

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Karaciğerde; viral hepatitler, alkol kullanımı, ilaçlar, metabolik hastalıklar ve kimyasal ajanlar gibi pek çok etken, akut ve kronik hasarlara yol açar (1,2,3,4,5). Hasarlanma süreci etkin bir rejenerasyon ve onarımla cevaplanmazsa normal karaciğer yapısı bozulur (2,6,7). Bundan dolayı siroza kadar gidebilecek karaciğer hasarlarının daha başlangıç döneminde engellenmesi önem kazanmaktadır.

Deneysel çalışmalarda pek çok etkenle karaciğer hasarı oluşturulabilmesine rağmen insandaki siroz gelişim sürecine benzerlik gösterdiği için, en çok tercih edilen ve kullanılan karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>)'dür (6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18).

CCl<sub>4</sub>, lipit peroksidasyonu oluşturarak oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Oksidatif hasarlarda, fibroblast ve hepatik stellat hücrelerinin kollajen gen transkripsiyonunu uyararak, karaciğer stellat hücrelerinin ve fibroblastların ekstrasellüler matriks ve kollajen sentezini gerçekleştirmelerini sağlar ve fibrozisi şiddetlendirir (19,20,21,22). Ayrıca hasarlarla uyarılmış olan Kupffer hücreleri; proinflamator sitokinler, tümör nekrozis faktör-a (TNF-a) ve interlekin-1h (IL-1 h) üretimini uyarırlar. Bundan dolayı, oksidatif stresin inhibe edilmesi ve inflamator sitokinlerin üretiminin önüne geçilmesi faydalı sonuçlar sağlayacaktır (2,23). Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak, malondialdehit (MDA) tayini bir ayıraç olarak kullanılmaktadır. CCl<sub>4</sub>, oluşturduğu serbest radikallerle, lipit peroksidasyonunu indüklemekte ve MDA düzeylerinde artışa sebep olmaktadır (24,25,26).

Oksidatif stresin fibrozis oluşumundaki katkısına benzer şekilde, pek çok hastalıkta aktif rol oynayan mast hücreleri, karaciğer hasarlarında da artış göstermektedir. Mast hücreleri, fibrojenik mediyatörler salarak; fibroblast gelişim, büyüme ve çoğalmalarını uyan faktörler üretmesi yanında; fibroblast ve stellat hücrelerinin (İto hücreleri) ekstrasellüler matriks üretimini ve kollajen sentezini artırarak, fibrotik sürece dahil olurlar. Ayrıca lökosit infiltrasyonu ve lokal inflamasyona yol açarlar (27,28,29,30,31).

CCl<sub>4</sub>, oksidatif hasarlar oluşturarak, malondialdehit (MDA) seviyesini yükseltmesi yanında, mast hücre sayılarını da hasarlanma sürecinde artırmaktadır (2,24,26,27,31).

E vitamini, uzun yıllardır güçlü antioksidan etkisi nedeniyle üzerinde çalışılan ve terapötik gücünden faydalanılan bir ajandır. E vitamini, antioksidan etkinliği ile peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize eder; lipit yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur (32,33,34). Doymamış yağ asitleri ve diğer yağları içeren hücre ve organellerin membranlarına yerleşerek oksidatif hasarlardan korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (35,36,37,38,39).

Karaciğer hasarlarının önlenmesinin bir göstergesi de; MDA değerlerinin ve artan mast hücre sayısının azalmasıdır. Literatür taramasında E vitamininin CCl<sub>4</sub>'e bağlı karaciğer hasarları ile mast hücre sayısı arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmadı. Bu çalışmanın amaçlarından biride bu ilişkinin belirlenmesini sağlamaktır.

Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub>'e bağlı karaciğer hasarlarında; histopatolojik inceleme yanında, mast hücre sayılarının değerlendirilmesi ve biyokimyasal olarak MDA ölçümü ile E vitamininin koruyuculuğunun araştırılarak deneysel ve klinik çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. KARACİĞER**

#### **2.1.1. KARACİĞERİN MORFOLOJİK YAPISI**

Karın boşluğunda yer alan organların ve aynı zamanda vücuttaki bezlerin en büyüğü olan karaciğer, sağ tarafta diyafragmanın altına yerleşmiştir. Yaklaşık 1500 gr ağırlığında olup, kırmızı-kahverengi görünümündedir (40,41,42).

Histolojik olarak karaciğer; lobüllerden yapılmış olup, organda bir parankima bir de stroma ayırt edilir. Karaciğer, hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülü (Glisson kapsülü) ile örtülüdür. Hilum bölgesinde bu kapsül organın içerisine girerek gittikçe incelen trabekülalar oluşturmaktadır. Bu şekilde karaciğer fizyolojik ve morfolojik olarak birbirine eş değerde çok sayıda küçük bölgelere ayrılmış olur ki, bu bölgelere "Karaciğer Lobülleri" adı verilir. Bu nedenle karaciğer, lobüler bir bez karakteri göstermektedir. Karaciğer lobüllerinin şekillenmesinde, karaciğer dolaşımının yanısıra stromasında büyük rolü vardır (40,41,42,43).

Deve ve domuz gibi bazı hayvan türlerinde karaciğer lobülleri arasındaki bağ dokusu fazlaca gelişerek, lobülü tümüyle sarar. Bu tür hayvanlarda karaciğer lobüllerinin sınırı kesin olarak belli olur. Diğer tür memeliler ile insanda, bağ dokusu sadece lobüllerin köşe kısımlarında bulunduğu ve lobüllerin yüzeyleri birbirine değdiğinden, her bir lobüle ilişkin sınırları belirlemek zordur (40,41,43). Lobüller arası bağ dokusu, diğer bir deyimle organın stroması, özellikle birkaç lobülün birbirlerine köşeleri aracılığıyla temas ettiği yerlerde fazlaca gelişmiştir. Bunlar üçgen görünümündedir. Bağ dokusunun fazlaca bulunduğu bu bölgelere; Kiernan aralığı, Glisson üçgeni, portal alan, portal aralık veya periportal alan denilmektedir. Burada bir arter (A. hepatica'nın dalı), bir ven (V. porta'nın dalı olan V. interlobularis) ve bir safra kanalcığı (Ductuli biliferi) bulunmaktadır (40,42,43).

## 2.1. 2. KARACİĞERDE KAN DOLAŞIMI

Karaciğerde biri fonksiyonel, diğeri arteryel olarak nitelendirilen ikili bir dolaşım söz konusudur. Fonksiyonel olan dolaşım vena porta ile başlar ve kanın % 70-80'ı bu yolla gelir. Vena porta abdominal organlardan gelen oksijenden fakir, besinden zengin kanı taşır. Arteryel dolaşım ise hepatik arterle başlar ve kanın geri kalan kısmı bu yolla gelir. Hepatik arter ise oksijenden zengin kanı karaciğere getirir (40,41,42).

Fonksiyonel damar sisteminin karaciğer içindeki dağılımı şu şekildedir (41):

- 1.Vena interlobaris,
- 2.Vena interlobularis,
- 3.İntra-lobular venöz sinuzoidler,
- 4.Vena centralis,
- 5.Vena sublobularis (V.kolligentes,toplayıcı venler),
- 6.Vena cava inferior.

Besleyici kan dolaşımı da şu şekildedir:

- 1.Arteria hepatica,
- 2.Arteria interlobaris,
- 3.Arteria interlobularis,
- 4.İntralobular venöz sinüzoidler.

Lenf damarlarıyla taşınan kompleks lipidler (şilomikronlar) dışında ince bağırsaklardan emilen maddelerin büyük bir kısmı portal ven yoluyla karaciğere gelir. Karaciğer, dolaşım sistemindeki yerine uygun olarak ta,

metabolitlerin toplanması, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin nötralize ve elimine edilmesi için çok uygundur (42).

### **2. 1. 3. KARACİĞERİN LOBÜL YAPISI**

Karaciğer kendini çevreleyen bağ dokusundan oluşmuş bölmelerle belirli loblar ve daha ince bağ dokusunun çevrelediği altıgen lobüller içerir. İşlevsel birim olarak ele alınan lobül; merkezinde ven yapısı olmak üzere onun etrafında ışınsal tarzda dizilmiş karaciğer hücrelerinden oluşur. Hücreler belirli aralıklarla (perisinuzoidal aralık) yerleşim göstererek sinuzoid tipi kapiller yapıyla (karaciğer sinüzüoidleri) birlikte, vena sentralisin çevresinde ışınsal düzende dizilmişlerdir. Karaciğer hücrelerinin diğer bir özel yapısı; karaciğer hücreleri arasında yer alan intralobüler safra kanalcıklarıdır. Hücrelerin arasında bağlantı yapılarının ve birbirlerine bakan yüzeylerinde membran girintilerinin oluşturduğu lobül içi safra kanalcıkları sistemi bulunur. Lobülü çevreleyen ince bağ dokusu içerisinde; lobülle ilişkisi olan damar ve kanal yapıları yer alır. Hilusta belirtilen vena porta, arteria hepatica ve safra kanalının lobül çevresinde aynı fonksiyona sahip dallanmış ince örnekleri gözlenir. Komşu lobüllerin irileşen köşelerinde bu yapıların birlikte bulunduğu alan Glisson üçgeni veya portal alandır (40,43).

Lobülleri ayıran ince bağ dokusunun çevrelediği bu alanda arteriola interlobülaris, vena interlobülaris, duktuli interlobülaris (safra kanalı) ve lenf kapilleri kesitleri gözlenir. Lobülün merkezindeki ven, vena sentralis diye adlandırılmaktadır. Lobülün çevresinden arteriyola interlobülaris ve vena interlobülaristen lobül içine geçen kan sinuzoid boyunca karışarak lobül merkezine doğru akarak vena sentralise ulaşır ve dolaşım devam eder. Karaciğer hücrelerince sentezlenen ve hücreler arası kanalcıklar sistemi ile lobülden dışarı verilen safra; lobül merkezinden lobül çevresine doğru yönelmiştir. Karaciğerin lobül yapısı; lobül içi ve çevresini oluşturan yapılar kriter alınarak değişik biçimlerde adlandırılmaktadır (41,43).

### **2.1.3.1. Klasik Karaciğer Lobülü**

Merkezi vena sentralis olacak şekilde ışınal düzen gösteren hücreler ve lobül çevresi bağ dokusundan oluşmuştur. Çok köşeli ve altıgen biçimli bu yapı, klasik lobülün tipik biçimini belirtir. Karşılaşan lobül köşeleri portal alanları oluşturur. Klasik lobülün çevresindeki bağ dokusu insanda az belirgin, bazı hayvan türlerinde ise daha belirgindir (40,41,42,43).

### **2.1.3.2. Portal Lobül**

Birbirine komşu üç klasik lobülün merkezindeki vena sentralistler arasındaki üçgen alanlar olarak tarif edilir. Portal alanı, üçgenin ortasında bırakır. Bu şekilde yapılan tanımlamanın karaciğerin tipik ekzokrin bez organizasyonuna uygun olduğu belirtilmiştir. Bu lobulasyonda safra salgısı, merkezden perifere doğru akar (41,43).

### **2. 1.3.3. Karaciğer Asinusu**

İki vena centralis ve iki komşu lobül sınırındaki portal alanlarda yer alan Venulae perilobularis eksen olmak üzere belirlenen karaciğer parankiması, karaciğerin en küçük fonksiyonel birimi olan, karaciğer asinusu olarak tanımlanır (41,42,43).

Böylece, iki komşu lobül segmentlerini kapsayan karaciğer parankimasının oluşturduğu birimde; kan, venulae ve arteriolae perilobularis'lerden iki tarafa Vena sentralis'lere doğru akmaktadır (41).

Karaciğer asinusunda prizmatik yapılanmayla ilgili olarak üç tane zon bölgesi tanımlanmıştır. Eksene en yakın parankim bölgesi 1.zon, bunu izleyen bölge 2. zon ve asinusun vena sentralise komşu olan parenkimal bölgesi ise 3. zon bölgesini oluşturmaktadır. 1. zon, kandan beslenme bakımından en iyi yararlanan bölgedir. Ayrıca, karaciğer dokusunun rejenerasyonu gerektiğinde, bu bölge çabuk yenilenir. Buna karşın, 3. zon'a doğru kan daha az besleyicidir ve bu karaciğer dokusunda yenilenme uzun sürer. Diğer bir deyişle, 3. zon karaciğerdeki bozulmalara az dirençli bir bölgedir (41,42).

#### 2.1. 4. KARACİĞER HÜCRELERİ (HEPATOSİTLER)

Karaciğer hücreleri olan hepatositler, altı veya daha fazla yüzeye sahip ve 20-30 mikrometre çapındadır. Hepatositlerin sitoplazması hematoksilin eozin boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz endoplazmik retikulumun bulunması nedeniyle eozinofiliktir. Portal triadlardan farklı uzaklıklardaki hepatositler, yapısal, histokimyasal ve biyokimyasal farklılık gösterirler. Herbir karaciğer hücresinin yüzeyi; diğer hepatositlerin yüzeyi ve disse aralığı boyunca sinüzoidlerin duvarıyla temas halindedir. Hepatositler arasında gap junctionlara sık rastlanır. Bunlar hücrelerin fizyolojik aktivitelerinin koordinasyonunda. önemli olan hücreler arası iletişim bölgeleridir (42,43).

Karaciğer hücresi, bir veya iki tipik nükleolus içeren, bir ya da iki nükleusa sahiptir. Nükleusların % 40-60'lık bir kısmı poliploiddir yani haploid kromozom sayısının çift katları kadar kromozom içerirler. Poliploid nükleuslar diğer nükleuslara oranla daha büyüktürler. Hepatositlerin çoğunluğu tek nükleuslu olmasına rağmen %25'lik kısmı çift nükleus taşırlar (42). Işık mikroskopunda bakıldığında sitoplazmada bazofilik cisimler görülmektedir. Elektron mikroskopunda bu cisimlerin granuler endoplazmik retikulum (GER) olduğu görülmektedir (43). Ayrıca sitoplazmada poliribozomlar da bulunmaktadır. Poliribozomlarda kan albumini, fibrinojen gibi birkaç tip proteinin sentezi yapılır.

Sitoplazma içinde diffüz olarak yayılmış halde bulunan granülsüz endoplazmik retikulum (AER) bu hücrelerin belirgin organellerindedir. Hücrenin aktivite durumuna göre, hücre içindeki sayısı değişim göstermektedir. Organel bir seri maddeleri yapmak (çeşitli lipidler ve prostoglandinler gibi ) ve alınan ilaç ve toksik maddeleri vücut için zararsız hale getirilmesi gibi önemli işlevleri yerine getirmektedir (42,43).

Karaciğer hücresi yaklaşık 200 mitokondri içerir (42). Bu hücrelerde bulunan mitokondriler genişlemiş tübüler ve lameller kristalli tiptedir. Kristalli mitokondriler, hepatosit metabolizması ile ilgili sayı ve içyapı değişiklikleri

gösterirler. Hepatositlerin çok sayıda mitokondri içermesinin nedeni metabolik aktivitelerinin yüksek olmasından dolayıdır (41).

Hepatositlerde golgi kompleksleri çok sayıdadır(her hücrede yaklaşık 50 adet). Her bir golgi kompleksi; yassılaştırmış sisternalar, küçük veziküller ile karaciğer hücrelerinde çekirdeğin çevresinde ve safra kanallıkülü yakınında yer alan büyük vakuollerden oluşmuştur. Bu organelin fonksiyonları arasında albumin gibi plazma proteinlerinin, transferrin gibi glikoproteinlerin ve çok düşük dansiteli lipoproteinlerin (VLDL) salgılanması ve lizozomların oluşturulması yer almaktadır (42,43).

Karaciğer hücrelerindeki lizozomlar sindirici ve eritici fonksiyonları ile tanınırlar ve normalde yabancı maddelerin katabolize edilmesini sağlarlar. Depo edilmiş enerji veren maddeleri gerektiği yerde kullanılması için harekete geçirirler ve demir depo etme özellikleri de vardır. Viral hepatitte artarlar (41).

Lizozomların yanı sıra hepatositlerde, peroksizomlar da bulunur. Membranla sarılmış olan peroksizomlar, hidrojen peroksit açığa çıkartan yüksek miktarda oksidazlar içermektedir. Hidrojen peroksitin toksik bir metabolit olması nedeni ile katalaz enzimi bu ürünü oksijen ve su açığa çıkartacak şekilde yıkıma uğratır (44).

Karaciğer hücrelerinde sitoplazmada yaygın olarak bulunan, elektro yoğun X-partikülleri olarak adlandırılan glikojen granülleri izlenir. Glikojen kandaki glikozun yoğunlaşmış deposudur (43).

Hücre içinde bulunan lipidler membranla çevrili olmayıp elektron yoğun lipid damlacıkları halindedir. Hücre içindeki miktarları toksik ajanlarla artış göstermektedir (43).

## **2.1. 5. KARACİĞER SİNÜZOİDLERİ**

Hepatositler, karaciğer lobülü içerisinde ışınal olarak bir duvarın tuğlalarına benzer biçimde bir ya da iki hücre kalınlığında bir tabaka oluşturacak biçimde dizilmişlerdir. Bu hücre plakları lobülün periferinden



merkezine doğru yönelmişlerdir. Labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı oluşturacak şekilde serbestçe anastomozlaşırlar. Bu plaklar arasındaki boşlukta kapillerler bulunur ve bu kapillerlere karaciğer sinüzoidleri denir. Sinüzoidal kapillerler; kesintili ve pencereci endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. Pencereci yaklaşık 100 nanometre çapındadır ve eleğe benzer bir görünüme sahiptir (41,42).

Endotel hücreleri altında bulunan hepatositler sinüzoid duvarından “Disse aralığı” adı verilen subendotelyal bir boşlukla ayrılmıştır. Bu aralıkta hepatositlerin mikrovillusları bulunur. Sonuç olarak; kan sıvısı ve oksijen endotel duvarından kolayca geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder. Böylece sinüzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında makromoleküllerin alışverişi kolaylıkla sağlanır. Bu geçiş, sadece çok sayıda makromoleküllerin (örn: lipoproteinlerin, albumin, fibrinojen v.b.) hepatositler tarafından kana verilmesi nedeniyle değil; aynı zamanda bu makromoleküllerin çoğunun hepatositlerce alınıp katabolize edilmesiyle fizyolojik bir önem taşır (42).

Duvarın tipik hücreleri: a) endotel b) Kupffer c) perisinüzoidal yağ depolayıcı hücrelerdir.

a) Sinüzoid duvarını oluşturan endotel hücreleri birbirleri ile sıkı bir bağlantı yapısı göstermezler. Epitel ve bazal lamina sinüzoid duvarı boyunca kesinti gösterir. Endotel hücreleri ince sitoplazmasında içerdiği porlarla (deliklerle) fenestratalı tiptedir. Kan ile gelen oksijen ve metabolik maddeler kapillerden Disse aralığını geçerek hepatositlere belirgin bir engelle karşılaşmadan kolayca ulaşırlar (43).

b) Sinüzoid duvarında ikinci hücre tipi, aynı zamanda mononükleer fagositer sisteme dahil edilen hücrelerden olan Kupffer hücreleridir. Kan monositlerinden köken alırlar ve fagositoz yetenekleri vardır. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde belirli aralıklarla bulunurlar. Elektron mikroskobu ile bakıldığında hücre gövdesinde kısa sitoplazmik uzantıları gözlenir (43). Peroksidaz yöntemi ile pozitif boyanırlar. Endotel hücrelerinden daha büyüktürler; nükleusları, oval ve büyük bir nükleolusa sahiptir ve soluk boyanır. Kupffer hücrelerinin başlıca fonksiyonları; yaşlı eritrositleri

metabolizme etmek, hemoglobini ve immünolojik olaylarla ilgili proteinleri sindirmektir (42). Bu hücrelerin fagositoz yeteneğini asit-viral boyalar ile (Örneğin:Trypan blue) gösterilebilme olasılığı vardır. Bundan başka kupffer hücrelerinin antikor yapımında da rolleri vardır (40).

c) Sinüzoid duvarında yer alan bir diğer hücrede yağ depolayıcı hücrelerdir. Bu hücrelere aynı zamanda "İto hücreleri" de denilmektedir. Disse aralığına yerleşmiş yıldız hücrelerdir. Bu hücrelerin sitoplazmasında çok miktarda yağ damlacıkları bulunmaktadır. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptirler. Yağda eriyen A vitamini bu hücrelerde birikir (42).

Disse aralığında bulunan diğer bir hücre ise "Pit hücreleri"dir. Bu hücreler bazı hayvan türlerinde bulunup immün sisteme dahil edilmektedir (43).

#### **2.1. 6. SAFRA KANALCIKLARI**

Karaciğerin ekzokrin tipte salgısı olan safranin hücreler arası iletildiği kanalcıklardır. Karaciğerde sentezlenen safra salgısı giderek genişleyen safra kanalcıkları sistemiyle, karaciğer hücrelerinden ince bağırsağa ulaşır. Bu küçük kanalcıkların çapı 0,5-1,5  $\mu$  arasındadır. Rutin incelemelerde safra kanaliküllerini seçebilmek zordur. Ancak gümüşleme ile ya da alkalin fosfataz reaksiyonu ile seçebilmek mümkündür. Kanalcıkların duvarını karaciğer hücreleri oluşturmaktadır (42,43).

Hücreler arasında safra salgısının kanalcık dışına sızmasını önleyen sıkı tipte (zonula adherens) bağlantılar yer almaktadır. Bu kanalcıklar lobülün kenarındaki "Herring kanalcıkları" ile devam eder (43).

Her lobülde 12-15 tane Herring kanalı bulunmaktadır. Herring kanalları lobüllerin periferinde yerleşmiş, tek sıra kübik epitelle döşeli 20  $\mu$  çapında dar ve kısa kanalcıklardır. Hücreler arasındaki safra salgısının kanalcık dışına sızmasını önler. Kanalcıklar içerisinde bulunan safra, lobülün merkezinden periferine doğru akış gösterir. Safra, lobülden çıktıktan sonra

lobül arasında yer alan lobüller arası safra kanalları aracılığı ile lobüller arasından toplanarak karaciğerden çıkar (40).

### **2.1.7. KARACİĞERİN LENF DAMARLARI**

Lenf sıvısının büyük bir bölümü karaciğerde üretilir ve karaciğer lenfi diğer bölgelerinkinden daha fazla miktarda plazma proteini içerir. Lenfatik damar ağı lobüller arasında başlar, porta hepatis'e doğru giderek birleşen damarlar biçiminde bir yapı gösterir. Portal alanda diğer yapıların yanı sıra lenf kapilleri izlenir. Hücrelerde üretilen lenf sıvısı çapı ve duvar kalınlığı kalınlaşan lenf damar sistemi ile karaciğer dışına iletilir (43).

### **2.1.8. KARACİĞERDE HÜCRE YENİLENMESİ (REJENERASYON)**

Karaciğer hücreleri yavaş yenilenmesine karşın devamlı olarak yenilenirler. Karaciğer dokusunun toksik ajanların etkisiyle ya da cerrahi yolla çıkarılması, karaciğer hücrelerinin bölünmesini başlatan ve dokunun orijinal kitlesi oluşuncaya kadar devam eden bir süreci meydana getirir. Sıçanlarda karaciğer %75'lik bir kaybı bir ayda yenileyebilir. Ancak insanda bu kapasite sıçanlara göre oldukça sınırlıdır. Karaciğerdeki rejenerasyon olayının dolaşımdaki şalon adı verilen maddeyle kontrol edildiği düşünülmektedir. Toksik ajan etkisi ve doku çıkarılması gibi durumlarda şalon miktarının düşmesine bağlı olarak hızlı bir mitoz olayı başlar. Rejenerasyon olayı ilerledikçe şalon miktarı artacak ve buna bağlı olarak mitotik aktive azalacaktır. Rejenerasyon sonucu oluşan karaciğer dokusu, genellikle kaybedilen dokuya benzer. Eğer organa gelen hasar süreklilik gösterirse karaciğer hücre yenilenmesi ile aşırı bağ dokusu artışı aynı zamanda meydana gelir. Bu aşırı bağ dokusu artışı nedeniyle karaciğer yapısında bir organizasyon bozukluğu meydana gelir ve bu durum ilerleyerek siroz oluşturabilir (42).

### **2.1.9. KARACİĞERİN GÖREVLERİ**

Karaciğer hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyon gösteren vücudun çok yönlü bir organıdır (42).

### **2.1.9.1. Protein Sentezi**

Karaciğer hücresi, kendisi için ürettiği proteinlere ek olarak albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler gibi plazma proteinlerini de sentezler. Bu proteinlerin sentezi granuler endoplazmik retikuluma bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer bez hücrelerinin aksine, hepatositler proteinleri sitoplazmada depolamayıp, kan dolaşımına vererek endokrin bir bez özelliği gösterirler. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin % 5'lik bir kısmı Kupffer hücreleri tarafından üretilmektedir (42).

### **2.1.9.2. Safra Salgılanması**

Karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri de safranın üretilmesidir. Hepatositler kan komponentlerini alıp, dönüştürerek safra kanalikülleri içine salgılayarak ekzokrin faaliyetlerini yerine getirmiş olurlar (42,43). Safra sıvısı içerisinde; su, elektrolitler, safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol, bilirubin bulunur. Bu maddelerin % 90'ı distal intestinal epitelden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığıyla kandan safra kanaliküllerine taşınır. Safra asitleri sindirim sisteminde lipidlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir fonksiyon görerek bunların lipaz ile sindirilmesini sağlar. Büyük bölümü hemoglobinin parçalanması sonucu meydana gelen bilirubin mononükleer fagosit sistemde oluşur ve hepatositlere taşınır. Hepatosit düz endoplazmik retikulumunda; suda çözünmeyen bilirubin, glukuronik asitle konjuge edilir ve suda çözünebilen bilirubin glukronid oluşur ve daha ileri aşamada, bilirubin glukronid safra kanalikülleri içerisine salgılanır (42).

### **2.1.9.3. Detoksifikasyon ve inaktivasyon**

Düz endoplazmik retikulumda bulunan enzimler çeşitli ilaçlar ve maddelerin oksidasyon, metilasyon, ve konjugasyon ile inaktive ederler. Glukuronik asidi bilirubine konjuge eden bir enzim olan glukuronil transferaz, steroidler, antihistamikler ve antikonvilzonlar gibi başka bileşiklerin konjugasyonunda sağlar (42,43).

## 2.2. E VİTAMİNİ

### 2.2.1 E VİTAMİNİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilen bu maddeye 1924 yılında Sure tarafından "E vitamini" ismi verilmiştir (45). Yağda çözünen E vitamini, ince bağırsaktan emilir ve kan yoluyla karaciğere iletilir (6,37,38).  $\alpha$ -tokoferol tekrar kana salınır. Alfa tokoferolün görevini yerine getiren maddeler E vitamini olarak adlandırılmaktadır (38). Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan en aktif olanı  $\alpha$ -tokoferoldür (46).  $\alpha$ -tokoferol plazmadaki E vitamininin %80-90'ını oluşturmaktadır ve dokudaki major E Vitamini formudur. Bunun sebebi  $\alpha$ -tokoferolün LDL içinde öncelikle reinkorporasyonuna (tokoferol bağlayıcı protein (TBP) yoluyla ve  $\gamma$ -tokoferol'ün karaciğerde çabuk yıkılmasına bağlıdır. Bu yüzden  $\alpha$ -tokoferol üstüne daha çok odaklanılmıştır ve E vitamini suplemantasyonunun major formudur.  $\alpha$ -tokoferol kanda  $\gamma$ -tokoferol'den 4-10 kat fazladır (38,47).

E vitamini doğada yaygın olarak bulunan bir vitamindir. Bitkisel yağlar E vitamini bakımından zengindir (46). Ayrıca hububat tanelerinin yağ fraksiyonları pamuk yağı, soya yağı, mısır yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlarda ve bunlardan elde edilen margarinlerde (45), ayrıca orta derecede karaciğer ve yumurtada (46) bulunur. Günlük besinin önemli bir kısmını oluşturan hububat türleri E vitamini içermektedir ve E vitamini besinlerde yaygın olarak bulunur (45). Günlük gereksinim vücut büyüklüğüne, kişinin fizyolojik durumuna, hatta beslenmede bulunan uzun zincirli yağların oranına göre değişmektedir (45). E vitamini için önerilen günlük gereksinim erkeklerde 10 mg kadınlarda 8 mg'dır. E vitamini gereksinimi çoklu doymamış yağ asidi alımı arttığı zaman artar (46).

## 2.2.2 E VİTAMİNİ VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri toksisitede yer almakta hastalıklara katkıda bulunmaktadırlar (6). Antioksidanlar ise serbest radikallerin zararlı etkisini inhibe etmektedirler (32).

Antioksidanlar başlıca 6 mekanizma ile çalışır. Bunlar; oluşan serbest radikalleri toplayıp giderici etkileri ile bağlayarak kararlı hale getirmek, zincir kırıcı etkisi ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurmak (6), baskılayıcı etkileri ile reaksiyon hızını azaltmak, onarıcı etkileri ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşan biyolojik hasarı önlemek, organizmadaki SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırmaktır (48).

E vitaminin önemli bir özeliği antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize etmesidir (32,33,34). Yani oksijeni bağlayarak, oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerde doymamış yağ asitleri (lineoleik asit ve araşinodik asit gibi) kendiliğinden ya da oksidan metabolitlerinin etkisi sonucu kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipid peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (38,45). Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamindir. Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutation, peroksidaz ve beta karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir. Bütün hücre membranlarının lipitleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. Alfa tokoferol bu yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur. E vitamini, hücre ve organellerin membran lipitleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (36,45).

E vitamini lipid peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikaline (ROO\*) transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde, iki basamakta gerçekleştirir (45):



ROO\*+TOK-O\*ok ROOH+stabil vitamin metaboliti

E vitamininin bir diğerk işlevi de A vitamininin barsaktan absorpsiyonunu ve dokulardaki düzeyini arttırmasıdır. Bu durum büyük bir olaslıkla, A vitamininin oksidasyonla kaybının azalmasına bağlıdır (45).

### 2.2.3 SAĞLIKTA VE HASTALIKTA E VİTAMİNİ

E vitamininin sağlık üzerine birçok etkisi vardır. En önemli yağda çözünen , zincir kırıcı antioksidandır. Hücre sinyali ve gen ekspresyonunda da rol alır. Çalışmalar göstermektedir ki kanda E vitamini seviyesi yüksek ise; kalp hastalıkları ve kanser riski düşmektedir. Fakat çok yüksek dozda E vitamini desteği kalp yetmezliği ve mortaliteyi arttırmaktadır. Bu yüzden mortaliteyi arttırmadan E vitamini statüsünü arttıracak alternatif yollar, uygun beslenme açısından önemlidir. Ayrıca yetersiz beslenme sonucu E vitamininin alınmaması eritrosit ömrünün azalmasına, hemolitik anemi, yaygın ödem oluşumu ve üst solunum yolu kanserlerine neden olmaktadır (38,45).

Hayvan ve insanlarda yapılan çalışmalar tokoferollerini deri (49), mide, mesane, kolon, karaciğer (50), akciğer (51) meme ve prostat kanseri (52) gibi deneysel olarak oluşturulan veya spontan meydana gelen tümörlerin gelişmesini geciktirici hatta iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Erişkin bireylerin %30'unun sorunu olan hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar antioksidanlardan yetersiz beslenme ile ilişkilendirmekte, özellikle E vitamininin eksikliği üzerinde durulmaktadır (53). Karlson ve ark. (54) E vitamini yetmezliğinde membran lipidlerinin, özellikle omega 3 yağ asitlerinin radikal metabolitlerce yıkımının önlenmediğini göstermiştir.

E vitamininin intravenöz uygulamasının dolaşım krizi ve şok oluşumuna yol açan septik etkinin seyir ve tedavisinin kontrolünde önemli olduğu, bu işlemin antioksidan etkinin bağışıklık yanıtını arttırmasında kaynaklanabileceği gösterilmiştir (55,56).

Palomaki ve arkadaşlarına göre (57), cild yaşlanmasına ve ışığın deri üzerindeki yıpratıcı etkisine karşı daha güçlü bir korunma oluşturmada E vitamininin ve kombinasyonları önemli ölçüde etkilidir. Bu kanıtı destekler nitelikteki bazı araştırmalara göre, UVA-radyasyon ve ozona maruz bırakılan

hayvanlarda  $\alpha$  tokoferol ve  $\beta$  karoten uygulamaları SOD ve katalaz gibi hücrel endojen antioksidanların aktivitelerini arttırarak deri hücrelerindeki yıkımı azaltmaktadır (58,59). Güneş ışıkları ve diğer ışık kaynakları ile ozonun bu tip sakıncalı tesirlerine karşı E vitamini önemli bir antioksidan olarak kabul edilmeye başlanmıştır (60). Deri yanıkları ve operasyon yaraları dahil çeşitli tipteki yaralanmalarda E vitamininin iyileşmeye katkı sağladığı belirtilmiştir (61).

E vitaminin hücre içi kinaz kayıplarını önleyerek yada en aza indirerek oksidasyonu ve diğer yıkımları önleyebileceği şeklinde bir mekanizmadan da söz edilmektedir (62). Aynı yolla kaslarda egzersize bağlı oksidatif stresin giderildiği (62), kasların fiziksel performansının arttırıldığı (63) ve dejeneratif nörolojik hastalıkların önlenildiği (64) kabul edilmektedir.

Yaşlanma ile birlikte bozulan oksidan-antioksidan denge sinir hücreleri dejenerasyonunun hızlanmasında etkindir. Bu nedenle pek çok bilimsel çalışma E vitamini gibi güçlü antioksidanların alımı ile yaşlılıkta görülebilen sinirsel sorunların ve hafıza kaybının azaldığını ileri sürmektedir (61,62, 64).

E vitamininin antioksidan etkinliğinin belirlenmesinden sonra çeşitli hasarların tedavisindeki rollerini ortaya koymak için pek çok çalışma organize edilmiştir (6,7,32,33,34,37,38,47).

## **2.3 MAST HÜCRELERİ**

### **2.3.1 Mast Hücrelerinin Tarihçesi**

Mast hücreleri hakkında ilk yapılan çalışmalar 1863 yılında Von Recklinghausen tarafından başlatılmıştır. Bu araştırmacı granüler olan bu hücrelere kurbağa peritonunda rastlamıştır ve bu çalışma mast hücrelerinin hemen hemen ilk gözlemiydi. Bununla beraber 1889'da Paul Ehrlich bu granüler hücrelere mastung, "iyi beslenmiş hücre" adını vermiştir (65). Ehrlich çok önemli iki hususa dikkat çekmiştir. Birincisi, mast hücrelerinin temel boyaları bünyesine alıp boyanın rengini değiştirmesi, metakromazi (66,67) İkincisi de, mast hücresi granüllerinin suda çözünmesi veya erimesidir. Bu ikinci husus Ehrlich'in öğrencisi Westphal tarafından 1891'de vurgulanmıştır (66).



Jorpes ve arkadaşları 1936'da, Holmgren ve Wilander 1937'de mast hücrelerinin heparin içerdiklerini bildirmişlerdir (68). Mast hücrelerinin histamin kaynağı olduğunu ilk defa 1942'de Cazal ileri sürmüştür. Benditt ve arkadaşları 1955'te ilk defa rat mast hücrelerinin seratonin içerdiklerini tespit etmişlerdir (68).

Mast hücreleri ile doku histamini arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğu 1953'te ortaya konmuştur. Buna göre, mast hücre sayısı ve histamin seviyesinin fetal dönemde ve çok genç hayvanlarda düşük olduğu buna karşılık ergin hayvanlarda yüksek olduğu bildirilmiştir (69).

Bütün bu gelişmelere rağmen, uzun yıllar mast hücre fonksiyonları hakkında fazla bir şey öğrenilemedi. Hatta 1959'da Rilley mast hücrelerinin bağ dokusu formasyonu ile ilgili olabileceğini söylüyordu. Çeşitli hastalıklarla ilgisi ortaya çıktıkça fonksiyonları aydınlanmaya başlamıştır (70).

### **2.3.2. Mast Hücrelerinin Orijini ve Farklılaşması**

Mast hücrelerinin orijini hakkında çok çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Birçok çalışma mast hücre prekürsörlerinin kaynağı olarak lenfoid dokunun önemli olduğunu düşünüyorlardı (71,72). Fujita 1977'de sinir hücrelerinin çevresindeki mast hücrelerinin ektodermal kökenli olduğunu ileri sürmüştür (73).

Elde edilen sonuçlar bağ dokusu mast hücrelerinin orjin olarak nöral krista'dan daha ziyade mezodermal kökenli olduğunu göstermiştir (73).

Mast hücrelerinin özellikleri; fonksiyonel, morfolojik ve biyokimyasal açıdan buldukları çevreye göre değişmektedir. Örneğin fare periton kavitesindeki prekürsörlerden elde edilen mast hücre grupları, eğer farenin derisi içine enjekte edilirse bağ dokusu mast hücrelerinin özelliklerini, karın içine enjekte edilirse mukozal mast hücre özelliklerini gösterirler (74).

Bütün bu verilerden mast hücrelerinin ortak prekürsörlerden geliştiği, gelişiminin farklı safhalarının olduğu ve hücrenin içinde bulunduğu çevrenin de farklılaşmayı etkilediği belirtilmektedir (74).

Son yıllara kadar mast hücrelerinin periferik dokulardan köken aldığı düşünülmüştür. Günümüzde kabul edilen görüşe göre mast hücreleri kemik iliği kök hücrelerinden kaynaklanırlar (61,75). Mast hücreleri birçok bakımdan bazofil lökositlere benzemelerine rağmen ayrı kök hücreleri vardır ve bağ dokusunda bulunan bazofil lökositlerden farklı hücrelerdir (42).

Kemik iliğinden farklılaşan ve matür mast hücrelerinin birçok özelliklerini taşıyan prekürsör hücreler ait oldukları doku içine göç ederler. Mikro çevre ve uygun koşulların altında bu prekürsör hücreler maturasyona uğrarlar ve heparin gibi sülfatlı proteoglikanlar kapsayan salgı granüllerine sahip olurlar. Bu maturasyonla ilgili faktörler genelde hemopoetik büyüme faktörü olup interlökin-3'ü kapsar (43,75,76).

Ratlar ve sıçanlar üzerindeki bir çalışmada ise mast hücre prekürsörlerinin değişik lenfoid dokularda bulunduğu belirtilmiştir. En fazla kemik iliğinde, daha az olarak dalakta, seyrek olarak da lenf folliküllerinde bulunmuştur (77).

### **2.3.3. Mast Hücrelerinin Morfolojik Yapısı**

Mast hücreleri bütün insan dokularında çok sayıda bulunmasına rağmen, deri, üst ve alt solunum yolları mukozası, gastrointestinal sistemde olduğu gibi vücudun dışarı açılan boşluklarını kaplayan mukozalarda çok sayıda bulunur (76).

Sayıları doğumdan itibaren artan mast hücrelerinin büyüklükleri, şekilleri ve granül dağılımları türe ve dokuya göre değişir (78).

Mast hücreleri, şekil ve büyüklükleri buldukları yere göre değişen genellikle 7-15 mikron çaplarında oval ya da yuvarlak hücrelerdir. Yıldız veya fusiform şekilde mast hücreleri de görülmüştür. 20-30 µ çapında mast hücrelerine de rastlanılmıştır. Nükleus genellikle tek lobludur ve merkezdedir.

Bazen birden fazla nükleus izlenebilmektedir (42,79). Matür mast hücrelerinin nükleolusları mevcut değildir (79,80).

Mast hücrelerinin sitoplazmalarında bazik boyalarla mor monekşe boyanan granüller mevcuttur (79,81). Granüller suda kolay erirler. Bu granüllerin çapları 0,8 milimikron kadardır ve en iyi methilen blue, toluidin blue, alcian blue ile boyanırlar (78,81,82). Degranülasyon sırasında değişen granüller toluidin mavisi ile pembeye boyanır. İstirahattaki granüller ise koyu mavi ya da mor renge boyanır (83).

Mast hücrelerinin sitoplazmalarında ayrıca, araşidonik asitten meydana gelen lipid cisimcikler ile golgi aygıtları, endoplazmik retikulum ve mitokondriler de vardır (65,80,84).

Mast hücrelerinin elektron mikroskobik incelemelerinde, hücre yüzeyinden periferik doğru uzanan çok sayıda, uzun ve kalın villuslar görülmüştür. Granüller ise yuvarlak, oval veya köşeli şekillerde, membrana bağlı yapılar halinde izlenirler. Bu granüller, lameller yapılarla elektrondens ince granüler materyal şeklinde iki komponentten oluşmuşlardır. Lameller yapılar; kalın, eğik helozon yapıları ile parmak izini andıran yumaklar tarzında, paralel filamentler halinde görülürler (80,81,85,86).

#### **2.3.4. Mast Hücrelerinin Alt Grupları**

Bu hücreler, buldukları yere ve boyanma, özelliklerine göre iki gruba ayrılır:

1) Mukozal tip-Mukozal mast hücreleri (MMH)

2) Konnektif doku tipi-Bağ dokusu mast hücreleri (BDMH)

Mukozal mast hücreleri; sindirim ve solunum sistemi mukozalarında, bağ dokusu mast hücreleri de; tüm bağ dokusu içinde bulunurlar. Bağ dokusu mast hücreleri gevşek bağ dokusu ve deride bulunur (65,87,88,89).

Bağ dokusu mast hücreleri ve mukozal mast hücreleri, farklı boyalara değişik afinite göstermektedir. Boyamalarındaki bu farkın nedeni

içerdikleri glikozaminoglikanların farklı olmasından dolayıdır. Bağ dokusu mast hücrelerinde proteoglikanlardan, temel olarak heparin bulunmakta, mukozal mast hücrelerinde ise kondroitin di sülfat -B bulunmaktadır (87,90).

Mukozal mast hücreleri özel fiksasyona ihtiyaç duyar ve daha sonra safranin ile boyanmış olarak alcian mavisi ile boyansa da sülfatlı proteoglikan içeriğine bağlı olarak sadece mavi görünür (75).

Bağ dokusu mast hücreleri sadece yüzeysel IgE'ye sahiptir. Mukozal mast hücreleri ise hem yüzeysel hem de sitoplazmik IgE içerir (91).

### **2.3.5. Mast Hücrelerinin Mediatörleri Ve Degranülasyonu**

Mast hücrelerinin granüllerinde bulunan maddeler salgılanış şekline göre 3 grupta incelenmektedir (92,93,94).

1- Hazır olarak depolanan mediatörler: Bu grubun en belirgin üyesi histamin ve serotoninidir.

2- Sekonder olarak ya da çok yeni hazırlanmış mediatörlerdir: Bunların yapımı, birinci gruptaki mediatörlerin, ilişkide oldukları doku ya da hücrelerle etkileşimi sonucu uyarılır. Bu gruptaki mediatörler araşidonik asid ve türevleridir.

3- Hazır olarak depolanan fakat degranülasyondan sonra granülden kolayca ayrılmayanlar: Granül-mediatör kompleksi şeklindedir. Bu grubun en önemli üyesi ise heparindir.

Burada önemle belirtilmesi gereken bir nokta, mediatörlerin sebep olduğu reaksiyonların dokuya göre değişebilirliğidir. Mesela histamin; deride primer olarak vazopermeabiliteye, akciğerlerde ise bronkospazma neden olur (65).

**histamin:** L-histidin'in dekarboksilasyonu ile yapılmaktadır. Organizmadaki ana kaynağı mast hücreleridir. Etkilerini H<sub>1</sub> ve H<sub>2</sub> reseptörleri aracılığı ile

gösterirler. Başlıca etkileri: damarlarda vazodilatasyon, damar dışı düz kaslarda kontraksiyon ve mukus salgısını arttırmasıdır (65).

**heparin:** Mast hücrelerinin metakromatik boyanmasına neden olan temel maddedir. Molekül ağırlığı yaklaşık 650.000 dir ve glikozaminoglikan zincirleri ile bağlanmış protein çekirdeğinden meydana gelir. Başlıca fizyolojik etkileri; antikoagülan, antitrombin, antikompleman olmasıdır (65).

**serotonin:** Rat ve sıçanlarda her mast hücresi başına ortalama 0,8–1,3 pg olarak bulunmuştur. Başlıca etkileri; düz kasların kasılmasına ve vazokontrüksiyona neden olmasıdır (65).

Mast hücreleri ve bazofil lökositlerin immun globulin E (IgE) için spesifik reseptörleri vardır. Her bir mast hücresinde yaklaşık  $1,5 \times 10^5$  reseptör bulunduğu belirtilmiştir (65).

Vücuda giren herhangi bir antijenle, daha önce bu antijene karşı oluşan IgE antikorlarının iki molekülü, mast hücrelerinin yüksek afiniteli reseptörlerinin Fc kısmında bir araya gelirler. Böylece degranülasyonla başlayan bir süreç başlar. İlk önce kalsiyum hücre içine girer (65). Granüller aktive olur, granüler membran genişler. Bu gelişme intragranüler osmotik basınç artışına bağlı olabilir (80,83). Granül içinde ikinci bir membran teşekkül eder. Bu sırada ultrastrüktürel incelemede granüllerin benekli bir görünüm aldığı gözlenir. Bu da granüldeki matriks komponentlerinin yeniden organize olduğunu gösterir. Bundan sonra Granül membranı ile hücre membranı birleşir ve mediatörler dışarıya salınır (83).

### **2.3.6. Mast Hücrelerinin Fonksiyonları**

Mast hücrelerinin rolleri komplekstir. Örneğin, bu hücrelerden salınan mediatörlerin damar geçirgenliğini artırması, antikor kompleman ve kandan kaynaklanan diğer konak defans faktörlerinin savunma için dokuya geçişini artmasını sağlar. Ancak bu mediatörler aynı zamanda düz kas kasılmasına da neden olur (76).

Günümüzde bu hücrelerin, iltihabi barsak hastalıkları yanısıra, normal barsak fonksiyonlarının sürdürülmesinde ve immünite üzerindeki potansiyel rolleri gittikçe daha iyi anlaşılmaktadır (87).

Mast hücresi sayısı pek çok fibrotik durumlarda arttığı için mast hücrelerini fibrozitte önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir (95).

Gastrointestinal sistemde, mukoza epitelinin içerisinde mast hücresinin olmadığı, ancak mukozal allerji ya da parazit istilaları neticesinde mast hücrelerinin veya prekürsörlerinin epitel içerisine göç edebildikleri belirtilmiştir (96).

Birçok çalışmada tümör olsun veya olmasın yeni damarlanma olan sahalarda mast hücre sayısında artış olduğu bildirilmektedir. Tümörler, Tümör Anjiyogenezis Faktör (TAF) isminde bir madde salgırlar. Bu da damar proliferasyonunu uyarır ve tümörün büyümesi için gerekli olan maddelerin difüzyonunu sağlar (97).

Kronik iltihaplarda da mast hücrelerinin sayılarının arttığı bildirilmiştir (67,98).

Mast hücrelerinin rol aldıkları bildirilen patolojik ve fizyolojik prosesler şöyle sıralanabilir: Allerjik hastalıklar, iltihabi prosesler, inflamatuvar barsak hastalıkları, kallus gelişimi, osteoporoz, romatizmal hastalıklar, periferik nöropati, nöromlar, hipertansiyon, hipoksi, interstisyel akciğer hastalıkları, deride ürtikerya pigmentoza, sklerodema, immünite, koroner spazmlar, birçok tümörler, gebelik ve doğum (87,88, 95,98).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması:

Çalışmada Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden elde edilen 60 adet, 12-14 haftalık, ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen, erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar ortama alışmaları için deneye başlamadan bir hafta önce diğerlerinden ayrılarak, ortam ışığının 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ayarlandığı, ortam ısısının  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'a sabitlendiği odalardaki tel kafeslere alındı. Deney süresince tüm hayvanlar standart yem ve çeşme suyu ile beslendi. Hayvanlar dekapite edilmeden bir gün önce tüm hayvanların yemi kesildi.

Fareler biri kontrol olmak üzere rastgele seçilen sıçanlar 5 gruba ayrıldı.

1.Grup (Kontrol): Kontrol grubuna seçilen 6 adet sıçana intraperitoneal (i.p.) olarak bir hafta süreyle 0.2 mg/kg serum fizyolojik uygulandı.

2.Grup (E vitamini): 6 adet sıçana i.m. olarak 250 mg/kg E vitamini (Evigen®) verildi.

3.Grup ( $\text{CCl}_4$ ): 16 adet sıçana i.p. olarak bir hafta sürede, birer gün ara ile üç defa 0.2 ml/kg karbon tetraklorür ( $\text{CCl}_4$ ) (Carlo Erba) verildi.

4.Grup ( $\text{CCl}_4$ +E): 16 adet sıçana eş zamanlı olarak üç kez 250 mg/kg E vitamini i.m. ve üç kez 0.2 ml/kg  $\text{CCl}_4$  (i.p.) eş zamanlı olarak uygulandı.

5.Grup (E+ $\text{CCl}_4$ ): 16 adet sıçana önce 250 mg/kg E vitamini i.m. olarak sadece bir kez verildi. Ardından üç kez 0.2 ml/kg  $\text{CCl}_4$  i.p. olarak uygulandı.

Bu uygulamaların sonunda tüm hayvanlar ketamin anestezisi altında intrakardiyak formalin injeksiyonu ile öldürüldü. Her hayvanın karaciğerinin sağ ve sol lobları alındı. Alınan loblardan biri küçük parçalara ayrıldı. Bu parçaların bir kısmı Carnoy diğerleri ise %10'luk formalin fiksatifi içine alınarak fikse edildi, formalindeki karaciğer parçacıklarının ışık

mikroskobu için rutin takibi yapıldı ve parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan Shandon AS325 mikrotom ile 5-6 µ kalınlığında kesitler alınarak H.E (hematoksilen-eosin), T.B (toluidine blue), M.T (mason trikrom) boyalarıyla boyandı. Nikon Eclipse E600 mikroskopta incelenen preparatların, Nikon Dijital Sight DS-L1 fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

Karaciğerin diğer lobu ise doku MDA tayini için hazırlandı.

### **3.2 MDA Ölçümü**

#### **3.2.1 MDA Ölçümü İçin Doku Homojenizasyonu**

1. KCl çözeltisi % 1.15' lik
2. MDA ölçümü yapılacak dokunun % 10' luk homojenatı hazırlanır.

Doku (ağırlık ; w) : KCl çözeltisi (volüm ; v) oranı 1:9 (w/v) olacak şekilde bir cam tüpe doku ve KCl çözeltisi kondu.

3. Homojenizatör ile homojenizasyon yapıldı.
4. Homojenizasyon sonrası 4.00 rpm'de 20 dakika santrifüjasyon yapıldı.
5. Elde edilen süpernatant MDA ölçümü için kullanıldı.

#### **3.2.2 Dokuda MDA Ölçümü**

##### **3.2.2.1 Gerekli çözeltiler:**

1. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) : % 8.1'lik SDS çözeltisi.
2. Asetik Asit : %20 'lik Asetik Asit çözeltisi, PH'sı 3.5 'e ayarlandı.
3. Tiyobarbitürik Asit (TBA) : %8 'lik çözeltisi , pH'sı 3.5'e ayarlandı.
4. BTH çözeltisi : 90 mM ; 0.1984 gram BHT 10 ml saf etanol içinde çözüldü.
5. Butanol- Pridin çözeltisi : Butanol /Pridin 14/1 (v/v)



### 3.2.2.2 Standartların Hazırlanması:

STD		Deiyonize Su	STD Konsant.
A. TMP	100 mikrolitre	1000 mikrolitre	600 mol/ml
B. A	100 mikrolitre	900 mikrolitre	60 nmol/ml
C. A	75 mikrolitre	525 mikrolitre	45 nmol/ml
D. A	50 mikrolitre	950 mikrolitre	30 nmol/ml
E. A	25 mikrolitre	975 mikrolitre	15 nmol/ml
F. A	10 mikrolitre	990 mikrolitre	6 nmol/ml
G. Kör	0	1000	0

### 3.2.2.3 Deney prosedürü:

1. Reaksiyon Karışımın Hazırlanması: 10 ml 'lik bir deney tüpüne, ölçümle ilgili maddeler aşağıda belirtilen miktarlarda kondu.

Çözelti	Hacim
Asetik Asit	1.5 ml
Tiyobarbitürik Asit	1.5 ml
Sodyum Dodesil Sülfat	200 mikrolitre
Örnek veya STD	100 mikrolitre
Distile su	600 mikrolitre
BHT	100 mikrolitre

2. Bu reaksiyon karışımı aerobik şartlarda , 95 °C 'da , 60 dakika inkübe edildi.
3. Tüpler soğutulurken her tüpe 1 ml distile su ilave edildi.
4. Her tüpe 5 ml butanol-PRIDİN çözeltisi eklendi.
5. 3000 g 'de (4000 rpm 'de) 10 dakika santrifüjasyon yapılarak ve tüpün üst kısmında bulunan süpernatant spektrofotometrik ölçüm için kullanıldı.

6. Her örneğin optik dansitesi 532 nm dalga boyunda tespit edildi.

Her grupta tespit edilen MDA değerleri Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

### **3.3 Mast Hücre Sayımı**

Her bir gruptaki tüm sıçanlar için ayrı ayrı elde edilen bloklardan hazırlanarak toluidin blue (TB) ile boyanan preparatlarda 10 adet portal alanda 40 lık objektif altında sayılan mast hücrelerinin ortalaması alınarak Kruskal-Wallis testi ile grupların istatistikleri çıkarıldı.

## **4. BULGULAR:**

### **4.1 HİSTOPATOLOJİK BULGULAR**

#### **GRUP I (KONTROL GRUBU):**

Sadece serum fizyolojik uygulanan kontrol grubunda karaciğer görünüşleri normal histolojik yapılanmada izlendi. Vena sentralis yapıları, portal alanlar, hepatosit kordonları ve sinüzoidler normal bir görünümde gözlemlendi (Şekil 4.3).

Kontrol grubunda mast hücreleri ve MDA ölçümleri Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi (Şekil 4.1, 4.2, 4.4).

#### **GRUP II (E VİTAMİNİ GRUBU):**

250 mg/kg i.m. olarak sadece E vitamini uygulanan grupta kontrol grubuna benzeyen karaciğer histomorfolojisi izlendi (Şekil 4.5).

II. grupta mast hücreleri ve MDA ölçümleri Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi (Şekil 4.1,4.2,4.6)

#### **GRUP III (CCI<sub>4</sub> GRUBU):**

İntraperitoneal (i.p.) olarak bir haftada birer gün ara ile üç defa 0.2 ml/kg CCl<sub>4</sub> verilen grupta ciddi hasarlar gözlemlendi. Karaciğerde özellikle vena sentralis çevresinde yerleşim gösterip, III. zona denk gelen bölümlerde yağlanma, hepatosit nükleuslarında bazofili artışı ve irileşme, yer yer hepatositlerde bulanık şişme, mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.7). Yağlanma izlenen bölümlerde makroveziküler tipte yağlanma yanında, mikroveziküler yağlanmada gözlemlendi (Şekil 4.8). Ayrıca portal alanlarda safra duktuslarında proliferasyon izlendi (Şekil 4.9). Portosentral fibrozis ve yağlanma alanları gözlemlendi (Şekil 4.10). Hepatositlerdeki bozulmalar yanında, kordonlardada düzensizleşmeler dikkati çekti (Şekil 4.11, 4.12).

III. grupta mast hücreleri ve MDA ölçümleri Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi (Şekil 4.1, 4.2, 4.13).

#### **GRUP IV (CCl<sub>4</sub> + E vitamini (eş zamanlı)):**

Eş zamanlı olarak üç kez 250 mg/kg E vitamini intramüsküler (i.m.) ve üç kez intraperitoneal (i.p.) 0.2 ml/kg CCl<sub>4</sub> uygulanan grup histomorfolojik olarak incelendiğinde; sinüzoidler ve hepatosit kordonları düzenli olarak gözlemlenirken, vena sentralis çevresinde çok hafif yağlanma saptandı. III. gruba nazaran yağlanma azalmış olarak ve daha çok mikroveziküler tip yağlanma görüldü. Hepatositlerde yer yer hafif irileşme ve nükleuslarda bazofil artışı ve irileşme saptanmasına rağmen bu durumun grup III' e kıyasla daha hafif olduğu belirlendi (Şekil 4.14, 4.15, 4.16). Safra duktuslarında değişiklik bulunmadı. Fibrozis yönünden de görünüm normaldi. Mononükleer hücre infiltrasyonuna ise rastlanmadı (Şekil 4.14, 4.15, 4.16, 4.17).

IV. grupta mast hücreleri ve MDA ölçümleri Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi (Şekil 4.1, 4.2, 4.18).

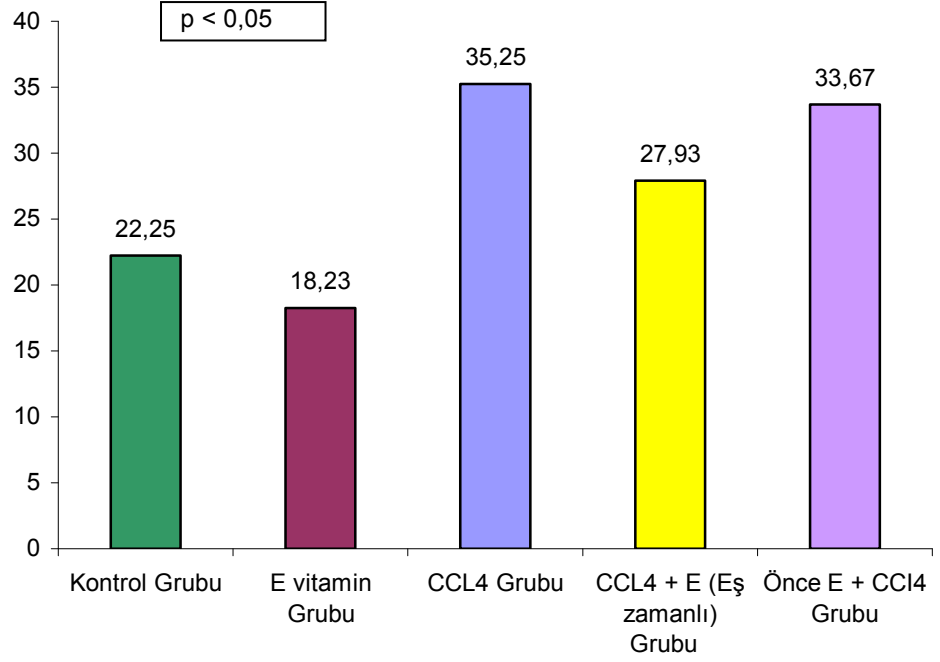
#### **GRUP V (E vitamini + CCl<sub>4</sub>)**

Önce 250 mg/kg E vitamini verilmesinin ardından üç kez 0.2 ml/kg CCl<sub>4</sub> intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanan grupta yapılan histomorfolojik incelemede; yağlanma özellikle vena sentralis çevrelerinde yoğunlaşmış olarak saptanırken, nükleuslarda bazofili artışı ve irileşme izlendi. Az miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 4.19, 4.20, 4.21). Ayrıca perisentral fibrozise rastlandı (Şekil 4.22).

V. grupta mast hücreleri ve MDA ölçümleri Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi (Şekil 4.1, 4.2, 4.23).

## MDA Ölçümleri

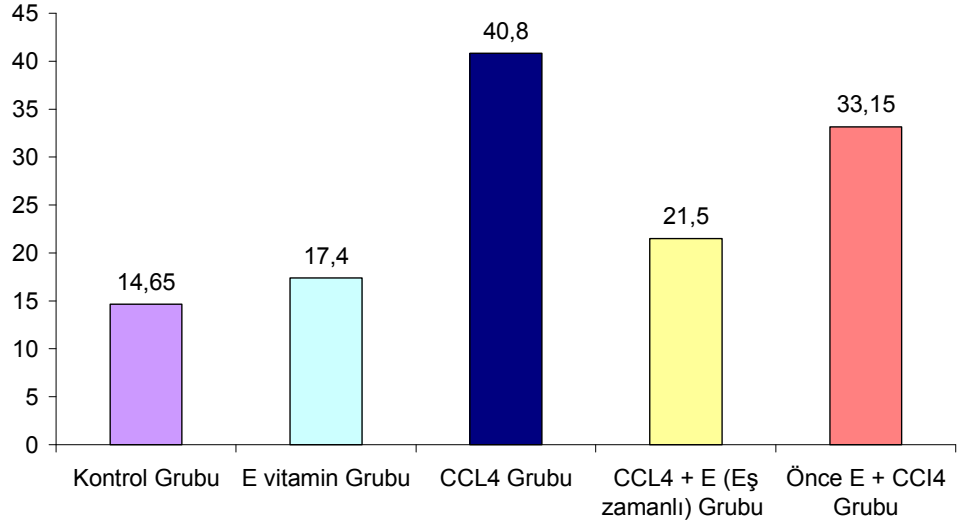
Karaciğer dokusu MDA seviyelerine bakıldığında II. Grub değerleri, I. gruba yakındı. I.grup ile karşılaştırıldığında; III. grup, IV. grup ve V. grup değerleri artmış olarak bulundu ( $p < 0,05$ ).



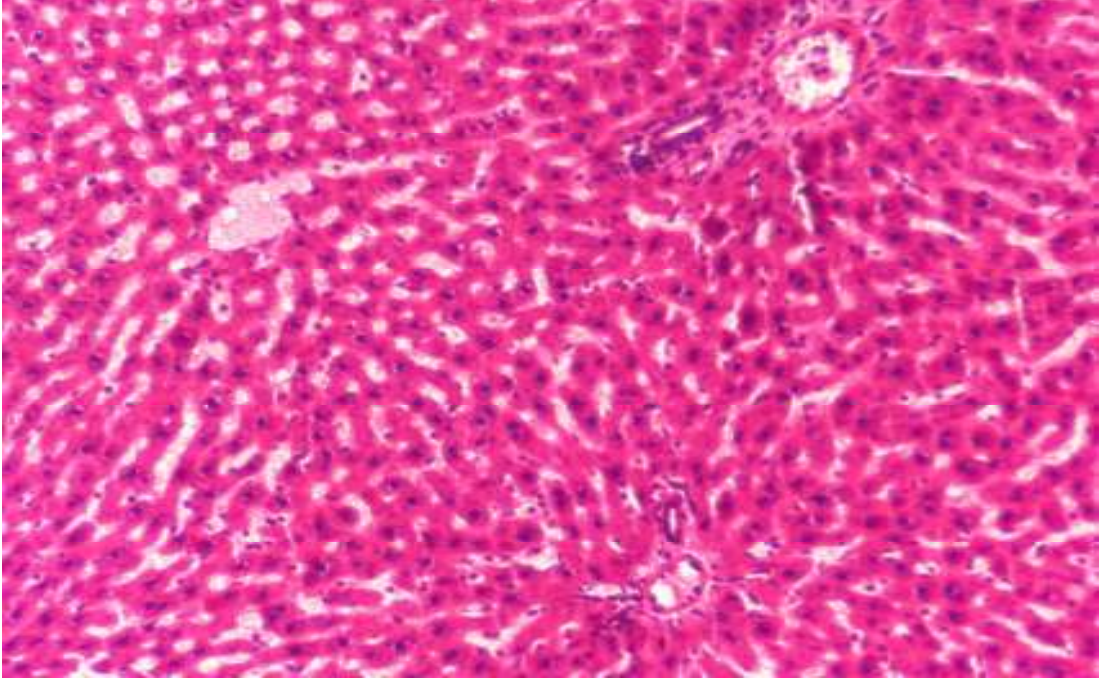
**Şekil 4.1:** Gruplarda MDA değerleri ( $p < 0,05$ ).

## Mast Hücre Sayımı

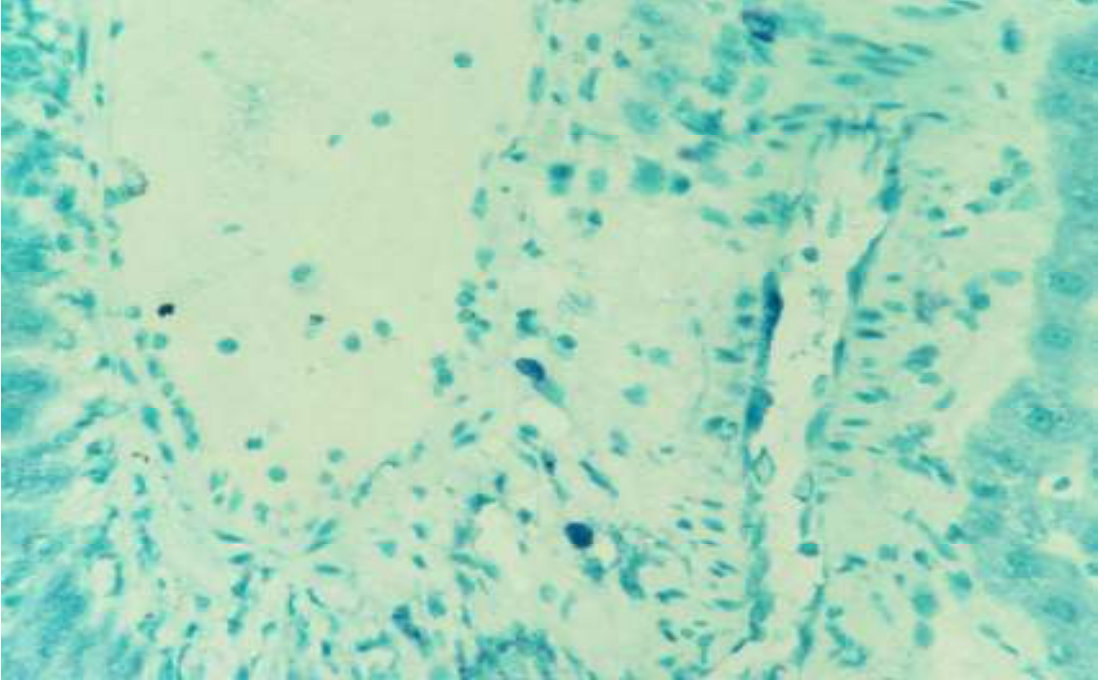
Tüm gruplar mast hücreleri açısından değerlendirildiğinde; grup I ve II'ye kıyasla, grup III, grup IV ve grup V'te yükselmiş olarak bulundu ( $p < 0,05$ ).



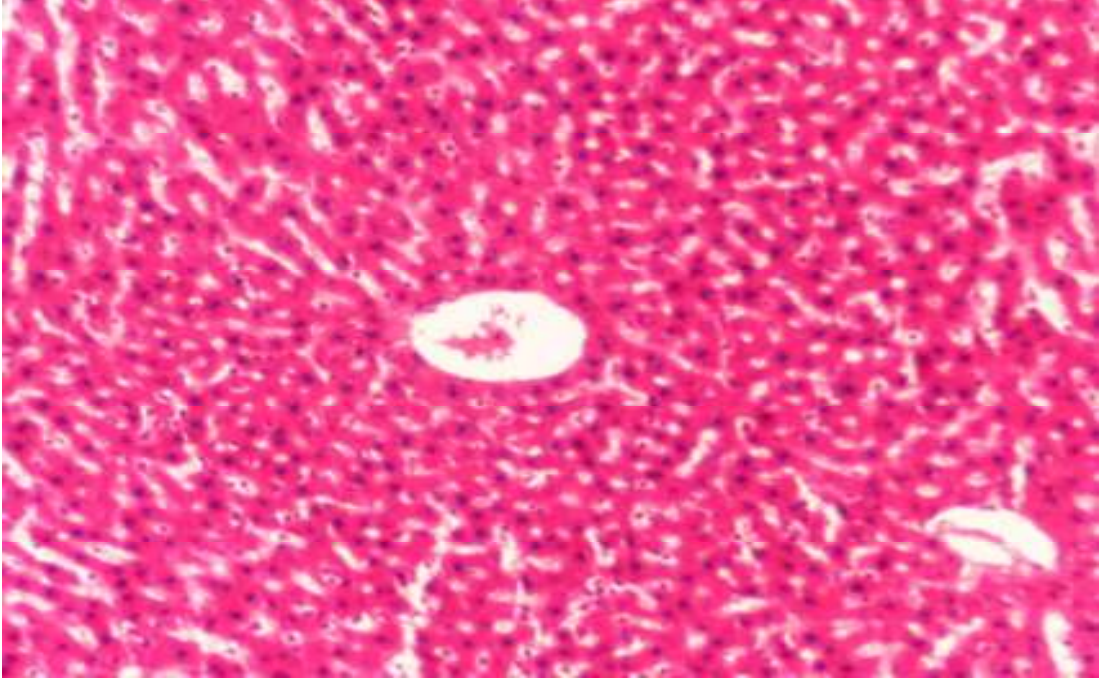
**Şekil 4.2:** Mast hücre sayılarının ortalaması ( $p < 0,05$ ).



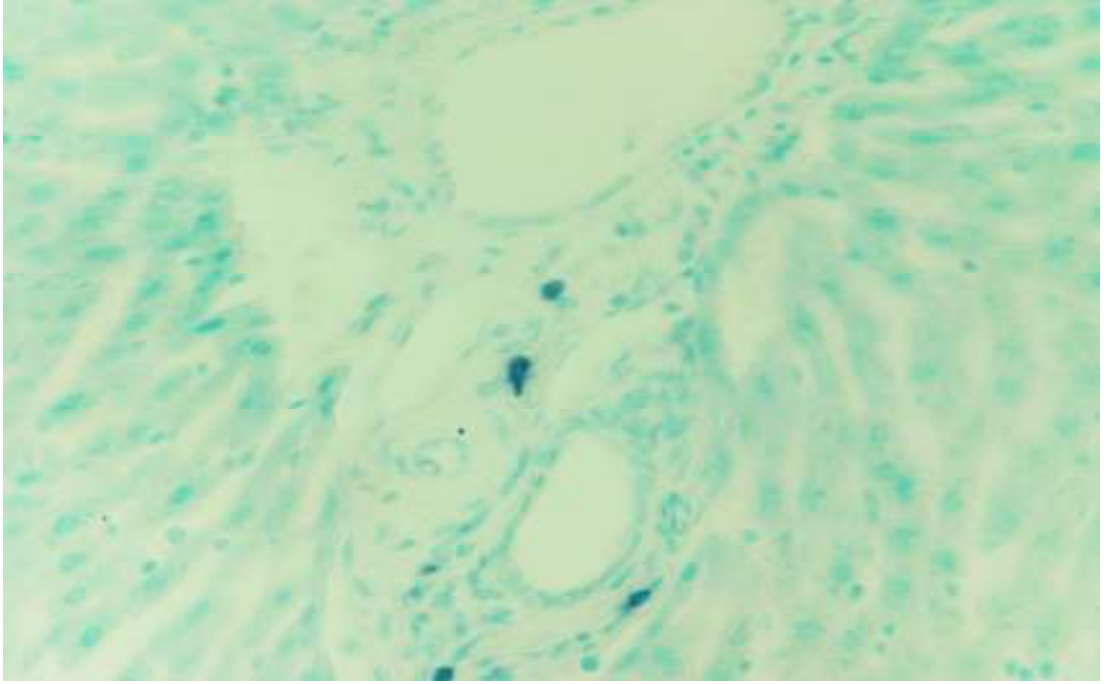
**Şekil 4.3:** Karaciğer kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görünüm (HE; x20).



**Şekil 4.4:** Kontrol grubu karaciğer portal alanında mast hücrelerinin görünümü (TB; x 40).

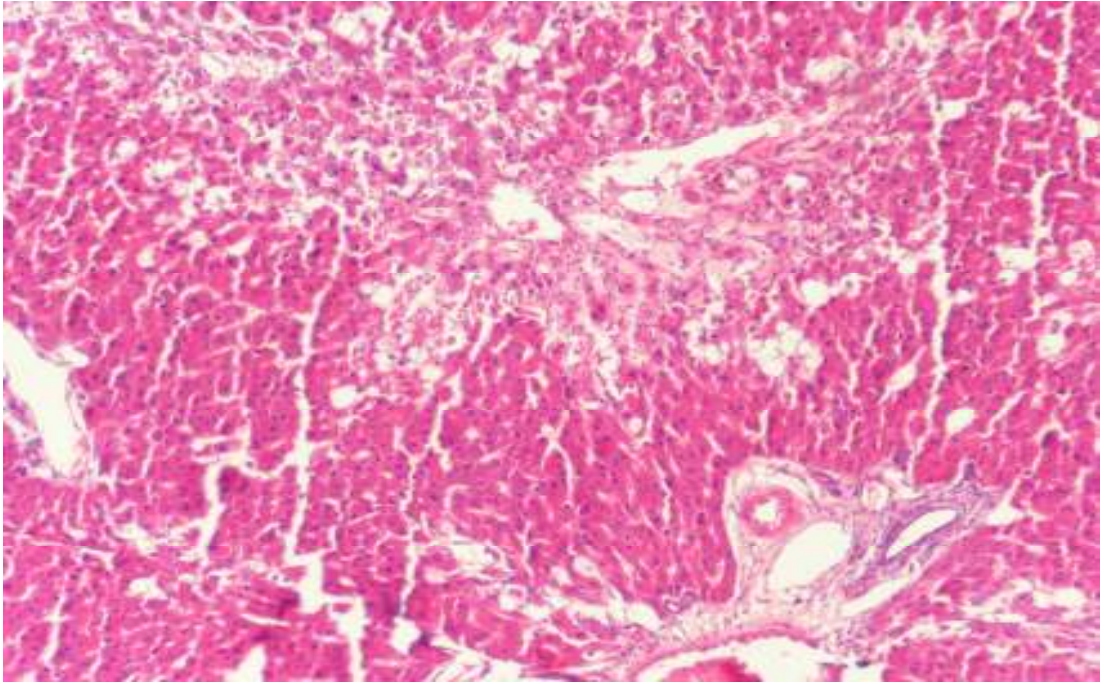


**Şekil 4.5:** II. gruba ait karaciğerin ışık mikroskopik görünümü (HE; x 20).

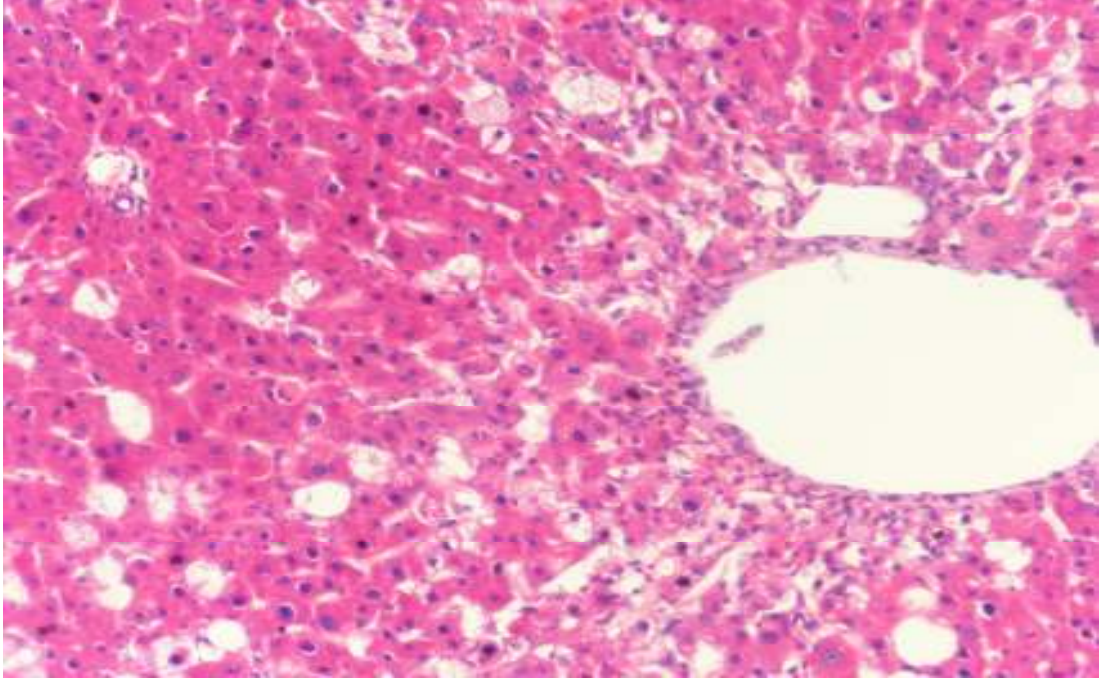


**Şekil 4.6:** II. gruba ait karaciğer portal alanında mast hücrelerinin görünümü (TB; x 40).

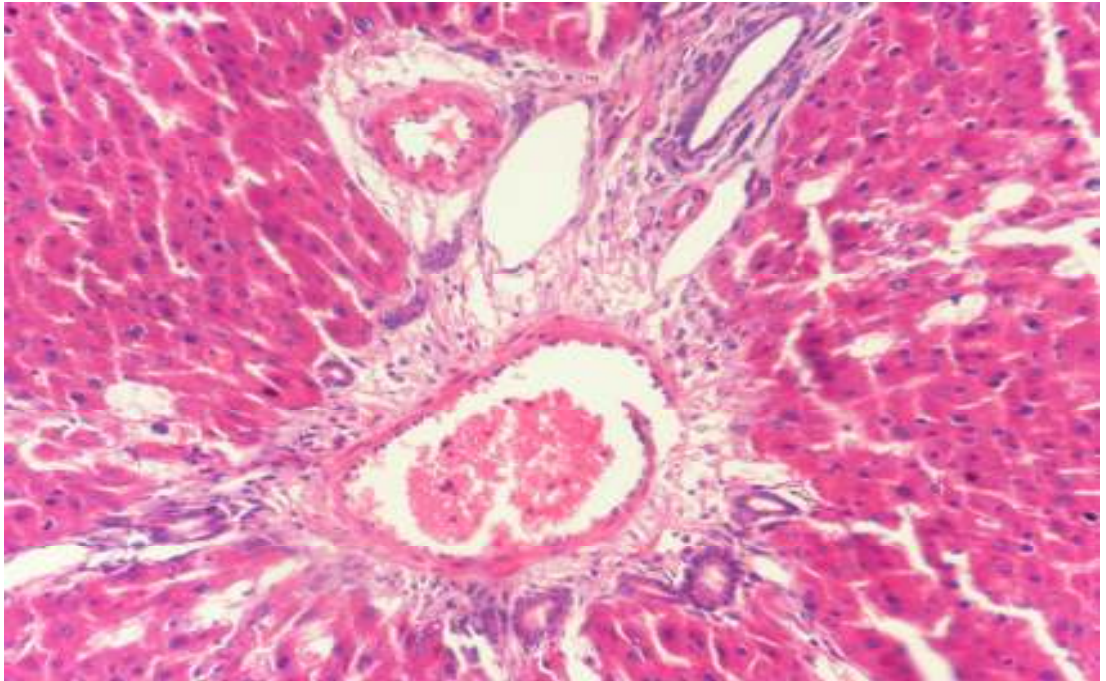




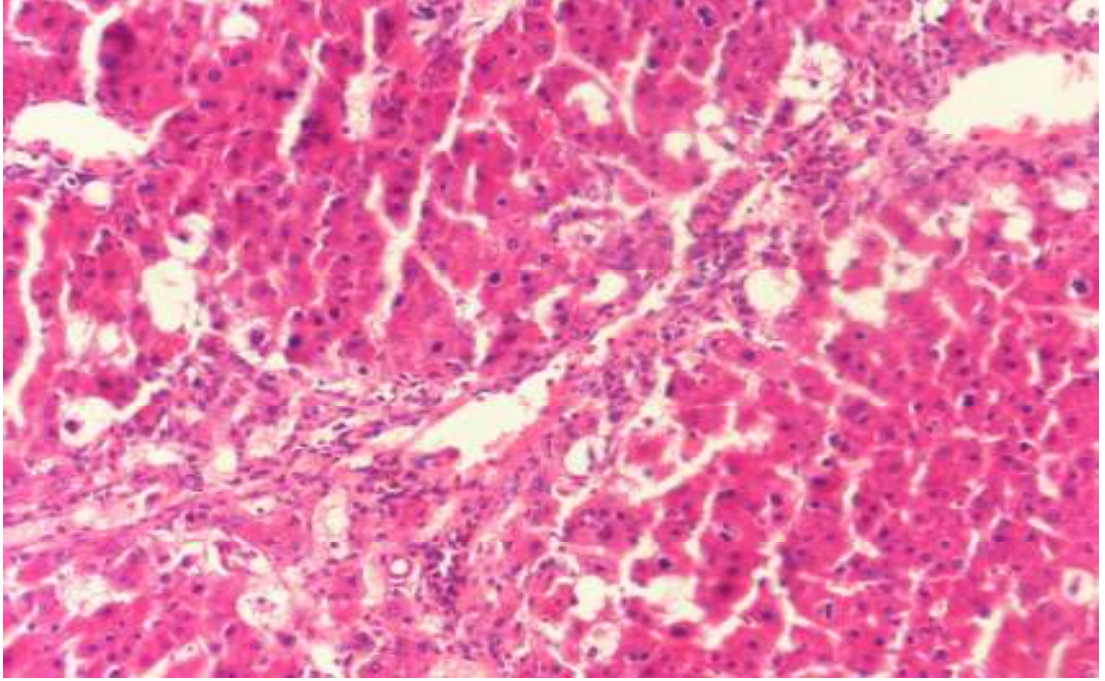
**Şekil 4.7:** III. grup karaciğer dokusunda, III. zona denk gelen bölümlerde yağlanma, hepatosit nükleuslarında bazofili artışı ve irileşme, yer yer hepatositlerde bulanık şişme, mononükleer hücre infiltrasyonu görülmektedir. (HE; x 10).



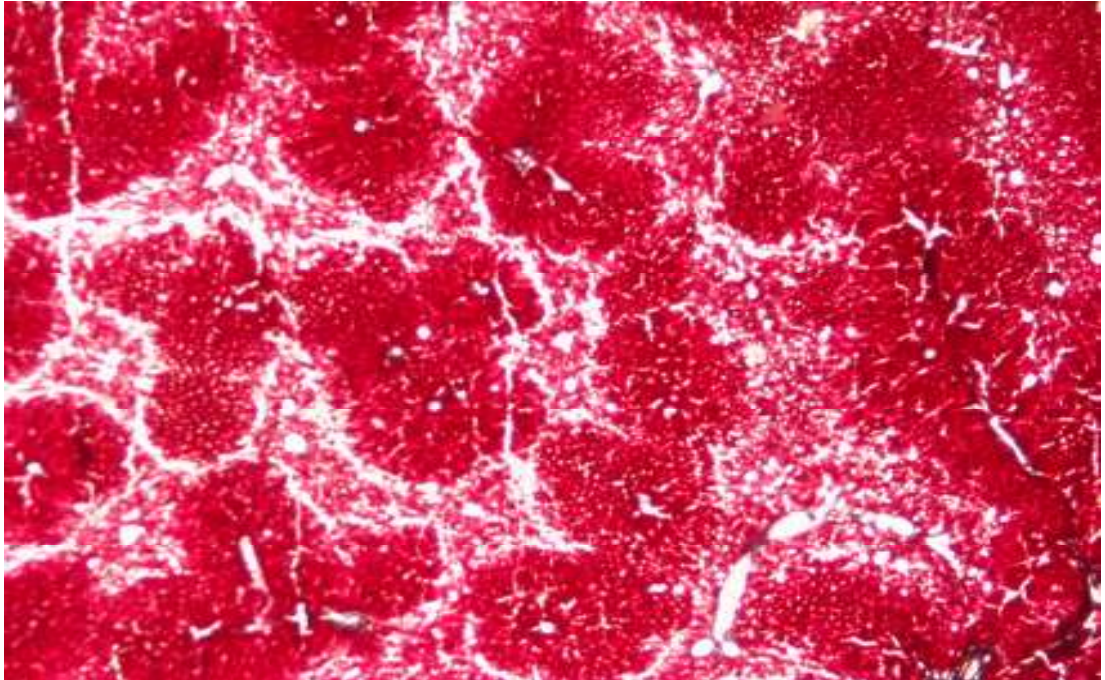
**Şekil 4.8:** III. grupta yağlanma izlenen bölümlerde makroveziküler tipte yağlanma yanında, mikroveziküler yağlanma görülmektedir (HE; x 20).



**Şekil 4.9:** III. grup karaciğer dokusunda portal alanlardaki safra duktuslarında proliferasyon görülmektedir (HE; x 20).



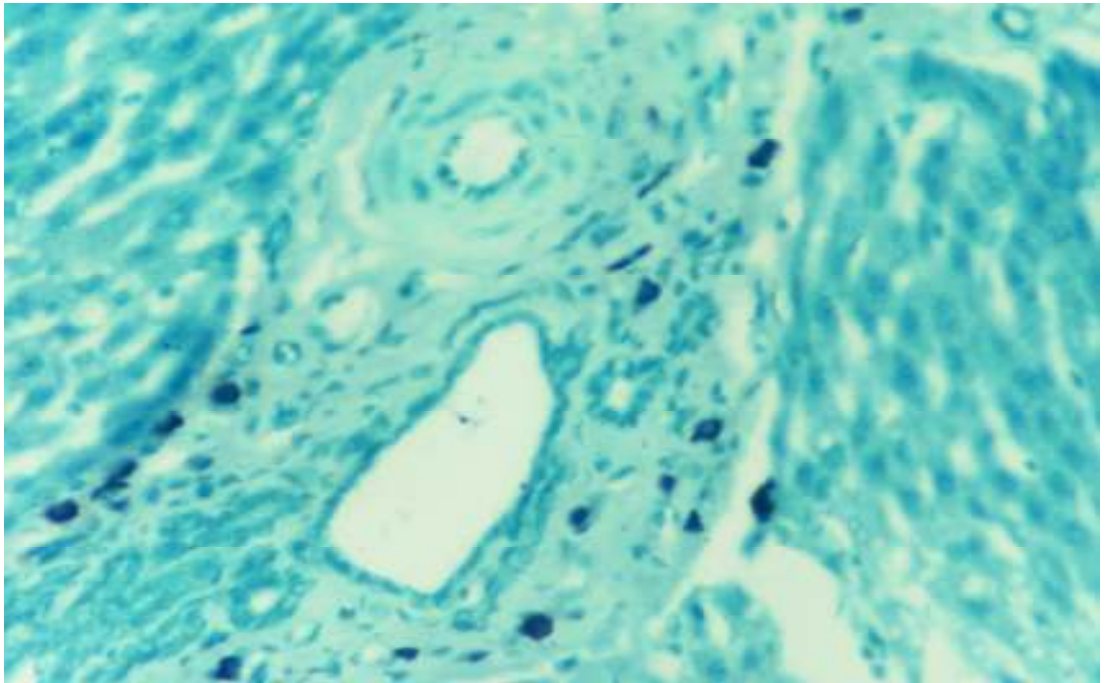
**Şekil 4.10:** III. grupta portosentral fibrozis ve yağlanma alanları gözlemlenmektedir (HE; x 20).



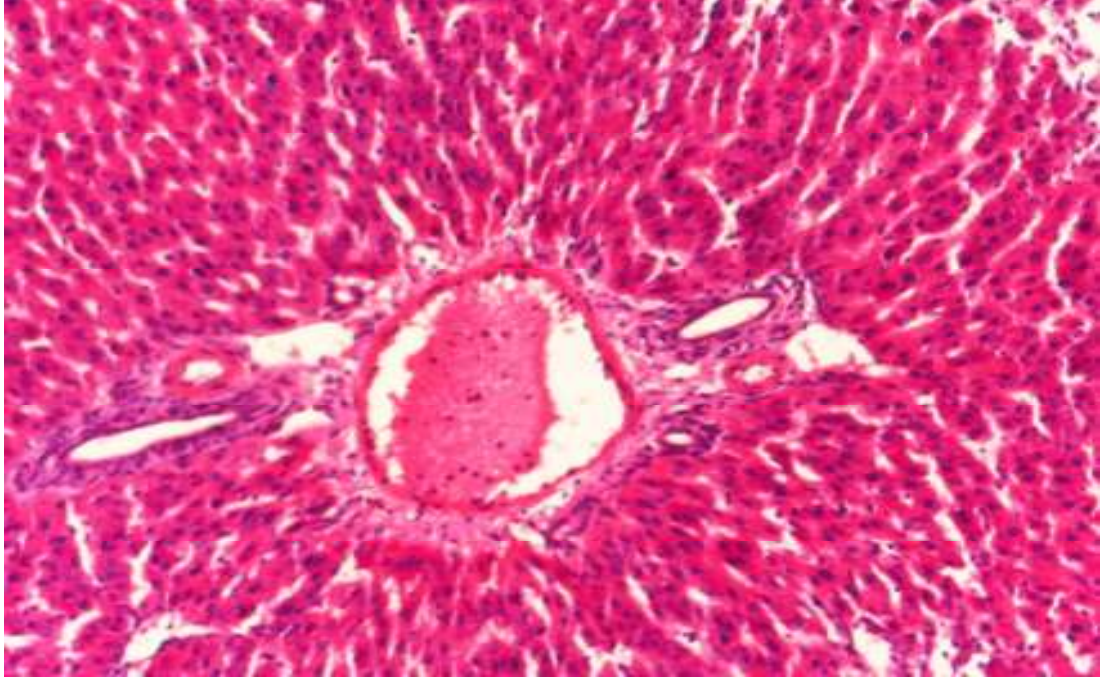
**Şekil 4.11:** III. grupta yağlanmanın genel görünümü (MT; X 4)



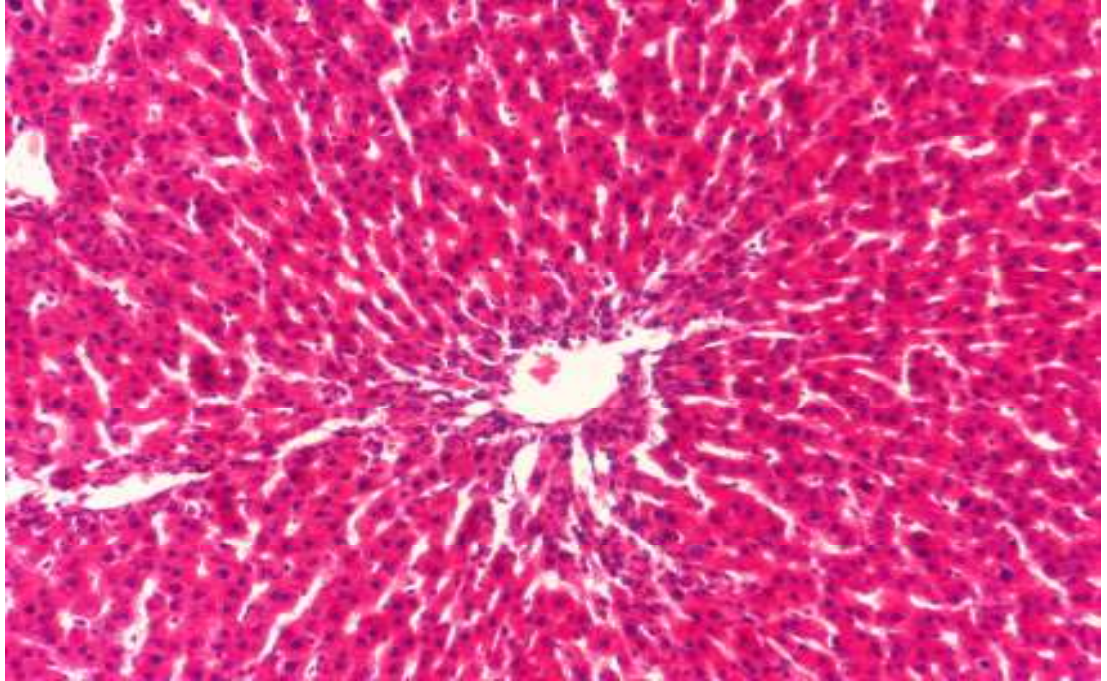
**Şekil 4.12:** Grup III'te yağlanmanın I. zon bölgesinde yoğunlaşmadan, III. zonlarda yerleştiği ve hepatosit kordonlarında düzensizleşme izleniyor. (MT; X 10).



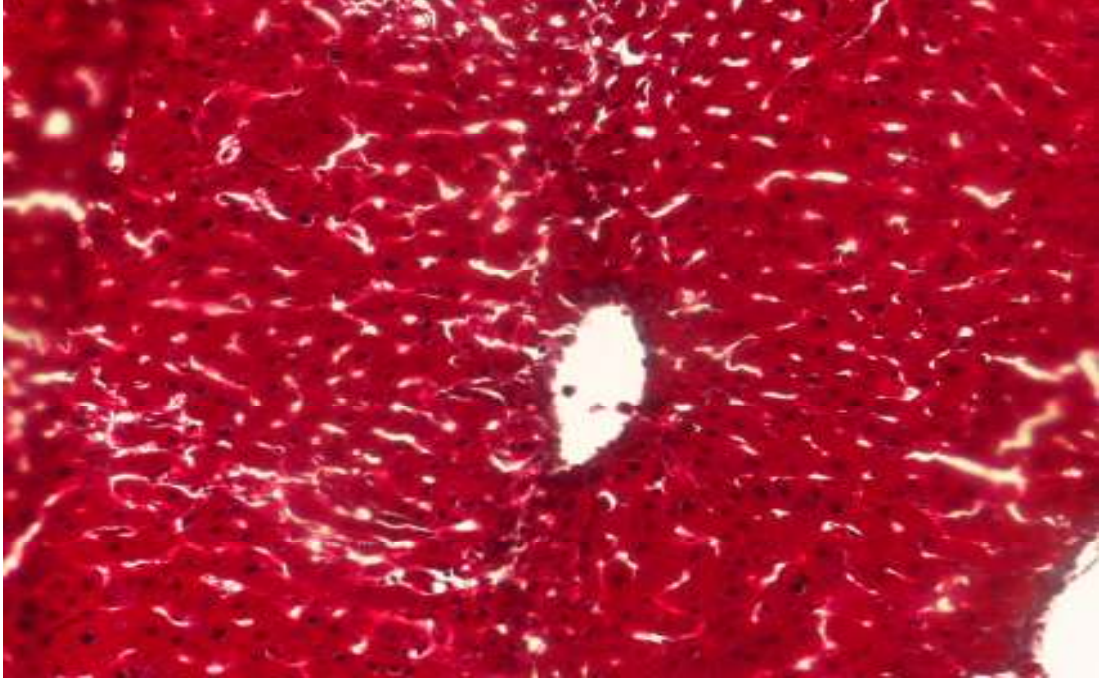
**Şekil 4.13:** Grup III'te portal alanlardaki mast hücrelerinin artmış görünümü (TB; x 40).



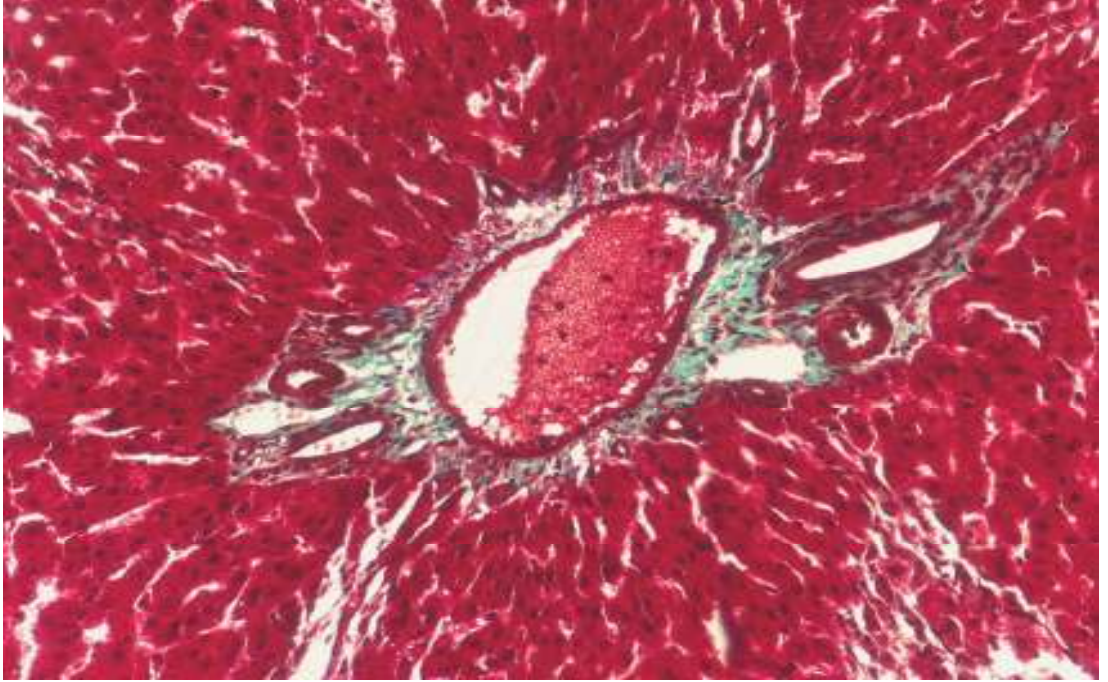
**Şekil 4.14:** Grup IV'te yağlanmanın azaldığı dikkati çekmekte (HE; x 20).



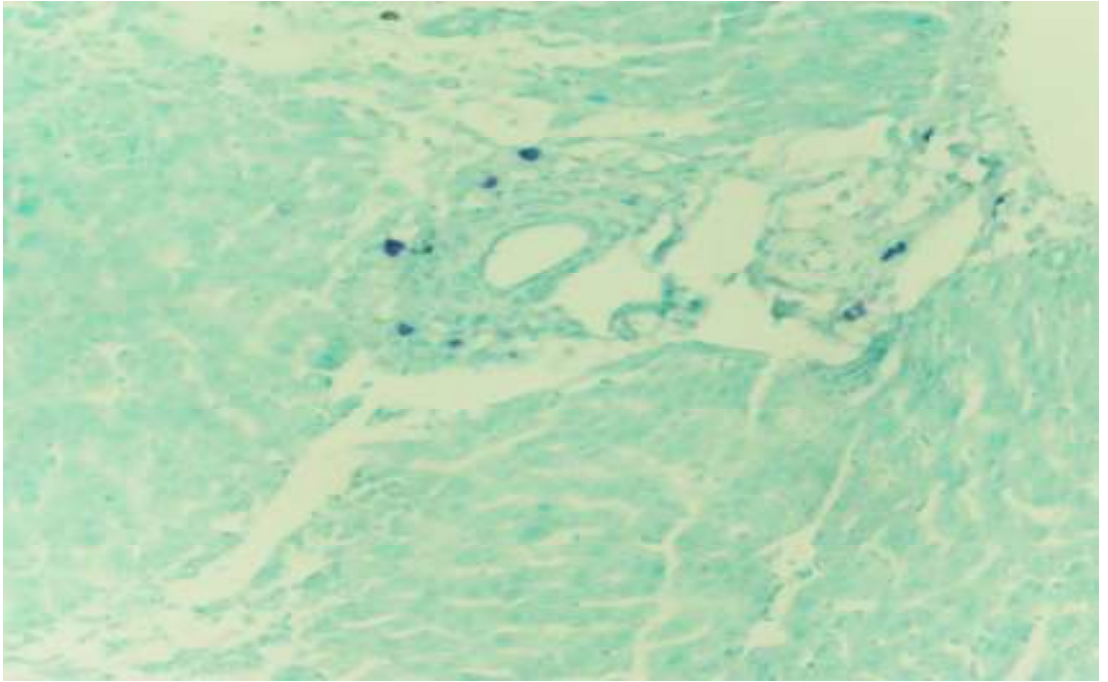
**Şekil 4.15:** Grup IV Hepatositlerinde azalmış yağlanma yer yer hafif irileşme ve nükleuslarda bazofil artışı ve irileşme izlenmekte (HE; x 20).



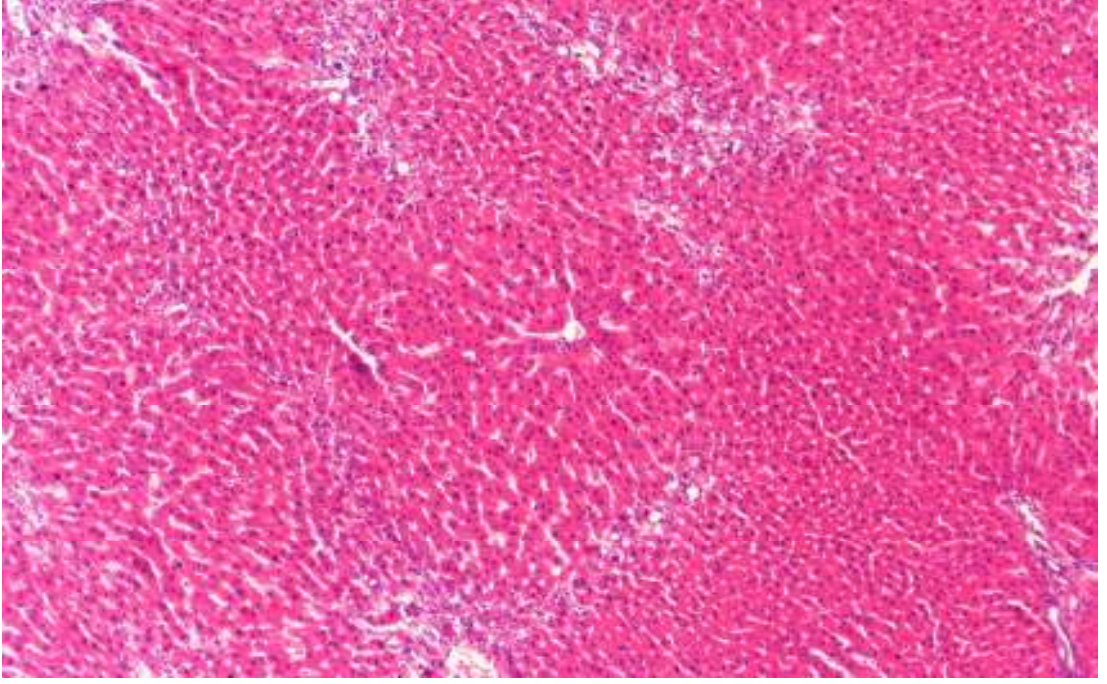
**Şekil 4.16:** Grup IV te III. zon bölgesinde yağlanmanın oldukça azaldığı ve mikroveziküler tipte olduğu gözlemlendi (MT; x 20)



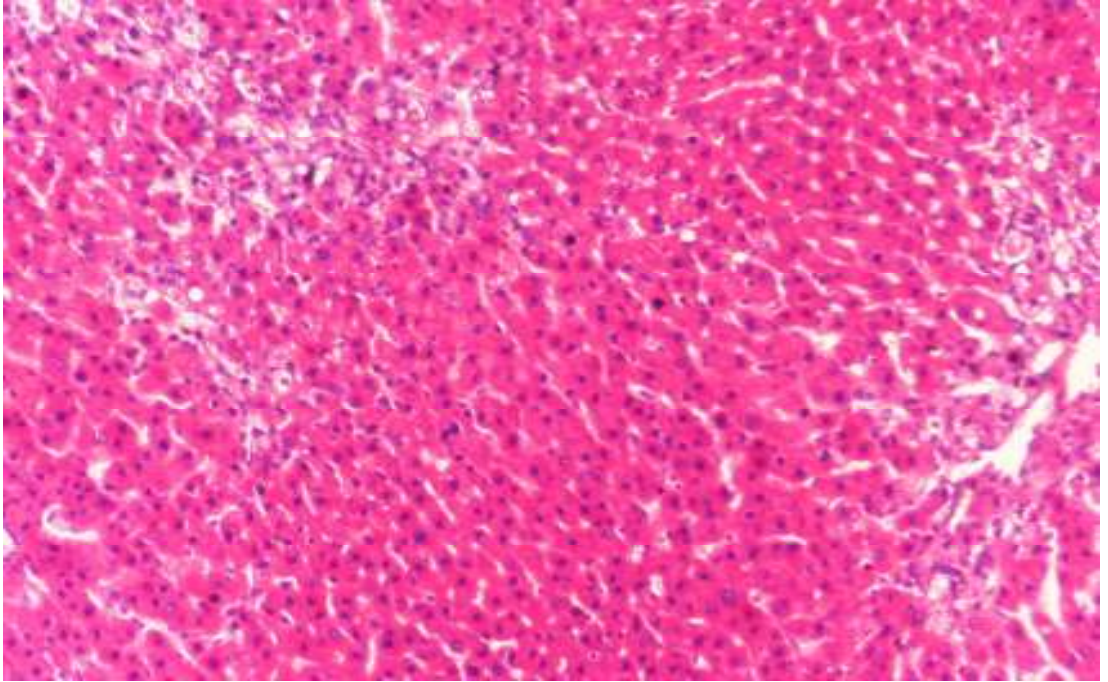
**Şekil 4.17:** Grup IV' te azalmış yağlanma gözlenmekte (MT; x 20).



**Şekil 4.18:** Grup IV'te portal alanda kısmen artış gösteren mast hücrelerinin görünümü (TB; x 20).

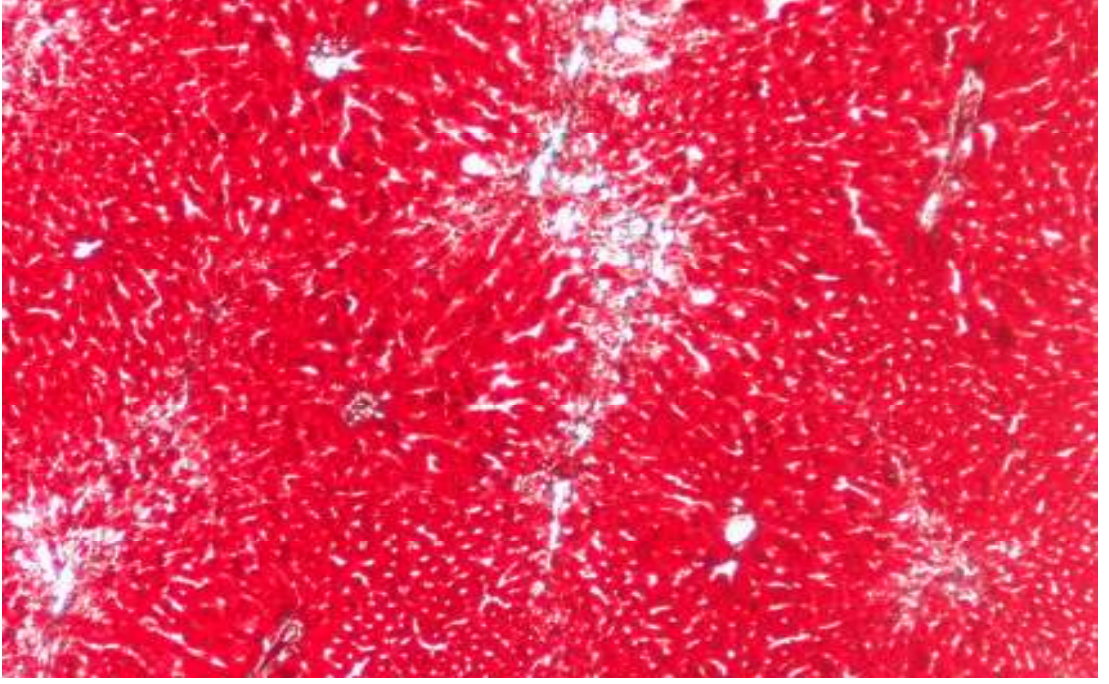


**Şekil 4.19:** Grup V'te az miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (HE; x 10).

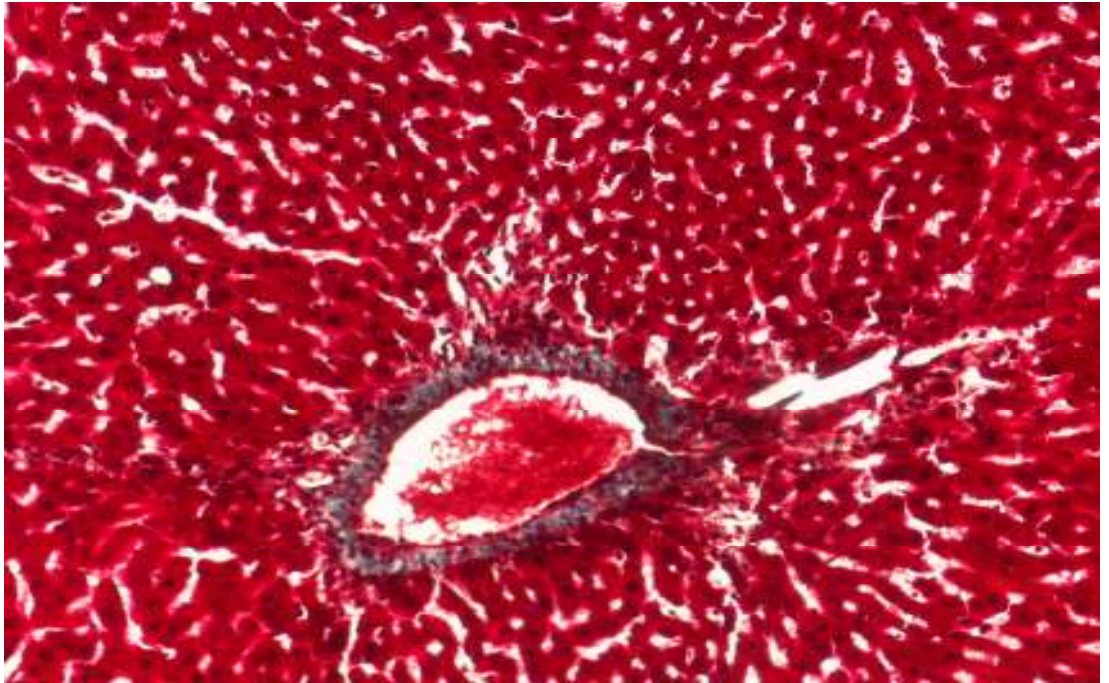


**Şekil 4.20:** Grup V'te hafif yağlanma ve az miktarda mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekmektedir (HE; 20).

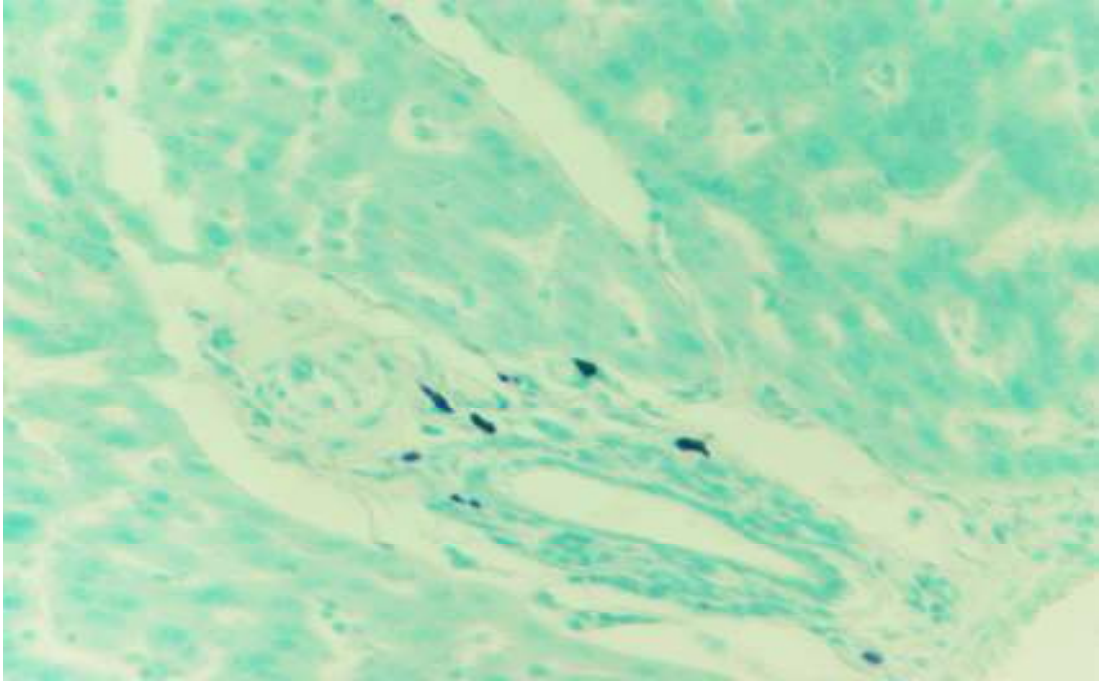




**Şekil 4.21:** Grup V 'te III. zonda yoğunlaşmış yağlanma odakları görülmektedir (MT; x 10).



**Şekil 4.22:** Grup V 'te perisentral fibrozise rastlanmaktadır (MT; x 20).



**Şekil 4.23:** Grup V'te portal alandaki mast mast hücreleri görünümü (TB; x 40).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer; sindirim sistemi ve dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu fonksiyonlar nedeniyle pek çok etkenle hasarlanabilmektedir. Çok çeşitli metabolik, toksik, mikrobik, dolaşım sal ve neoplastik hastalıklar karaciğeri etkileyebilmektedir. Erken hepatik hasarlar karaciğerin rezervi nedeniyle maskelenebilir, ancak harabiyetin ilerlemesi ciddi hasarlarla sonuçlanabilir. Karaciğer, metabolizmanın devamı için ortaya koyduğu fonksiyonları ve pek çok nedenle hasarlanabilirliğinden dolayı üzerinde çok çalışan bir organdır. Kronik karaciğer hasarları ve siroz batı ülkelerinde başta gelen ölüm nedenlerindedir (1,2,3,4,5).

Hepatik fibrozis, çok sayıda hücre sel ve moleküler sürecin dahil olduğu ilerleyici bir patolojik durumdur. Viral hepatitler; alkol kullanımı, ilaçlar ve metabolik hastalıklar, kronik hasarlar oluşturarak karaciğer fibrozisi oluşturur. Hasarlanma süreci etkin bir rejenerasyon ve onarımla cevaplanmazsa normal karaciğer yapısı bozulur. Kollajen ve ekstrasellüler matriks proteinleri "Disse aralığı"nda birikmeye başlar, artan bağ dokusu sirozla sonuçlanabilir (2).

Deneysel çalışmalarda pek çok madde ile karaciğer hasarı oluşturulmasına rağmen en çok tercih edilen maddelerden biri karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>)'dür (6,7,8,9,10,11,12,13,14,15).

CCl<sub>4</sub>, akut hasarlar oluşturması yanında uzun süreli kullanımı ile kronik hasarlar oluşturarak siroza kadar uzanan sonuçlar vermektedir (7, 9,10,16,17,99,100). CCl<sub>4</sub>' le deneysel olarak oluşturulan karaciğer hasarları insanlardaki karaciğer hasarları modeline uygunluk göstermektedir. Bundan dolayı sıçan siroz modellerinde; hasar süreçleri yanında karaciğeri koruyucu ilaçların çalışılması; bu ilaçların, insanlar üzerinde potansiyel faydalarını ortaya koyabilecektir (100,101).

Çalışmamızda, karaciğer hasarı oluşturmak için  $CCl_4$  kullandık.  $CCl_4$ , oksijen radikalleri oluşturmakta ve hücrelerde özellikle karaciğerde lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır.  $CCl_4$  agranüler endoplazmik retikulumda; triklorometil ( $CCl_3$ ) radikaline,  $CCl_3$  de triklorometilperoksit ( $CCl_3O_2$ ) radikaline dönüştürülmektedir.  $CCl_3O_2$ , birinci mekanizma ile direkt olarak özellikle membran proteinleri ve kovalent bağlar üzerinden enzimleri inaktive ederek alkilasyon reaksiyonu oluşturduğu veya ikinci mekanizma ile membran yağ asitlerini etkileyerek lipid peroksidasyonunu uyardığı ileri sürülmektedir (7,39,102).  $CCl_4$  lipid peroksidasyonunu yaygın şekilde artırarak özellikle endoplazmik retikulum ve mitokondrileri bozmaktadır. Karaciğerde kaspas-3'ü aktive ederek apoptosisi artırmaktadır. Nekroz,  $CCl_4$  uygulamasından 12 saat sonra yoğunluk kazanmaktadır (7,9,103,104).

$CCl_4$ , tek injeksiyondan sonra bile hepatositlerde yağ dejenerasyonu ve koagülasyon nekrozu meydana getirmesi yanında tekrarlayan injeksiyonlarda siroz meydana getirir (9).

$CCl_4$  uygulaması ile ilerleyen süreçlerde hepatik yapı bozulur, metabolik bölgeselleşme kaybolur, mikrovasküler değişiklikler ortaya çıkar, sinüzoid/hepatosit metabolik değişim yüzeyi azalır. Parankimal kitle artışına bağlı azalmış vaskülarizasyon, fonksiyonel ihtiyacı karşılayamaz ve karaciğer yetmezliği gelişimine neden olur (9).

Grizzi ve arkadaşları, akut olarak  $CCl_4$  uyguladıktan 2 ve 24 saat sonra inceledikleri sıçanlarda; 2 saat sonra sentrolobüler zonda hepatosit nekrozu ve makrofaj ile lenfositten yoğun inflamatör hücre infiltrasyonu saptamışlardır. Sentrolobüler zonda yer alan hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, vakuolizasyon ve şişme saptamışlardır. Yağlı değişimlerin birkaç damlacık tarzında ve değişken hacimde olduğunu bildirmişler; aynı karakteristik bulguları 24 saat sonra da şiddetlenmiş olarak saptamışlardır (104). Yapmış olduğumuz çalışmada literatürle uyumlu olarak,  $CCl_4$  grubunda ciddi hasarlar oluştu. Karaciğerde özellikle III. zon bölgesinde vena sentralisler çevresinde yoğunlaşmış yağlanma, hepatositlerde bozulmalar ortaya çıktı. Yağlanma makroveziküler tipte olması yanında mikroveziküler

tipte de gözlemlendi. Portal alanlarda safra duktus proliferasyonu izlendi. Yer yer portosentral fibrozis odakları gözlemlenmesi yanında mononükleer hücre infiltrasyonu odaklarınınada rastlandı (Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak, malondialdehit (MDA) tayini bir ayıraç olarak kullanılmaktadır. CCl<sub>4</sub> oluşturduğu serbest radikallerle, lipit peroksidasyonunu indüklemekte ve MDA düzeylerinde artışa sebep olmaktadırlar. (2,24,25,26). Ayrıca oksidatif stres, fibrozis oluşumunda da önemli bir rol üstlenmektedir. Oksidatif hasarlar karaciğer stellat hücrelerini uyarmakta ve fibrozisi şiddetlendirmektedir (19,20). Ayrıca lipit peroksidasyonu fibroblast ve hepatik stellat hücrelerinin kollajen gen transkripsiyonunu uyarır (21,22). Aynı zamanda, uyarılmış olan Kupffer hücreleri; proinflamator sitokinleri, tümör nekrozis faktör-a (TNF-a) ve interlökin-1h (IL-1 h) üretimini de indüklerler. Bundan dolayı oksidatif stresin inhibe edilmesi ve inflamator sitokinlerin üretiminin önüne geçilmesi faydalı sonuçlar sağlayacaktır (2,23). Çalışmamızda CCl<sub>4</sub> grubunda MDA değerleri, kontrol grubuna göre yükselmiş olarak bulundu (p<0,05). III. grupta MDA değerlerinin yükselmesi literatürcede desteklenmektedir (2,24,26).

Mast hücreleri oldukça karmaşık roller üstlenmekte olup; kronik inflamatuvar hastalıklar, aşırı duyarlılık reaksiyonları, fibrotik bozukluklar, romatoid artrit, yangısal barsak hastalıkları, siklorederma, akciğerin fibrotik bozuklukları gibi pek çok patolojik ve fizyolojik süreçlerde anahtar rol oynarlar. Mast hücreleri yangı bölgelerine göç ederek aktif hale gelirler ve granüllerini boşaltarak, lökosit infiltrasyonuna ve lokal inflamasyona yol açarlar (27,30,31,98,105,106,107,108,109). Mast hücrelerinin, karaciğer transplantasyonundan sonra gerçekleşen doku reddi reaksiyonlarında işlev gördüğü ve özellikle kronik red'lerde sayısal artış gösterdiği belirtilmiştir (105).

Karaciğerdeki mast hücrelerinin, mukozal mast hücreleri olduğu belirtilmiştir (31). Mast hücreleri, özellikle portal alanlarda, hepatik parankimada, fakat daha yaygın ve yoğunlaşmış olarak safra duktusları çevresinde yerleşim göstermektedir. Hepatik mast hücrelerinin lokal

immünolojik olaylarda, bağ dokusunun onarım ve devamlılığında rol oynayabileceği ifade edilmiştir (30,31,110,111).

Karaciğer mast hücrelerinin özellikle kronik hasarlarda artış gösterdiği belirtilmektedir. Mast hücrelerinin sayısal artış göstermesi insan çalışmaları yanında çeşitli deneysel modellerle de ortaya konmuştur. Mast hücreleri fibrojenik mediyatörler salarak fibroblast gelişim, büyüme ve çoğalmalarını uyaran faktörler üretmesi yanında; fibroblast ve stellat hücrelerinin (İto hücreleri) ekstrasellüler matriks üretimini ve kollajen sentezini de uyarırlar. Bundan dolayı mast hücrelerinin karaciğer fibrozisi gelişiminde rol alabileceği belirtilmiştir (27,28,29). Fibrotik ve sirozlu karaciğerde mast hücreleri özellikle fibrotik portal alanlarda, fibröz septalarda, safra duktusları civarında ve inflamasyon alanlarında birikim göstermektedirler (11,13,27,30,31, 105,111,112,113). Karaciğerdeki mast hücre hiperplazisi CCl<sub>4</sub> yanında; dietilnitrozamin, radyasyon, domuz serumu ve safra duktus rezeksiyonları gibi çeşitli etkenlerle oluşturulan sıçan karaciğer fibrozislerinde de tespit edilmiştir (27,114).

Nonfibrotik insanlarda ve hem viral kökenli hem de çeşitli ajanlarla indüklenmiş akut hepatitlerde mast hücre miktarının önemli derecede artmadığı ifade edilmiştir (30,111,113). Kronik karaciğer hastalıklarında aynı şekilde perisellüler ve perivenüler fibrozis olgularında; hepatik asinusların zon 2 ve zon 3 bölümlerinde de önemli bir artışa rastlanmamıştır. Farel ve arkadaşları, alkole bağlı karaciğer hastalıklarında ve primer biliyer sirozda, portal fibrozis alanlarında mast hücrelerinin arttığını göstermişler ve özellikle kronik kolestatik karaciğer hastalıklarında mast hücrelerinin karaciğer fibrozisi gelişiminde önemli rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir (111). Yine Yamashiro ve arkadaşları, yaptıkları klinik çalışmada, akut karaciğer hastalıklarında mast hücrelerinin artış göstermemesine rağmen alkolik karaciğer fibrozislerinde, primer biliyer sirozun III. ve IV. safhalarında, kronik viral hepatitlerde portal alan ve fibrotik alanlarda belirgin artışın olduğunu saptamışlardır (30). Özellikle karaciğer fibrozisinin geç safhalarında mast hücreleri sürece dahil olmaktadır (113). Jeong ve arkadaşları, sıçanlarda CCl<sub>4</sub> uygulamasıyla 14. hafta sonunda mast hücre miktarının maksimuma

ulaştığını ifade etmişlerdir (115). Ozaki ve arkadaşları, konjenital hepatik fibrozisli (CHF) hastalarda yaptıkları çalışmada mast hücrelerinin özellikle fibrotik portal alanlarda ve fibröz septalarda oldukça artmış olarak tespit etmişler ve bu artışın diğer fibrotik karaciğer hastalıklarındakine göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır (116).

Yaptığımız çalışmada mast hücrelerini özellikle CCl<sub>4</sub> grubunda artmış olarak belirledik (p<0,05). Mast hücreleri özellikle portal alanlarda bir artış göstermelerine rağmen karaciğerin diğer bölgelerinde bir artış ortaya çıkmadı (Şekil 4.4, 4.13). Rioux ve arkadaşları (31), safra duktus rezeksiyonu yaptıkları çalışmalarında, mast hücrelerinin 7. günde belirgin artış göstermediğini ancak 14. gün ve 21. günlerde artış olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda bir haftalık süre içerisinde mast hücrelerinde artış ortaya çıkması; CCl<sub>4</sub>'ün karaciğerde, safra duktus rezeksiyonundan daha ciddi hasarlayıcı olduğunu ortaya koymaktadır. Akut hasarlarda mast hücrelerinde belirgin artış ortaya çıkmadığı ifade edilmesine rağmen (30,111,113), Grizzi ve arkadaşları, çok düşük dozda 3 mg/kg CCl<sub>4</sub> injeksiyonu sonucunda, 2 saat sonra ortaya çıkan mast hücrelerinin 24 saat sonra daha da artmış olduğunu ifade etmişlerdir (104 ). Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyum içindedir.

Karaciğer hasarları daha başlangıç dönemlerinde belirlenip etkin bir tedavi geliştirilmezse, fibrozisten siroza kadar uzanan geri dönüşümsüz hasarlar ortaya çıkmaktadır. Karaciğer hasarlarının etkin bir tedavisi için pek çok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır (2,24,26,27,33,34,99,117,118).

E vitamini uzun yıllardır güçlü antioksidan etkisi nedeniyle üzerinde durulan ve tedavi gücünden faydalanılmaya çalışılan bir ajandır (6,34,37,38,47,53,120). E vitamini antioksidan etkinliği ile peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize etmektedir (32,33,34). Alfa tokoferol, lipit yıkım reaksiyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur. E vitamini, hücre ve organellerin membran lipitleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle membranları oksidatif hasara karşı korur. Böylece genel olarak membran stabilitesini sağlar (15,16). Oksijen radikallerini; hücre zarlarına, nükleik asitlere ve hücre organellerine saldırmadan kendine çeker ve bağlar. E vitamini doymamış yağ

asitleri ve diğler yağları içeren hücresele membranlara yerleşerek oksidatif hasarları engeller. E vitamininin eksikliğinde hücresele membranların serbest radikallerden zarar gördüğü ve hücre içine kalsiyum iyonlarının geçişinde artış olduğı belirtilmiştir (34,35,36,37,38,39).

Jordao, serbest radikallerin karaciğer hasarlarının patogenezisinde yer aldığını ifade ederek; bunu, oksijen reaktif türlerini artırarak ve antioksidanları azaltarak gerçekleştirdiğini; E vitamininin de bu etkilerden karaciğeri koruduğunu belirtmiştir (37). Kronik etanol uygulaması gibi serbest radikal artışı sağlayan ajanlar hepatik α-tokoferol'ü azaltmakta ve karaciğeri hasarlara açık hale getirmektedir. Antioksidan özellikteki E vitamininin diyetle verilmesi oksidasyonu azaltmaktadır. Jordao, sıçanlara etanol verdiği çalışmasında saatler içerisinde kontrol gruplarına göre karaciğerdeki E vitamini miktarlarında önemli düşüşler saptamıştır (37). Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin varlığında oksidatif değişimlere yol açarak, hastalıkların başlamasında ve devamında önemli bir etki oluşturmaktadır. MacDonald, α-tokoferol diyetiyle beslediği sıçanlarda CCl<sub>4</sub> verilmesinin E vitamini düzeyini önemli ölçüde düşürdüğünü ifade etmiştir (6).

Pek çok nedenle ortaya çıkan non-alkolik steatohepatit (NASH), genel popülasyonun % 2 – 6'sını etkilemekte ve vakaların % 7 – 17'sinde siroza neden olmaktadır. NASH olgularında; yağlanma makroveziküler özellikte olup, özellikle III. zonda ve vena sentralis çevresinde odaklanmaktadır. Aynı şekilde uygulanan E vitamini tedavisinin, NASH olgularında fibrozis ve inflamasyonu da azalttığı belirtilmiştir (34,121).

Alkolik karaciğer hastalıkları toplumda oldukça yaygındır. Alkol karaciğerde serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonu ile oksidatif hasara neden olmaktadır. Antioksidanlar ise serbest radikalleri nötralize etmektedir. MDA düzeyi alkolik karaciğer hastalıklarında ciddi oranda yükselirken, E vitamini düzeyleri düşmektedir. Alkol kullanımlarında ortaya çıkan oksidan etkiden vücudun korunması için, E vitamini alınmasının koruyucu olacağı rapor edilmiştir (122,123).



Look ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmalarda, sirozlu hastalarda safha ne olursa olsun serumdaki E vitamini seviyelerinin düşük olduğunu bulmuşlardır. Buna bağlı olarak da siroz oluşumunda E vitamini eksikliğinin önemli rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir (124). Yine sirozlu hastalar üzerinde yapılan klinik araştırmalarda, hem serumda hem de karaciğer biyopsilerinde E vitamininin önemli derecede düşük olduğu saptanmış (125,126) ve kronik karaciğer rahatsızlığı bulunan hastalarda E vitamini düzeyinin kontrol edilmesi gerektiği önemle vurgulanmıştır (36).

Yaptığımız çalışmada; grup IV, histomorfolojik olarak incelendiğinde, sinüzoidler ve hepatosit kordonları düzenli olarak gözlemlenirken; vena sentralis çevresinde çok hafif yağlanma saptandı. Grup III ve grup IV karşılaştırıldığında, yağlanmanın azaldığı; ilave olarak, grup IV'de; hepatositlerin yer yer hafif irileştiği ve nükleuslarda bazofil artışı ile irileşme saptanmasına rağmen, bu durumun grup III'e kıyasla daha hafif olduğu belirlendi. CCl<sub>4</sub> grubunun aksine safra duktuslarında proliferasyon bulunmadı. Fibrozis yönünden de görünüm normaldi. Mononükleer hücre infiltrasyonuna ise rastlanmadı (Şekil 4.14, 4.15, 4.16, 4.17). Mast hücreleri açısından incelendiğinde, grup IV'de; grup I ve grup II'ye nazaran artmış bir mast hücresi olmasına rağmen, grup III ile kıyaslandığında mast hücre artışının daha az olduğu saptandı (Şekil 4.2, 4.18).

Grup IV'de, MDA ölçümleri yönünden, grup III'e kıyasla daha iyi durumdaydı (Şekil 4.1). Hem mast hücre sayıları hemde MDA değerleri açısından fark istatistiksel yönden anlamlıydı ( $p < 0,05$ ).

Grup V'de yapılan histomorfolojik incelemede; yağlanmanın özellikle Vena sentralis çevresinde yoğunlaştığı ve nükleuslarda bazofil artışı ile nükleer irileşmenin olduğu saptandı. Mononükleer hücre infiltrasyon odakları ise azalmıştı (Şekil 4.19, 4.20, 4.21). Grup III'e kıyasla histolojik bulgular daha iyi gözlenmesine rağmen, grup IV'e kıyasla bulguların daha şiddetli olduğu gözlemlendi.

Grup V, mast hücreleri yönünden değerlendirildiğinde; sayısal artışın grup III ile grup IV arasında olduğu tespit edildi (Şekil 4.2, 4.23). MDA

değerlerindeki aynı şekilde arada bir değere sahip olduğu görüldü (Şekil 4.1). Bu farklılıklar istatistiksel yönden anlamlıydı ( $p < 0,05$ ).

$CCl_4$ , histolojik yapıyı bozarak mast hücre sayılarında artışa neden olurken; MDA değerlerini de yükseltmektedir. Mast hücrelerindeki artış ve MDA değerlerindeki yükseliş, karaciğer hasarını şiddetlendirerek fibrozisin ilerlemesine ve sirozla sonuçlanmasına neden olmaktadır (2,24,25,26,30,31,114,127). Çalışmamızda E vitamini, karaciğerin histolojik yapısını koruyarak mast hücre sayısını ve MDA değerlerini düşürmüştür. Pek çok çalışma mast hücre sayısının ve MDA değerlerinin düşürülmesinin önemine işaret ederek, bizim çalışmamızı desteklemektedir (2,24,26,127). Ancak, literatür taramalarında özellikle E vitamininin;  $CCl_4$  hasarlarında mast hücre sayısını düşürebileceği ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bu da bizim çalışmamızın orijinalliğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, E vitamini;  $CCl_4$ 'le oluşturulan karaciğer hasarlarında, karaciğer morfolojisini koruyarak, MDA değerleri ve mast hücre sayılarının düşürülmesinde etkin rol almaktadır. Literatürlerde, E vitamininin mast hücrelerinin sayısını etkileyebileceğini vurgulayan çalışmalara rastlanılmaması, bu konuda deneysel ve klinik çalışmaların yoğunlaştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Robbins, KC.: Basic Patology; Nobel Tıp Kitabevi; 2000: 517 - 555.
2. Wang, H., Weit W., Wang, NP., et all: Melatonin Ameliorates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Fibrogenesis In Rats Via Inhibition Of Oxidative stres. Life Sciences.2005;77 1902–1915.
3. Anthony, PP., Ihsak, KG., Nayak, NC., et al: The Morphology Of Cirrhosis. J Clinical Pathol. 1978; 31: 395-414.
4. Gross, JB., Reichen, J., Zeltner, TB., et al: The Evolution Of Changes In Quantitative Liver Function Tests In A Rat Model of Biliary Cirrhosis: Correlation With Morphometric Measurement of Hepatocyte Mass. Hepatology.1987; 7: 457-463.
5. Lieber, CS.: Alcohol And The Liver: 1994 update. Gastroenterology. 1994; 106:1085-1105.
6. MacDonald-Wicks, LK., Garg, ML.:Vitamin E Supplementation In The Mitigation Of Carbon tetrachloride Induced Oxidative Stress In Rats. Journal of Nutritional Biochemistry.2003; 14: 211-218.
7. Sun, F., Hamagawa, E., Tsutsui, C., et all: Evaluation Of Oxidative Stres During Apoptosis And Necrosis Caused By Carbon tetrachloride In Rat Liver. Biochimica at Biophysica Acta.2001; 1535: 186-191.
8. Geier, A., Kim, SK., Gerloff, T., et all: Hepatobiliary Organic Anion Transporters Are Differentially Regulated In Acute Toxic Liver Injury Induced By Carbon Tetrachloride. Journal of Hepatology. 2002; 37: 198-205.
9. Onori, P., Morini, S., Franchitto, A., et all: Hepatic Microvascular Features In Experimental Cirrhosis: A Structural And Morphometrical Study In CCl<sub>4</sub>-Treated Rats. Journal of Hepatology.2000; 33: 555-563.
10. Moghaddam, AP., Eggers, JS., Calabrese, EJ.: Evaluation Of Sex Difference In Tissue Following Acute Carbon Tetrachloride Toxicity In Male And Famale Sprague-Dawley Rats. Toxicology.1998; 130: 95-105
11. Akiyoshi, H., Terada, T.: Mast Cell, Myofibroblast And Nerve Terminal Complexes In Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhotic Rat Livers. Journal of Hepatology. 1998; 29: 112-119.

12. Nanni, G., Majorani, F., Maloberti, G., et al: Action Of Chronic CCl<sub>4</sub> On The Retinol And Dolichol Content Of Rat Liver Parenchymal And Non-Parenchymal Cells. *Life Sciences*.2000; 67: 2293–2304.
13. Mahmoud, A.: Protective Effects Of Thymoquinone And Desferrioxamine Against Hepatotoxicity Of Carbon tetrachloride In Mice. *Mansour Life Sciences*, Vol. 66, No. 26. 2000: 2583-2591.
14. Lee, J II., Lee, KS., Paik, YH., et all: Apoptosis Of Hepatic Stellate Cells In Carbon tetrachloride Induced Acute Liver Injury Of The Rat: Analysis Of Isolated Hepatic Stellate Cells.*Journal of Hepatology*. 2003; 39: 960-966.
15. Giuseppe, M.: Campo Hyaluronic Acid And Chondroitin-4-Sulphate Treatment Reduces Damage In Carbon tetrachloride-Induced Acute Rat Liver Injury.*Life Sciences*. 2004; 74 : 1289–1305.
16. Montfort, I., Tamayo RP.: Collagenase In Experimental Carbon tetrachloride Cirrhosis Of The Liver.*Am J. Pathol*.1978; 92: 411-419.
17. Rozga, J., Foss, A., Aluments, J., et all: Liver Cirrhosis In Rats:Regeneration And Assesment Of The Rol Of Phenobarbital. *J. Surgical Research*.1991; 51: 329-335.
18. Perez-Tamayo, R.: Is Cirrhosis Of The Liver Experimentally Produced By CCl<sub>4</sub> And Adequate Model Of Human Cirrhosis? *Hepatology*. 1983; 3: 112-120.
19. Parola, M., Robino, G:Oxidative Stress-Related Molecules And Liver Fibrozis. *Journal of Hepatology*. 2001; 35 (2): 297–306.
20. Poli, G.: Pathogenesis Of Liver Fibrozis: Role Of Oxidative Stress. *Molecular Aspects of Medicine*. 2000; 21 (3): 49–98.
21. Lee, KS., Buck, M., Houglum, K., et all: . Activation Of Hepatic Stellate Cells By TGF Alpha and Collagen Type I Is Mediated By Oxidative Stress Through C-Myb Expression. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;96 (5): 2461–2468.
22. Parola, M., Pinzani, M., Casini, A., et all: . Stimulation Of Lipid Peroxidation Or 4-Hydroxynonenal Treatment Increases Procollagen Alpha 1 (I) Gene Expression In Human Liver Fat-Storing Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1993; 194 (3): 1044–1050.

23. Friedman, SL., 2003. Liver Fibrosis—From Bench To Bedside. *Journal of Hepatology* 38 (Suppl 1). 2003: S38–S53.
24. He, SX., Luo, JY., Wang, YP., et al: Effects Of Extract From Ginkgo Biloba On Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury In Rats. *World J. of Gastroenterology*. 2006 June; 12(24): 3924-3928.
25. Arezzini, B., Lunghi, B., Lungarella, G., et al: Iron Overload Enhances The Development Of Experimental Liver Cirrhosis In Mice. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2003; 35: 486-495.
26. Lin, WC., Lin, WL.: Ameliorative Effect Of Ganoderma lucidum On Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis In Rats. *World J Gastroenterol*. 2006; 14:12(2):265-2770.
27. Sugihara, A., Tsujimura, T., Fujita, Y., et al: Evaluation Of Role Of Mast Cells In The Development Of Liver Fibrosis Using Mast Cell-Deficient Rats And Mice. *Journal of Hepatology*. 1999; 30: 859-867.
28. Boucek, K., Noble, NL.: Histamine, Norepinephrine And Bradykinin Stimulation Of Fibroblast Growth And Modification Of Serotonin Response. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1973; 144: 929-33.
29. Romadori, G.: The Stellate Cell (Ito-cell, fat-storing cell, lipocyte, perisinusoidal cell) Of The Liver. *Virchows Arch B Cell Pathol*. 1991; 61: 147-58.
30. Yamashiro, M., Kouda, W., Kono, N., et al: Distribution Of Intrahepatic Mast Cells In Various Hepatobiliary Disorders An Immunohistochemical Study. *Virchows Arch*. 1998; 433: 471–479 .
31. Kevin P., Rioux, Keith A., Sharkey, et al: Hepatic Mucosal Mast Cell Hyperplasia In Rats With Secondary Biliary Cirrhosis. *Hepatology* Vol. 23, No. 4:1996.
32. El-Demerdash, FM., Yousef, MI., Kedwany, FS., et al: Cadmium-Induced Changes In Lipid Peroxidation, Blood Hematology, Biochemical Parameters And Semen Quality Of Male Rats: Protective Role Of Vitamin E And  $\beta$ -Carotene. *Food and chemical toxicology*. 2004; 42: 1563-1571.
33. Kozampassi, K., Paramythiotis, D., Tsiakitzis, D., et al: The Impact Of  $\alpha$ -Tocopherol On Radiation-Induced Liver Injury. *Nutrition Research*. 2003; 23: 103-109.

34. Harrison, SA., Torgerson, S., Hayashi, P., et al: Vitamin E And Vitamin C Treatment Improves Fibrosis In Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. The American Journal of Gastroenterology. Vol. 98, No.11:2003.
35. Kayaalp, O:Tıbbi Farmakoloji; 2002;91:1484-1489.
36. Sokol, RJ: The Coming Of Age Of Vitamin E. Hepatology.1989; 9: 649-653.
37. Jordao Jr, AA., Chiarello, PG., Arantes, MR., et al:..Effect Of An Acute Dose Of Ethanol On Lipid Peroxidation In Rats: Action Of Vitamin E. Food and chemical toxicology.2004; 42: 459-464.
38. Frank, J.:Beyond Vitamin E Supplementation: An Alternative Strategy To Improve Vitamin E Status.Journal of Plant Physiology.2005; 162: 834-843.
39. Comporti, M: Biology Of Disease Lipit Peroxidation And Cellular Damage InToxic Liver Injury. Lab. Invest.1985; 53: 599-623.
40. Kayalı, H. : Özel Histoloji; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; 1992: 140-151.
41. Erbeni, T.: Histoloji 2 ; Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş.; 99-121.
42. Junqueira, LC., Carneiro, J., Kelley, RO.:Temel Histoloji; Barış Kitapçılık; 1998;15:307-319.
43. Tekelioğlu, M.: Özel Histoloji; ANTIP A.Ş. Yayınları ; 2002;3: 53-54.
44. Kierszenbaum, AL.: Histoloji ve Hücre Biyolojisi; Palme yayıncılık; 2006: 458-468.
45. Kayaalp, O:Tıbbi Farmakoloji; 2002;91:1484-1489.
46. Champe, PC., Harvey., RA. ; Biyokimya; Nobel tıp kitabevleri ltd. şti; 1997; 2: 340.
47. Jiang, Q., Lykkesfeldt, J., Shigenaga, MK., et al:  $\gamma$ - Tocopherol Supplementation Inhibitis Protein Nitration And Ascorbate Oxidation In Rats With Inflammation. Free Radical Biology & Medicine.Vol. 33, No. 11.2002:1534-1542.
48. Aslan, R., Dündar, Y.: Nitric Oxide As A Biophysiological Component And Radical Metabolite. Hay Araş Ens Derg.1998; 1-2: 35-8.
49. Morreale, M., Livrea, MA.: Synergistic Effect Of Glycolic Acid On The Antioxidant Activity Of Alpha-Tocopherol And Melatonin In Lipid Bilayers And In Human Skin. Biochem Mol Biol Int.1997; 42:1093-102.

50. He, Y., Root, MM., Porkers, PS., et al: Effects Of Carotenoid-Rich Food Extracts On The Development Of Preneoplastic Lesions In Rat Liver Antioxidant Status. *Nurt Cancer*. 1997; 27: 238-44.
51. Money, LA., Contribution Of Genetic And Nutritional Factors To DNA Damage In Heavy Smokers. *Carcinogenesis*. 1997; 18: 503-9.
52. Sigounas, G., Anagnostou, A., Steiner, M.: DI-Alpha-Tocopherol Induces Apoptosis In Erythroleukemia, Prostate, And Breast Cancer Cells. *Nutr Cancer*. 1997; 28: 30-5.
53. Galley, HF., Thornton, J., Howdle, PD., et al: Combination Oral Antioxidant Supplementation Reduces Blood Pressure. *Clin Sci Cloch*. 1997; 92: 361-5.
54. Karlsson, J., Ranneberg, R., Semb, B.: Vitamins Q And E, Extracorporeal Circulation And Hemolysis. *Mol Cell Biochem*. 1997; 173 (1,2): 33-41.
55. Aslan, R., Dündar, Y.: Nitric Oxide As A Biophysiological Component And Radical Metabolite. *Hay Araş Ens Derg*. 1998; 1-2: 35-8.
56. Fox, ES., Brower, JS., Belezso, JM., et al: N-Acetylcysteine And Alpha-Tocopherol Reverse The Inflammatory Response In Activated Rat Kupffer Cells. *J. Immunol*. 1997; 1: 5418-23.
57. Palomaki, A., Malminiemi, K., Metsa-Ketela, T.: Enhanced Oxidizability Of Ubiquinol And Alpa-Tocopherol During Lovastatin Treatment .1997; 410: 254-8
58. Evelson, P., Ordonez, CP., Llesuy, S., et al: Oxidative Stress And In Vivo Chemiluminescence In Mouse Skin Exposed to UVA Radiation. *J Photochem Photobiol B*. 1997; 38: 215-9
59. Thiele, J., Traber, MG., Tsang, K.: In Vivo Exposure To Ozone Depletes Vitamins C And E And Induces Lipid Peroxidation In Epidermal Layers Of Skin. *Free Radic Biol Med*. 1997; 23: 385-91.
60. Steiner, M.: Vitamin E: More Than Antioxidant. *Clin Cardial*. 1993; 16: 16-8.
61. Wen, Y., Doyle, MC., Harrison, RF., et al: The Effect Hormone Replacement Therapy On Vitamin E Status In Postmenopausal Women. *Maturitos*. 1997; 26: 121.

62. Van-Der-Meulen, JH., McArdle, A., Jackson, MJ., et all: Contraction-Induced Injury To The Extensor Digitorum Longus Muscles Of Rats: The Role Of Vitamin E. *J Appl Physiol.* 1997; 83: 817-23.
63. Hirose, J., Yamaga, M., Ide, J., et all: Reduced Ischemia-Reperfusion Injury In Muscle: Experimentes In Rats With EPC-KI, A New Radical Scavenger. *Acta Orthop Scand.* 1997; 68: 369-73.
64. Westermarck, T., Aberg, L., Santovuori, P., et all: Evaluation Of The Possible Rolle Of Coenzy Q10 And Vitamin E In Juvenile Neuronal Ceroid-Lipofuscinosis. *Mol Aspects Med.* 1997; 18: 259-62.
65. Melman, SA: Mast Cells And Their Mediators. *Int J. Dermatol.* 1987; 26 (6): 335-43.
66. Archer, RK.: The Mast Cell *J.The Royal Society of Medicine.* 1980; 73: 318-319.
67. Atkins, FM., Clark, RAF.:Mast Cells And Fibrozis. *Arch.Dermatol.* 1987;123: 191-193.
68. Takeuchi, K., Nishiwaki, H., Nijda, H., et all: Different Effects Of Cytoprotective Drugs On Ethaol-And Aspirin-Induced Gastric Mucosal Injury Inpylorus-Ligated Rats.*Dig.Dis.Sci.,35,2.* 1990: 178-185.
69. Şeftalioğlu, A.: 48/80 İle Stimüle Olmuş Sıçan İnguinal Lenf Dügümü Mast Hücrelerinin Histokimyasal Ve Morfolojik Değişiklikleri. *Deniz Tıp Bülteni.* 1996; 12: 1-20.
70. Riley, JF., (1959)"The Mast Cells".E and S.Livingstone LTD,Edinburg
71. Kitamura, Y., Shimada, M., Go, S, et all.: Decrease Of Mast Cells In  $W/W^v$  Mice And Their Increase By Bone Marrow Transplantation. *Blood.* 1978; 52,2: 447-452.
72. Miller, HRP., Jarret, WFH.: Immune Reactions In Mucosa Membranes, I.Intestinal Mast Cell Response During Helminth Expulsion In The Rat. *Immunology.* 1971; 20: 277-288.
73. Andrew, A., Rawdon, BB.: The Embryonic Origin Of Connective Tissue Mast Cells. *J. Anat.* 1987; 150:129-227.
74. Tharp, MD., Kagey-Sobotka, A., Foy, CC.:Functional Heterogeneity Of Human Mast Cells From Different Anatomic Sites:In Vitro Responses To Morphine Sulfate. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1987; 79: 646-653.



75. Theoharides, TC.:Mast cells:The Immune Gate To The Brain. Life Sciences. 1990; 46:607-617.
76. Wasserman, SL.:Mast Cell Biology J. Allergy Clin.Immunol.1990; 86: 590-593.
77. Guy-Grand, D., Dy, M., Luffav, G., et all: Mucosal mast cells: Origin, Traffic And Differentiation In Mice And Rats. Ann Inst Pasteur/Immunol.1986;137(D): 215-22.
78. Soylu, R., Kalkan, SS., Duman, S., ve ark.:Mast Hücreleri. Optimal Tıp Dergisi.1990; 3: 35-39.
79. Krüger, PG.: Morphology Of Normal And Secreting Mast Cells. Acta Otoloryngol (stockh) suppl. 1984; 414:118-23.
80. Dvork , AM., Schleimer, RP., Lichtenstein, LM.: Morphologic Mast Cell Cycles. Cellular İmunology. 1987; 105: 199-204.
81. Lever, WF., Schaumburg-Lever, G.: Histopathology Of The Skin. 7th ed.Philadelphia:JB Lippincott Company.1990: 62-4.
82. Tavlı, L., Karaca, AR., Erol, O.: Abortus Olaylarında Mast Hücrelerinin Plasentadaki Durumu. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi .1990; 3(1): 35-9.
83. Schmauder-choc, E.A., Chock, SP.: Mechanism Of Secretory Granule Exocytosis: Can Granule Enlargement Precede Pore Formation? Histochemical Journol. 1987; 19: 413-418.
84. Ross, MH., Reith., EJ.: Histology: A Text And Atlas. İth ed. Newyork: JB Lippincott Compony.1985:92-7.
85. Sandvei, R., Wollen, A., Flood, PR., et all: Mast Cells In The Tuball In Women Using An Intrauterine Contraceptive Devices. British J of Obstetrics and Gynaecology; 93(July): 758-64.
86. Bardadin, KA. Scheuer, PJ.: Mast Cells In Acute Hepatitis. J of pathology 1986;149: 315-25.
87. Marshall, JS., Bienenstock, J.: Mast Cells. Springer Seminars in Immunopathology.1990; 12: 191-202.
88. Padilla, L., Reinicke, K., Montesino, H., et al: Histamine Content And Mast Cells Distribution In Mouse Uterus. Cellular and Molecular Biology. 1990; 36(1): 93-100.

89. Gleich, GJ.:Eozinophils, Basophils And Mast Cells.J. of Allergy and Clinical İmmunol.1989; 84(6-2):1024-27.
90. Kirkpatrick CJ, Jones CJP, Stoddort RW. Lectin Histochemistry Of Mast Cell: A Light Microscopical Study. Histochemical Journal 1988;20:139-46.
91. Gomez, E., Corrado, OJ., Davies, RJ.:Histochemical And Functional Characteristics Of The Human Nasal Mast Cell. Int.Archs Allergy appl.Immun.1987; 83: 52-56.
92. Kalaycı, Ş. (1980) Dolantının Mast Hücrelerine Etkisinin Histokimyasal Olarak Araştırılması, Doçentlik Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
93. Matter, SE., Bhatio, PS., Miner, PB.:Evolution Of Antral Mast Cells In Nonulcer Dypepsia. Dig. Dis. Sci, 35, 11. 1990:1358-1363.
94. Schwartz, LB., Metcalfe, DD., Miller, J.S., et all: Tryptoselevels As An Indicator Of Mast Cell Activation In Systemic An A Phylaxis And Mastocytosis. N. Eng. J. Med.1987; 316: 1622-1626.
95. Stevens, RL., Austen, KF.: Recent Advonces In The Celluler End Molecular Biology Of Mast Cells. İmmunology Today. 1989; 10 (11): 381-6.
96. Enerback, L., Mucosal Mast Cells In The Rat In Man. Int Archs Allergy Appl immune 1987;82:249-55.
97. Widemar, L., Hellström, S., Stenfors, LA.:An Overloked Site Of Tissue Mast cells: The Human Tympanic Membrane. Acta Otoloryngol (stockh). 1986;102:391-95.
98. Vural, Ö., Yılmaz, O.,Tavlı L, Ve ark.: Mast Hücrelerinin İltihap Ve Tümörlerle Olan İlişkileri. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.1991; 7(3): 307.
99. Wang, DH., Ishii, K., Zhen, LX., et all: Enhanced Liver Injury In Acatalasemic Mice Following Exposure To Carbon Tetrachloride. Arch Toxicol. 1996; 70: 189-194.
100. Perez-Tamayo, R.: Is Cirrhosis Of The Liver Experimentally Produced By CCl4 And Adequate Model Of Human Cirrhosis? Hepatology. 1983; 3: 112-120.

101. Paquet, KJ., Kamphausen, U.: The Carbon-Tetrachloride-Hepatotoxicity As A Model Of Liver Damage. First report: Long-time biochemical changes. *Acta epatogastroenterol* 1975; 22: 84-88.
102. Freeman, B., Crapo, JD.: Biology Of Disease, Free Radicals And Tissue Injury. *Lab. Invest.* 1982;47: 412-426.
103. Grizzi, F., Franceschini, B., Gagliano, N., et al: Mast Cell Density, Hepatic Stellate Cell Activation and TGF- $\beta$ 1 Transcripts In The Aging Sprague-Dawley Rat During Early Acute Liver Injury. *Toxicologic Pathology*, vol 31, no 2,2003: 173–178.
104. Doi, K., Kurabe, S., Shimazu, N., et all: Systemic Histopathology Of Rats With CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Cirrhosis. *Lab Animal* 1991; 25: 21–25.
105. O’Keeffe, C., Baird, AW., Nolan, N., et all: Mast Cell Hyperplasia In Chronic Rejection After Liver Transplantation. *Liver Transplantation*, Vol 8, No 1 (January). 2002: 50-57.
106. Bodni, Ra., Sapia, S., et all: Indolent Systemic Mast Cell Disease: Immunophenotypic Chracterization Of Bone Marrow Mast Cells By Flow Cytometry. 2003 *Jeadv.* 2003; 17: 160-166.
107. Hara, M., Ono, K., Hwang, MW., et all: Evidence For A Role Of Mast Cells In The Evolution To Congestive Heart Failure. *J.Exp.Med.*2002 feb 4; 195(3781).
108. Yüncü, M., Çerçi, M., Çakmak, EA.: Rat İntestinal Mast Hücrelerinin Toluidin Mavisi İle Metakromatik Boyanmasına Fiksasyonun Etkisi. *Osmangazi Ü. Tıp Fakültesi dergisi.* 1997; 1: 29-38.
109. Yüncü, M., Çerçi, M. Mast Hücrelerinin Orjini ve Heterojeniteleri İle İlgili Gelişmeler. *Türkiye Tıp Dergisi.* 1995; 2(4): 269-276.
110. Celasun, B., Crow, J., Scheuer, PJ.: Mast Cells In Granulomatous Diseases. *Pathol Res Pract.* 1992;188: 97–100.
111. Farrell, DJ., Jones, JE., Walls, AF., et all: Intrahepatic Mast Cells In Chronic Liver Diseases. *Hepatology.* 1995; 22:1175–1181.
112. Kurokawa, S.: Mast Cells Located In The Hepatic Tissue In Liver Diseases. *Jpn. J. Gastroenteral .* 1976; 73: 226-36.
113. Armburust, T., Batusic, D., Ringe, B., et all: Mast Cells Distribution In Human Liver Disease And Experimental Rat Liver Fibrozis. *Indications*

For Mast Cell Participation In Development Of Liver Fibrosis. *J.Hepatol.* 1997; 26:1042-54.

114. Akiyoshi, H., Terada, T.: Mast Cell, Myofibroblast And Nerve Terminal Complexes In Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhotic Rat Livers. *Journal of Hepatology.* 1998; 29: 112-119.
115. Jeong, WI., Lee, CS., Park, SJ., et al: Kinetics Of Macrophages, Myofibroblasts And Mast Cells In Carbon Tetrachloride-Induced Rat Liver Cirrhosis. *Anticancer Res.* 2002 Mar-Apr; 22(2A): 869-77.
116. Ozaki, S., Sato, Y., Yasoshima, M., et al: Diffuse Expression Of Heparan Sulfate Proteoglycan And Connective Tissue Growth Factor In Fibrous Septa With Many Mast Cells Relate To Unresolving Hepatic Fibrosis Of Congenital Hepatic Fibrosis. *Liver International.* 2005; 25: 817–828.
117. Da-Hee, J., Gi-Ppeum, Lee., Won-II, J., et al: Alterations Of Mast Cells And TGF- $\beta$ 1 On The Silymarin Treatment For CCl<sub>4</sub>-Induced Hepatic Fibrosis. *World J Gastroenterol .* 2005;11(8): 1141-1148.
118. El-Demerdash, FM.: Antioxidant Effect Of Vitamin E And Selenium On Lipid Peroxidation, Anzyme Activities And Biochemical Parameters In Rats Exposed To Aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 2004; 18: 113-121.
119. Kalender, Y.,Yel, M.,Kalender, S.: Doxorubicin Hepatotoxicity And Hepatic Free Radical Metabolism In Rats The Effects Of vitamin E And Catechin. *Toxicology.*2005; 209 39–45.
120. Bartels, M., Hans, K., Biesalski., et al: Pilot Study On The Effect Of Parenteral Vitamin E On Ischemia And Reperfusion Induced Liver Injury: A Double Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Nutrition.*2004; 23: 1360–1370.
121. Sligte, K., Bourass, I., Sels JP., et al: Non-Alcoholic Steatohepatitis: Review Of A Growing Medical Problem. *European Journal of Internal Medicine.* 2004;15: 10– 21.
122. Pintu, D., Masalkar, Subodhini, AA.: Oxidative Stress And Antioxidant Status In Patients With Alcoholic Liver Disease. *Clinica Chimica Acta.* 2005; 355: 61–65.

- 123.** Kathleen, H., McDonough.: Antioxidant Nutrients And Alcohol. Toxicology. 2003;189: 89-97.
- 124.** Look, MP., Reichel, C., Falkenhausen, MV., et al: Vitamin E Status In Patients With Liver Cirrhosis: Normal or Deficient?. Metabolism, Vol 48, No 1 (January). 1999: 86-91.
- 125.** Bell, H., Bjorneboe, A., Eidsvoll, B., et al: Reduced Concentration Of  $\alpha$  Tocopherol In Patients With Alcoholic Liver Cirrhosis. Alcohol & Alcoholism.1992; 27: 39-46.
- 126.** Munoz, SJ., Heubi, JE., Balistreri, WF., et al: Vitamin E Deficiency In Primary Biliary Cirrhosis: Gastrointestinal Malabsorption, Frequency And Relationship To Other Lipit-Soluble Vitamins. Hepatology.1989; 9: 525-531.
- 127.** Lin WC, Lin, Kuo, SC., Lin, WL., et al. Filtrate Of Fermented Mycelia From Antrodia Camphorata Reduces Liver Fibrosis Induced By Carbon Tetrachloride In Rats. World J Gastroenterol 2006 April 21; 12(15):2369-2374).