.meddean.luc.edu/lumen/MedEd/Histo/frames/h_fram19.html adlı web sayfasından yararlanılmıştır. (Nisan, 2011)
31. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepato-biliyer sistem hastalıklarındaki rolü. Kocatepe Tıp Dergisi 2004;5:1-8.
32. Bortolotti F, Guido M. Reversal of liver cirrhosis: a desirable clinical outcome and its pathogenic background. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2007;44(4):401-6.
33. Lidosfsky SD. Jaundice. In: Baccon BR, O'Grady JG, Di Bisceglie AM, Lake JR (Eds), Comprehensive clinical hepatology 2006:83-99.
34. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. Mol Aspects of Med 2000;21:49-98.
35. Moore KM. Karaciğer Safra Kesesi ve Safra Yollarının Gelişmesi. In:Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
36. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. baskı. Ankara: Tıp teknik yayıncılık; 1998:301-2.
37. Sadler TW. Karaciğer ve Safra Kesesi. In: Başaklar C (Ed). Langman's Medikal Embriyoloji. Ankara: Palme Yayıncılık; 2005.
38. Lauren JS. Formation of Liver. In: Hiram TG (Ed). Basic Concepts in Embryology: A Students Survival Guide. United States, McGraw: Hill Companies; 1998.
39. Peteorak I. Medikal Embriology. 2.Baskı. İstanbul: Beta Basım Yayım; 1986.
40. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. 19. ingilizce baskıdan çeviri. İstanbul: Barış Kitabevi; 1999. s: 529.
41. Müslümanoğlu M. Safra kesesinin selim hastalıkları: Genel cerrahi/ İ.Ü.T.F. temel ve klinik bilimler ders kitapları. 2002. s.1177.

42. From Blumgart LH, Hann LE. Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. In: Blumgart LH, Fong Y (Eds). Surgery of the Liver and Biliary Tract. London: WB Saunders; 2000. p.3-34.
43. Aran Ö. Safra yolları hastalıkları. Sayek İ (Editör). Temel cerrahi. 1996. s.1299.
44. Tekelioğlu M. Özel Histoloji, İnce Yapı ve Gelişme. Ankara: Antıp; 2002. s.79-86.
45. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter JC. (Çeviri: S. Mısırlıoğlu). Sarılık, bilirubin metabolizması bölüm 40: Cecil Essentials Of Medicine. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1995. p.323.
46. Yüzen Y, Öncel T, Engin S, Aldemir S, Akyıldız A. Tıkanma sarılıklarında mortalite ve morbiditeyi etkileyen faktörler. Ulusal Cerrahi Derg 1993;9:238-43.
47. Tontuş O, Coşkun S, Erengül C, Pişkinpafla M. Obstrüktif sarılıklı hastalarda cerrahi morbidite ve mortaliteyi etkileyen risk faktörleri. Klin Den Cerrahi Derg 1993;1:228-31.
48. Maingot's abdominal operations. In: Kahng KU, Roslyn JJ, Zinner MJ (Eds). Vol 1, 1997. p.315-51.
49. Greig JD, Krukowski ZH, Matheson NA. Surgical morbidity and mortality in one hundred twenty-nine patient with obstructive jaundice. Br J Surg 1988;75:216-9.
50. Pellegrini CA, Allegra P, Bongard FS, Way LW. Risk of biliary surgeryin patients with hyperbilirubinemia. Am J Surg 1987;154:111-7.
51. Mishra JP, Singh LN. Changes in serum protease inhibitors and liver specific enzymes in experimental jaundice. Inndian J Med Sci 1996;50:221-7.
52. Diagnostik liver pathology: Cholestasis an biliary obstruction. In: Lee RG (Ed). Mosby Company; 1994. Chapter 4. s. 81-107,
53. Desmet VJ. Morphologic and histochemical aspects of cholestasis. In: Popper H, Schaffner F (Eds). Progress in liver diseases vol. 4, New York: Grune Stratton; 1972; ch 7,97-132.
54. Friedman SL. In Diseases of the Liver. In: Schiff E, Sorrell M, Maddrey W (Eds). Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. p.371-86.
55. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. J Biol Chem 2000;275:2247-50.
56. Urtasun R, Nieto N. Hepatic stellate cells and oxidative stres. Rev Esp Enferm Dig. 2007;99:223-30.

57. Baroni GS, D'Ambrosio L, Curto P, Casini A, Mancini R, Jezequel AM et al. Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. *Hepatology* 1996;23:1189-99.
58. Karagöz İ, Haktanır A. Kronik karaciğer hastalıkları. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 2004;2:33-40.
59. Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. Karaciğer sirozu. *Gastroenterohepatoloji*. Nobel Tıp Kitapevi; 2001. s.449-500.
60. Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible? *N Engl J Med* 2001;344:452-4.
61. Vyas SK, Leyland H, Gentry J, Arthur MJ. Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture. *Gastroenterology* 1995;109: 889 -98.
62. Cerilli LA, Wick MR. Immunohistology of soft tissue and osseous neoplasms. In: Dabbs DJ (Ed.). *Diagnostic immunohistochemistry*. New York, Edinburg, London, Philadelphia: Churchill Livingstone; 2002. s.59-112.
63. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, Saibara T, Onishi S, Yamamoto Y et al. Immunohistochemical identification of Ito cells and their myofibroblastic transformation in adult human liver. *Virchows Arch* 1994;424(3): 249-56.
64. Ramadori G, Veit T, Schwögler S, Dienes HP, Knittel T, Rieder H et al. Expression of the gene of the α - smooth muscle-actin isoform in rat liver and in rat fat-storing (ITO) cells. *Virchows Archiv B Cell Pathol* 1990;59:349-57.
65. Schmitt GA, Krüger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinuzoidal cells of normal and diseased human livers. *Am J Pathol* 1991;138:1233-42.
66. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
67. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chadhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9.
68. Kilbourn RG, Traber DL, Szabo C. Nitric oxide and shock. *Dis Mon* 1997;47(5):277-348.
69. Weight SC, Nicholson ML. Nitric oxide and renal reperfusion injury: A review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1998;16(2):98-103.
70. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120(3):227-37.

71. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis* 2001;7(1):2-10.
72. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43(2):109-37.
73. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38(2):87-104.
74. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit: Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Ankara: Palme Yayıncılık; 2003. s.1-50.
75. Southan GJ, Szabo C, Thiemermann C. Isothioureas: potent inhibitors of nitric oxide synthases with variable isoform selectivity. *Br J Pharmacol* 1995;114(2):510-6.
76. MacMicking JD, North RJ, LaCourse R, Mudgett JS, Shah SK, Nathan CF. Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94:5243-8.
77. Karupiah G, Xie QW, Buller RM, Nathan C, Duarte C, MacMicking JD. Inhibition of viral replication by interferon-gamma-induced nitric oxide synthase. *Science* 1993;261:1445-8.
78. Clementi E, Brown GC, Feelisch M, Moncada S. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: Crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:7631-6.
79. Boughton-Smith NK, Evans SM, Hawkey CJ, Cole AT, Balsitis M, Whittle BJ et al. Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Lancet* 1993;342:338-40.
80. Kooy NW, Lewis SJ, Royall JA, Ye YZ, Kelly DR, Beckman JS. Extensive tyrosine nitration in human myocardial inflammation: Evidence for the presence of peroxynitrite. *Crit Care Med* 1997;25:812-9.
81. McKim SE, Gäbele E, Isayama F, Lambert JC, Tucker LM, Wheeler MD et al. Inducible nitric oxide synthase is required in alcohol-induced liver injury: Studies with knockout mice. *Gastroenterology* 2003;125(6):1834-44.
82. Moll R, Löwe A, Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas: A new diagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am Pathol* 1992;140:427-47.
83. Ramaekers F, Huysmans A, Schaart G, Moesker O, Vooijs P. Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody. *Exp Cell Res* 1987;170:235-89.
84. Coulombe PA, Omary MB. 'Hard' and 'soft' principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Curr Opin Cell Biol* 2002;14:110-22.
85. Ventresca GP, Cicchetti V, Ferrari V. Thiols, Medical Department, Zambon group, Italy: 1989. p.77-102.

86. Ahola T. Preventive Potential of N-Acetylcysteine in Oxidative Stress-Related Complications of Prematurity (Dissertation). Helsinki: Medical Faculty of the University of Helsinki; 2004.
87. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-Acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003;60:6-20.
88. Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Alt Med Rev* 1998;3(2):114-27.
89. Foresti R, Sarathchandra P, Clark JE, Green CJ, Motterlini R. Peroxynitrite induces heme oxygenase-1 in vascular endothelial cells: a link to apoptosis. *Biochem J* 1999;339:729–36.
90. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *J Toxicol Clin Toxicol* 1998;36:277–85.
91. Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. Goodman&Gilmous The pharmacological basis of therapeutres. p. 694-5.
92. Shaikh ZA, Vu TT, Zaman K. Oxidative stres as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;154:256–63.
93. Ablini A, Morini M, D’Agostini F, Ferrari N, Campelli F, Arena G et al. Inhibition of angiogenesis-driven kaposi’s sarcoma tumor growth in nude mice by oral N-acetylcysteine. *Cancer Res* 2001;61:8171-8.
94. Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Department of Toxicology, Karolinska Institutet, Sweden. Lung Protection by a Thiol-Containing Antioxidant: N-Acetylcysteine. 1986. p.31-42.
95. Criado M, Flores O, Ortiz MC. Elevated glomerular and blood mononuclear lymphocyte nitric oxide production in rats with chronic bile duct ligation: role of inducible nitric oxide synthase activation. *Hepatology* 1997;26:268-76.
96. Li CH, Pan LH, Yang ZW, Li CY, Xu WX. Preventive effect of Qianggan-Rongxian Decoction on rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2008;14:3569-73.
97. Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000;46:443-6.
98. Kaçmaz B, Öğüs E, Pasaoğlu H, Kılınç D, Tülek N, Bakır F. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda lipid peroksidasyonu ve oksidasyona direncin incelenmesi. *Viral Hepatit Dergisi*. 2001;7:374–8.
99. Türkdoğan MK, Ozbek H, Yener Z, Tuncer I, Uygan I, Ceylan E. The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* the prevention of carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* 2003;17:942–6.

100. Zakim D, Boyer T, Hepatology a text book of liver disease. Fourth Ed. Elsevier science 2003;13:407.
101. Ryhanen L, Stenback F, Ala-Kokko L, Savolainen ER. The effect of malotilate on type III and type IV collagen, laminin and fibronectin metabolism in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat. *J Hepatol* 1996;24:238-45.
102. Tasci I, Mas MR, Vural SA et al. Rat liver fibrosis regresses better with pegylated interferon alpha2b and ursodeoxycholic acid treatments than spontaneous recovery. *Liver Int* 2006;26:261-8.
103. Eken H, Öztürk H, Öztürk H, Büyükbayram H. Dose-related effects of dexamethasone on liver damage due to bile duct ligation in rats. *World J Gastroenterol* 2006;12:5379-83.
104. Park DH, Baik SK, Choi YH, Kim MY, Rhim DW, Kim JW et al. Inhibitory effect of angiotensin blockade on hepatic fibrosis in common bile duct-ligated rats. *Korean J Hepatol* 2007;13:61-9.
105. Castro V, Muriel P. Comparative study of colchicine and trimethylcolchicinic acid on prolonged bile duct obstruction in the rat. *J Appl Toxicol* 1996;16:269-75.
106. Gedik N, Kabasakal L, Sehirli O, Ercan F, Sirvanci S, Keyer-Uysal M et al. Long-term administration of aqueous garlic extract alleviates liver fibrosis and oxidative damage induced by biliary obstruction in rats. *Life Sci* 2005;76:2593-606.
107. Galli A, Crab D, Ceni E, Salzano R, Mello T, Svegliati-Baroni G et al. Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and HSC activation in vivo and in vitro. *Gastroenterology* 2002;122:1924-40.
108. Muriel P, Moreno MG. Effects of silymarin and vitamins E and C on liver damage induced by prolonged biliary obstruction in the rat. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004;94:99-104.
109. Ciralik H, Bulbuloglu E, Cetinkaya A, Kurutas EB, Celik M, Polat A. Effects of N-Acetylcysteine on Methotrexate-Induced Small Intestinal Damage in Rats. *The Mount Sinai J Med* 2006;73:1086-92.
110. Bruck R, Frenkel D, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Papa M et al. Hypothyroidism protects rat liver from acetaminophen hepatotoxicity. *Digestive Diseases and Sciences* 1999;44:1228-35.

- 111.Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and n-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998;27:1265–74.
- 112.Doğru-Abbasođlu S, Balkan J, Kanbağlı Ö, Çevikbaş U, Aykaç-Toker G, Uysal M. Aminoguanidin ve N-Asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004;5:27-32.
- 113.Aronson CD, De Haan J, James J. Quantitative aspects of the parenchymal-stroma relationship in experimentally induced cholestasis. *Liver* 1988;8:116–26.
- 114.Pereira-Filho G, Ferreira C, Schwengber A, Marroni C, Zettler C, Marroni N. Role of N-acetylcysteine on fibrosis and oxidative stress in cirrhotic rats. *Arq Gastroenterol* 2008;45(2):156-62.
- 115.Tahan G, Tarcin O, Tahan V, Eren F, Gedik N, Sahan E et al. The effects of N-acetylcysteine on bile duct ligation-induced liver fibrosis in rats. *Dig Dis Sci* 2007;52(12):3348-54.
- 116.Tuchweber B, Desmoulière A, Bochaton-Piallat ML, Rubbia-Brandt L, Gabbiani G. Proliferation and phenotypic modulation of portal fibroblasts in the early stages of cholestatic fibrosis in the rat. *Lab Invest* 1996;74:265-78.
- 117.Aksu B, Umit H, Kanter M, Guzel A, Aktas C, Civelek S et al. Effects of methylene blue in reducing cholestatic oxidative stress and hepatic damage after bile-duct ligation in rats. *Acta Histochem* 2010;112(3):259-69.
- 118.Aydoğdu N, Kanter M, Erbař H, Kaymak K. Kadmiyuma bağlı karaciğer hasarında taurin, melatonin ve asetilsisteinin nitrik oksit, lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidanlar üzerindeki etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 2007;29(2):89-96.
- 119.Beaussier M, Wendum D, Schiffer E, Dumont S, Rey C, Lienhart A et al. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries. *Lab Invest* 2007;87(3):292-303.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Karaciğerin histolojik yapısı.....	5
Şekil 2. Karaciğer lobülünün histolojik sınıflandırılması.....	6
Şekil 3. Safra yolları anatomisi.....	10
Şekil 4. Karaciğer hasarında (HF) meydana gelen sinuzoidal olaylar.....	15
Şekil 5. Sistein ve N-asetilsisteinin yapısal formülü.....	20
<u>Resimler</u>	
Resim 1. Kontrol grubuna ait karaciğerin normal histolojik görünümü. Masson trichrome.....	30
Resim 2. Ligasyon grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Masson trichrome.....	30
Resim 3. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğerin histolojik görünümü. Masson trichrome.....	31
Resim 4. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	32
Resim 5. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	32

Resim 6. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	33
Resim 7. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	33
Resim 8. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	34
Resim 9. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde α -SMA immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	34
Resim 10. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	35
Resim 11. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	35
Resim 12. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde sitokeratin immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	36
Resim 13. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	37
Resim 14. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	38
Resim 15. Ligasyon grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	38
Resim 16. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	39
Resim 17. Ligasyon+NAS grubuna ait karaciğer kesitinde iNOS immünboyanması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.....	39
<u>Tablolar</u>	
Tablo 1. Fibrozisin histopatolojik değerlendirilmesi.....	24
Tablo 2. İnflamasyonun histopatolojik değerlendirilmesi.....	24
Tablo 3. Kontrol, ligasyon ve ligasyon+NAS grupları arasındaki ışık mikroskopisi incelemesinde inflamasyon ve fibrosis skorları ve karaciğer dokusu sitokeratin, alfa düz kas aktin, indüklenebilir nitrik oksit sentaz immünreaktivitelerinin yoğunluğunun istatistiksel olarak karşılaştırılması.....	29

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İstanbul'da doğdum. Ortaöğretimimi İstanbul Avcılar Süleyman Nazif Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2005 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladım. 2009 yılında Biyolog ünvanımı alarak mezun oldum ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ


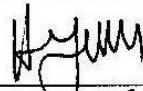
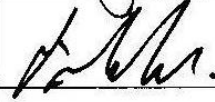
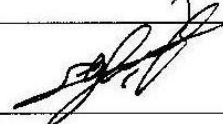

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 5

Karar Tarihi: 05.07.2010

KARAR NO: 2010/05.04

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Kanter'in yaptığı Biol. Uğur Dilekçi'nin Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2010/030 protokol nolu "Koledok Ligasyonunun Neden Olduğu Karaciğer Hasarına Karşı N-Asetil Sisteinin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	