

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP) ANABİLİMDALI

**SİKLOSPORİN UYGULANARAK KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA ERDOSTEİNİN KORUYUCU
ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
İhsan KARABOĞA

Danışman
Doç. Dr. Ahmet NACAR

HATAY / 2011

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP) ANABİLİMDALI

**SİKLOSPORİN UYGULANARAK KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA ERDOSTEİNİN KORUYUCU
ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
İhsan KARABOĞA

Danışman

Doç. Dr. Ahmet NACAR

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
1005 Y 0102 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY / 2011

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP) ANABİLİMDALI

**SİKLOSPORİN UYGULANARAK KARACİĞER HASARI
OLUŞTURULAN RATLARDA ERDOSTEİNİN KORUYUCU
ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi
İhsan KARABOĞA

Bu tez, aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 20.06.2011 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Doç. Dr. Ahmet NACAR.....
Üye : Doç. Dr. Ayşe YILDIRIM.....
Üye : Yrd. Doç. Dr. Oktay Hasan ÖZTÜRK.....

Bu tez, Enstitümüz Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Anabilim Dalında hazırlamıştır.

.../.../2011

Doç. Dr. İbrahim Kürtül

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, akademik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışmanım, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Doç. Dr. Ahmet NACAR'a

Desteklerini hissettiğim hocalarım Doç. Dr. Ayşe YILDIRIM, Doç. Dr. Mehmet AYDIN ve Yrd. Doç. Dr. Oktay Hasan Öztürk'e

İlaç hazırlama ve uygulamalarında tecrübelerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Murat TUTANÇ'a

Deney aşamalarında ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Uzm. Dr. Fatih SEFİL, Dr. Nebihat Kaplan SEFİL ve Bio. Hamza Malik OKUYAN'a

Tezi projelendirme aşamasında yardımlarını gördüğüm Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve çalışanlarına,

Her zaman olduğu gibi, tez dönemimde de büyük fedakarlık ve anlayışla maddi manevi beni destekleyen aileme, yakınlarıma ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer.....	3
2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi.....	4
2.1.1.1. Sindirim sistemi ve Karaciğerin Gelişimi.....	4
2.1.1.2. Karaciğer ve Safra Kesesinin Gelişimi.....	6
2.1.2. Karaciğer Anatomisi.....	8
2.1.3. Karaciğer Histolojisi.....	11
2.1.4. Karaciğer Hücreleri ve Fonksiyonları.....	16
2.1.4.1. Hepatositler.....	16
2.1.4.2. Kupffer Hücreleri.....	19
2.1.4.3. Satellit Hücreleri.....	22
2.1.5. Karaciğer Fizyolojisi.....	23
2.1.5.1. Karbonhidrat Metabolizması.....	23
2.1.5.2. Yağ Metabolizması.....	24
2.1.5.3. Protein Metabolizması.....	24
2.1.5.4. Safra Salınımı.....	24
2.1.5.5. Pıhtılaşma Faktörlerinin Metabolizması ve Diğer Metabolik Fonksiyonlar ..	24
2.1.6. Karaciğer Rejenerasyonu.....	25
2.2. İmmün Baskılayıcılar (İmmünsüpressifler).....	25
2.2.1. Siklosporin A(CsA).....	26
2.3. Erdostein.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar.....	31
3.2. İlaçlar ve Uygulama Yolları.....	31
3.3. Cerrahi Uygulama.....	32
3.4. Histolojik Tekniklerin Uygulanması.....	32
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	35
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ.....	61
7. KAYNAKLAR.....	62
8. ÖZGEÇMİŞ.....	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Karaciğerin embriyonik gelişimi	7
Şekil 2.2. Karaciğerin anatomik bölgeleri	9
Şekil 2.3. Karaciğerin üç boyutlu yapısı ve ışık mikroskopik yapısı	11
Şekil 2.4. Karaciğer lobülünün üç boyutlu yapısı	12
Şekil 2.5. Karaciğer lobül modelleri	13
Şekil 2.6. Karaciğer asinüsünün şematik yapısı	15
Şekil 2.7. Disse aralığının ışık ve elektron mikroskopik görüntüsü	17
Şekil 2.8. Sinüzoidlerde yerleşen Kupffer hücreleri. (Çetin 2006)	20
Şekil 2.9. Kupffer hücrelerinin elektron mikroskopik görüntüsü. (Çetin 2006)	21
Şekil 2.10. Ito hücrelerinin şematik ve elektron görüntüsü	22
Şekil 2.11. Siklosporinin kimyasal yapısı	26
Şekil 4.1. Kontrol grubu normal karaciğer dokusu (HE)	37
Şekil 4.2. Kontrol grubu normal karaciğer dokusu portal alan (HE)	38
Şekil 4.3. Kontrol grubu karaciğer dokusu genel görünümü (PAS)	39
Şekil 4.4. Kontrol grubu karaciğer dokusu (PAS)	39
Şekil 4.5. Normal karaciğer dokusu genel görünüm. (Elastik lif boyama)	40
Şekil 4.6. Glisson kapsülünün Elastik lif boyası ile boyanması	40
Şekil 4.7. Siklosporin grubu karaciğer genel görünümü (HE)	41
Şekil 4.8. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusu. hasarlı santral ven (HE)	42
Şekil 4.9. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusu. Hepatosit kordonlarındaki dağılmalar (HE)	42
Şekil 4.10. Siklosporin grubu genel görünüm (PAS)	43
Şekil 4.11. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusunda santral ven ve kopan hepatosit kordonları (PAS) ..	44
Şekil 4.12. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusunda hasarlı endotel. Elastik lif boyama	45
Şekil 4.13. Siklosporin grubuna ait karaciğer. Hepatosit sitoplazmalarında vakuolizasyonlar. (Elastik lif boyama)	45
Şekil 4.14. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (HE)	46
Şekil 4.15. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (HE)	47
Şekil 4.16. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (PAS)	47
Şekil 4.17. CsA ve erdosteine uygulanan grupta karaciğer dokusu. Endotel hasarının azalması. (Elastik lif boyama)	48
Şekil 4.18. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun karaciğer dokusu (Elastik lif boyama)	48
Şekil 4.19. Erdosteine uygulanan grubun karaciğer dokusu genel görünümü (HE)	49
Şekil 4.20. Sadece erdosteine uygulanan grubun karaciğer dokusu (PAS)	50
Şekil 4.21. Sadece erdosteine uygulanan grubun karaciğer dokusu (HE)	50
Şekil 4.22. Sadece erdosteine uygulanan grubun karaciğer dokusu (PAS)	51
Şekil 4.23. PAS ile yoğun boyanan hepatositler	51
Şekil 4.24. Erdosteine uygulanan grupta genel görünüm (Elastik lif boyama)	52
Şekil 4.25. Erdosteine uygulanan grupta genel görünüm (Elastik lif boyama)	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Deney grupları ve ilaç uygulamaları.....	32
Çizelge 3.2. Deney grupları ve histolojik dejenerasyonlar	36
Çizelge 4.1. Histopatolojik bulguların skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APAP	: Asetaminofen
CsA	: Siklosporin A
dk	: Dakika
DXR	: Doksorubisin
EA	: Ellajik asit
gr	: gram
HE	: Hematoksilen- Eozin
IL-2	: İnterlökin 2
İp	: intraperitonal
kg	: kilogram
mg	: miligram
mm	: milimetre
nm	: nanometre
PAS	: Periyodik asit Schiff boyası
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SF	: Serum fizyolojik
TGF- β	: Transforming growth factor- beta
μ m	: mikrometre
\pm	: standart sapma
$^{\circ}$ C	: derece santigrat

ÖZET

Siklosporin Uygulanarak Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda Erdosteinin Koruyucu Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi

Çalışmamızda, siklosporin uygulanarak karaciğer hasarı oluşturan ratlarda erdosteinin koruyucu etkisi histolojik metotlarla incelenmiştir.

Deneyde 32 adet Wistar albino erişkin erkek sıçan kullanılmıştır. Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı; Kontrol grubu (n=8), Siklosporin grubu (n=8, 20 mg/kg/gün i.p.), Siklosporin + Erdosteine (n=8, Erdosteine 12 mg/kg/gün oral), ve sadece Erdosteine (n=8). 10. günün sonunda karaciğer dokuları ışık mikroskopik inceleme için çıkarıldı.

Karaciğerler dokularının fiksasyonu %10 tamponlanmış nötral formaldehit ile yapıldıktan sonra rutin histolojik işlemler uygulanmış ve dokular Hematoksilen-Eosin (H&E), Periodik Asit-Schiff (PAS) ve Elastik lif boyası metoduyla boyanmıştır. Her gruptan 100 karaciğer lobülü incelenmiş ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre; Siklosporin grubu dokularında sinüzoidlerde genişleme, hepatositlerde vakuolizasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kanama gibi histopatolojik değişiklikler meydana gelmiştir. Siklosporin+Erdosteine grubunda histopatolojik değişiklikler önemli derecede azalmıştır. Histolojik inceleme ve istatistiksel sonuçlar ile uyumluydu.

Sonuç olarak bu bulgular, erdosteinin siklosporin uygulanarak oluşturulan karaciğer hasarını azalttığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Siklosporin; Erdosteine; Karaciğer; Hepatotoksisite

ABSTRACT

The histological Investigation of the Propective Effect of Erdosteine Against Cyclosporine-induced Injury in Rat Liver With Histological Methods

In the present study, the propective effect of erdostein against cyclosporine-induced injury in rat liver was investigated with histological methods.

In our experiment 32 Wistar albino male rats were used. The rats were randomly divided into four groups; Control group (n=8), Cyclosporine (n=8, 20 mg/kg/day i.p.), Cyclosporine + Erdosteine (n=8, Erdosteine 12 mg/kg/day orally) and only Erdosteine (n=8). At the end of 10th day, liver tissue removed for light misroscopic analysis.

After liver tissues were fixed in % 10 buffered neutral formalin, routin histological processes were applied and tissue sections were stained by Hematoxilen-Eosin(H&E), Periodic asit-Schiff (PAS) and Elastic fiber stain methods. 100 liver lobules were examined for each group and evaluated statistically

According to our results; the tissue of cyclosporine group showed some histopatological changes such as sinuzoidal dilatation, vacuolization in the hepatocytes, inflammatuar cell infiltration and hemorrhage. In the Cyclosporine plus Erdostein group, histopatological changes of hepatic damage markedly reduced. Histological investigations were consistent with statistical resuts.

In conclusion these findings show that Erdosteine, decrased cyclosporine induced liver injury.

Key Words: Cyclosporine; Erdosteine; Liver; Hepatotoxicity

1.GİRİŞ

Karaciğer, yaklaşık 1,5 kg ağırlığında, deriden sonra vücudun en büyük organıdır. Hem endokrin hem de ekzokrin salgılama yapan karaciğer vücuttaki en büyük bezdir (Aktümsek 2006). Batın içinde büyük oranda sağ üst kadranda ve sol üst kadrana kadar uzanır. Karaciğerin büyük bir kısmı peritonla örtülüdür (Ozan 2004, Arınç ve Ehan 2001).

Organa gelen kanın %75-80'i portal venden, %20-25'i hepatik arterden sağlanır. İnce bağırsaklardan emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere ulaşır, sadece kompleks lipitler lenf damarlarıyla taşınır (Carnerio ve Kelley 1998). Sindirim sisteminin venöz kanının büyük kısmının dolaşıma katılmadan önce karaciğere gelmesi organın fonksiyonel önemini gösterir (Çınar ve ark. 1999).

Intrauterin yaşamın 10. haftasında karaciğerin ağırlığı, vücut ağırlığının %10'una ulaşır. Bunun başlıca nedeni karaciğerin hematopoitik fonksiyonudur. Hematopoitik aktivite gebeliğin son iki ayında azalmaya başlar ve doğumda karaciğerde bir kaç hematopoitik hücre adası kalır. Karaciğerin önemli bir işlevi de safra üretimidir. 12. haftadan itibaren hepatositler safra üretmeye başlar. Doğumda karaciğer ağırlığı vücut ağırlığının %5'i kadardır (Sadler 2002, Yağmurca 2003, Polat 2003).

Karaciğerin pek çok önemli fonksiyonu vardır. Bunlar genel olarak; karbonhidrat, proteinler ve yağların metabolizması, ilaç ve alkol gibi dışarıdan vücuda alınan bazı maddelerin işleminden geçirilmesi ve yağların sindirimi için çok önemli olan safranin yapımı ve salgılanmasıdır. Karaciğer tüm bu görevleri; karaciğer parankimini oluşturan epitel hücreleri aracılığıyla gerçekleştirir.

Karaciğer parankiminde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da oluşur (Çınar ve ark. 1999, Erdoğan ve ark. 1996, Ovale ve Nahirney 2009).

Siklosporin (CsA), organ nakillerinden sonra ve otoimmün hastalıkların tedavisinde uzun süredir kullanılan bir immün baskılayıcı ilaçtır. Trichoderma Polysporum mantarının fermantasyonu ile elde edilen CsA, 11 amino asitten oluşan nonribozomal bir peptittir. C62 H111 N11 O12 kimyasal formül yapısındadır (Morris 1982, Wartburg ve Traber 1996).

1980'li yıllardan beri yaygın olarak kullanılmaya başlayan CsA, bazı olumsuz durumları da beraberinde getirmiştir. Böbrek, karaciğer, akciğer ve kalp gibi organlardaki yan etkileri kullanımı kısıtlamaktadır. Nefrotoksisite, hepatotoksisite, hipertansiyon, hipertrikozis, infeksiyonlar ve hiperpotasemiye sık rastlanmaktadır (Calne ve ark. 1978, Bennet 1995, Diepering 1983).

CsA'nın dokularda oluşturduğu hasarın mekanizması tam anlaşılammakla birlikte, elde edilen veriler serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin CsA bağlı patogeneizde rolü olduğunu düşündürmüştür (Rezzani ve ark. 2001, Rezzani 2006).

CsA'nın yan etkilerinin mekanizması tam anlaşılammış olsa bile, beraberinde antioksidan ilaçların kullanılmasıyla birlikte toksisitesinin azalabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Rezzani 2006, Kuruş ve ark. 2008).

Erdosteine kronik pulmoner hastalıkların tedavisi için geliştirilen mukolitik bir ajandır. Bu ajan, ancak karaciğer metabolizması ile serbestleştirilebilen iki adet sülfhidril grubu içerir. Erdosteinein temizleyici ve antioksidan mekanizmasında bu iki sülfhidril grubu rol oynar (Dechant ve Noble 1996, Braga ve ark. 2000). Deneysel ve klinik çalışmalar, erdosteinein; antioksidan olarak serbest radikal oluşumunu önleyici fonksiyonları olduğunu göstermiştir (Biagi ve ark. 1989, İnglesi ve ark.1994).

Günümüzde organ nakilleri birçok hasta için hayati önem taşımakta ve nakil yapılan hastaların sayısı giderek artmaktadır. Organ nakilleri ve otoimmün hastalıkların tedavisinde halen kullanılan ilaçların en etkili CsA'dır.

CsA'nın organ nakilleri sonrasında ve otoimmün hastalıklarda uzun süreli kullanılan bir ilaç olması, birçok organ üzerinde olumsuz yan etkilere neden olması ve bunları etkileyen mekanizmaların tam olarak aydınlatılmamış olması nedeniyle biz de çalışmamızda; CsA'nın karaciğerde oluşturduğu hepatotoksik etkiye karşı, antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilen erdosteinein koruyucu etkisinin histolojik olarak incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Karaciğer

Canlılık için oldukça önemli fonksiyonları yerine getiren ve kanın kompozisyonunu ayarlayan en önemli organdır (Aktümsek 2006). Karaciğer vücudun en büyük bezi olmasının yanında, deriden sonra vücuttaki en büyük organdır (Ozan 2004, Snell 1995). Toplam vücut ağırlığının %2'si kadar bir ağırlığa sahiptir. Karın boşluğunun sağ üst kısmında ve diyaframın hemen altında yerleşmiştir. Büyük kısmı sağ hipokondriak ve epigastrik bölgede bulunan, sol hipokondriak ve umbilikal bölgeye de taşan kırmızı-kahverengi bir organdır. Dalak kadar olmasa da yırtılabilir bir yapıya sahiptir (Aktümsek 2006, Ovale ve Nahirney 2009).

Karaciğer dört adet lobdan oluşur. Bu lobların etrafı kollajen ve elastik lif içeren Glisson kapsülü denilen düzensiz sıkı bağ doku ile çevrelenmiş olup, peritonla kaplıdır (Abraham ve Kierszen 2006).

Karaciğer sindirim kanalı tarafından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı bir organdır.

Sindirim sistemi ile kan arasında bir geçiş bölgesi oluşturur. Karaciğere kan, iki kan damarı yolu ile gelir. Karaciğere gelen kanın %75-80'ini taşıyan portal ven; sindirim yolu, dalak ve pankreastan gelen kanı taşır. Geri kalan %20-25'lik kısım ise çölyak hattının bir kolu olan hepatik arter tarafından, interlobar arter ve interlobüler arter yolu ile portal alanlara ulaştırılır. İnce barsaklardan emilen maddelerin çoğu portal ven yoluyla karaciğere gelir. Sadece kompleks lipitler lenf damarlarıyla taşınır.

Karaciğerin konumu; metabolitleri bir araya getirilmesi, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin elimine edilmesi için çok uygundur (Carnerio ve Kelley 1998, Abraham ve Kierszen 2006).

Karaciğer ürettiği safranin duodenuma vermesiyle ekzokrin bir bez; ayrıca ürettiği bazı maddeleri direk olarak kana vermesi özelliği ile de endokrin bir bezdir (Ovale ve Nahirney 2009).

Pek çok önemli fonksiyona sahip karaciğerin görevleri temel olarak; sekresyon, depo, konjugasyon, detoksikasyon, fagositoz, esterleştirme ve hematopoiezdir. Karaciğer tüm bu görevlerini parankimini oluşturan epitel hücreleriyle yapar. Karaciğer

parankiminde çeşitli nedenlerle dejenerasyon oluşurken aynı zamanda rejenerasyon da meydana gelir (Çınar ve ark. 1999, Erdoğan ve ark. 1996).

2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi

2.1.1.1.Sindirim Sistemi ve Karaciğerin Gelişimi

Gelişimin 3-8 haftaları arasındaki embriyonik dönem, her 3 germ yaprağının (endoderm, ektoderm ve mezoderm) farklılaşarak kendileriyle ilgili doku ve organ sistemlerinin oluştuğu dönemdir. Organların oluşumu ile vücudun önemli özellikleri ortaya çıkar (Sadler 2002).

Ektodermal germ tabakasından dış ortamlarla ilişkisi olan yapı ve organlar gelişir, bunlar; a) santral ve periferik sinir sistemi, b) kulak, burun ve gözün duyu epitelleri, c) deri, saç ve tırnaklar e) hipofiz, meme, ter bezleri ve dış minesidir.

Mezodermal germ tabakasından somitler gelişir ve bu somitler kas, kıkırdak ve kemik doku ile deri altı doku gibi destek dokuları oluştururlar.

Endodermal germ tabakasından ise gastrointestinal kanal, karaciğer ve pankreasın parankiması, östaki borusu, tiroid ve paratiroid bezleri, solunum yolları ve mesane epiteli gibi doku ve organlar gelişir (Sadler 2002, Moore 2002).

Embriyonun sefalokaudal ve lateral yönde katlanmasıyla endodermle döşeli boşluğun bir kısmı primitif bağırsağı oluşturmak üzere embriyonun içerisinde kalır. Endodermal boşluğun her iki kısmını meydana getiren yolk kesesi ve allantois ise embriyonun dışında kalır (Kaşah ve ark. 1992, Sadler 2002).

Dördüncü haftanın başında primitif barsağın kranial ucunu membrana oropharyngealis, kaudal ucun da membrana cloacalis kapatır. Dördüncü hafta boyunca caput, kauda ve pliace laterales olarak gelişen barsak taslağı vitellus kesesinin dorsal parçasını embriyoya dahil eder. Sindirim kanalı epitelinin ve bezlerinin büyük kısmı primitif barsağın endoderminden kaynaklanır. Sindirim kanalının kranial bölümünün epiteli stomatodeum (ağız taslağı) ektoderminden gelişmiştir. Sindirim kanalının duvarını oluşturan kas ve bağ doku tabakaları ile diğer tabakalar primitif barsağı saran splanknik mezenkimden kaynaklanmıştır (Yağmurca 2003).

Embriyonun sefalik ve kaudal kısımlarında, primitif barsak tarafından sırasıyla ön barsak (foregut) ve son barsak (hindgut) adı verilen bir ucu kapalı, kör bir tüp oluşturulur. Bu tüpün orta kısmı, orta barsak (midgut) ise vitellin kanal yoluyla yolk kesesi ile olan ilişkisini geçici olarak sürdürmeye devam eder.

Primitif barsak ve türevlerinin gelişimi dört başlık altında tartışılır;

a) Bukkofaringeal membrandan, trakeobronşial divertiküle kadar uzanan faringeal barsak veya farinks,

b) Faringeal tüpün kaudalinde yer alan ve karaciğer tomurcuğuna kadar uzanan ön barsak,

c) Karaciğer tomurcuğunun kaudalinden başlayan ve yetişkinlerde transvers kolonun 2/3 proksimal ve 1/3 distal parçasının birleşim noktasına kadar devam eden orta barsak,

d) Transvers kolonun sol üçte birinden kloakal membrana kadar uzanan son barsak.

Endoderm gastrointestinal sistem epitelini ve pankreas ve karaciğer gibi bezlerin parankimini oluşturur. Barsak duvarının kas ve peritoneal elemanları ise splanknik mezodermden gelişir.

Ventral mezenter; sadece özafagusun son kısmında, midede ve duodenumun üst kısmında mevcuttur ve septum transversumdan köken almıştır. Karaciğerin septum transversum mezenşiminin içine doğru büyümesi ventral mezenteri ikiye böler. Bunlar; özafagusun alt kısmı, mide ve duodenumun üst kısmından karaciğere uzanan küçük omentum ve karaciğerden ön karın duvarına uzanan falsiform ligamenttir (Sadler 2002, Moore 2002).

Pre-Enteron (Ön Barsak)' dan Gelişen Yapılar;

- a) Pharynx primitivus ve türevleri
- b) Solunum sisteminin alt kısmı
- c) Özofagus
- d) Ductus choledocusun açıldığı deliğin proksimalindeki duodenum
- e) Hepar safra yolları ve Pankreas

Mezenteron (Orta Barsak)' dan Gelişen Yapılar;

- a) Duodenumun büyük kısmı
- b) İnce barsaklar

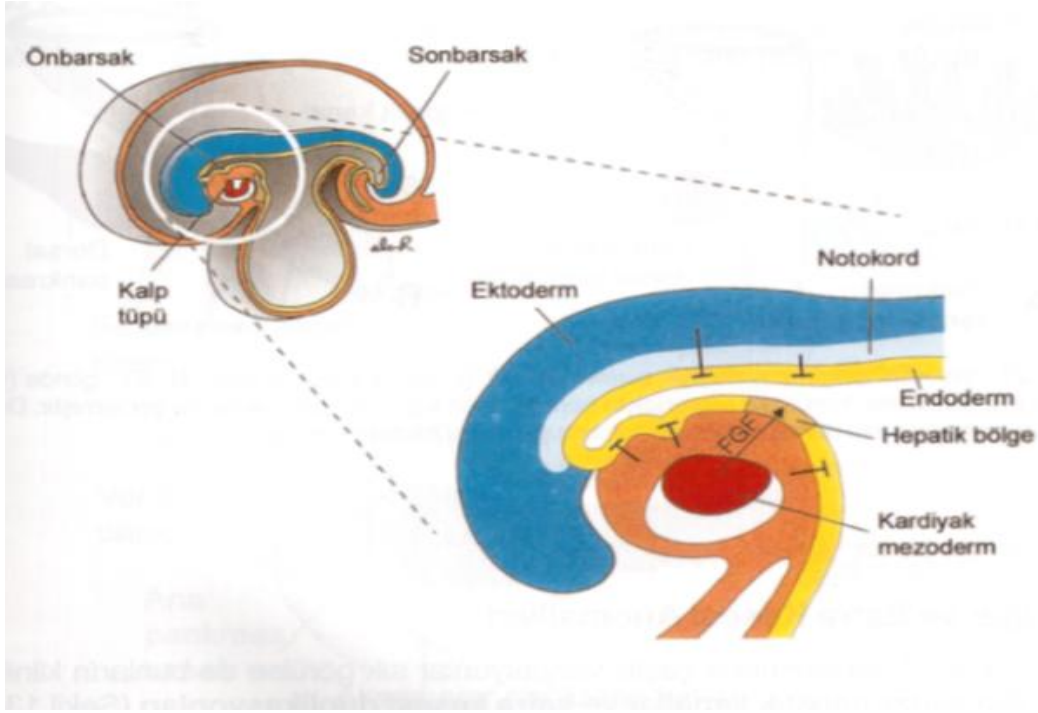
- c) Çekum
- d) Appendix vermiformis
- e) Colon ascendens
- f) Colon transversumun sağ yarısı (veya 2/3'ü)

Menenteron (son barsak)'dan Gelişen Yapılar;

- a) Colon transversumun sol 1/3 kısmından ortasına kadar olan parçası
- b) Colon descendens,
- c) Colon simoideum,
- d) Rectum,
- e) Canalis analisin ön kısmı,
- f) Vesica ürinarinin epiteli,
- g) Üretranın büyük bir kısmı menenterondan gelişmiştir (Moore 2002).

2.1.1.2. Karaciğer ve Safra Kesesinin Gelişimi

Karaciğer primordiumu, ön barsağın distal ucunda bir ektodermal epitelyum çıkıntısı şeklinde 3. haftanın ortasında belirir. Hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu olarak bilinen bu çıkıntı, perikard boşluğu ve yolk sapı arasındaki mezodermal plağı hızlı polifere olabilen hücrelerden meydana gelir. Karaciğer hücreleri septumun içine girmeye devam ederken, hepatic divertikül ile ön barsak (duodenum) arasındaki bağlantı olarak safra kanallarını oluşturur. Safra kanalından kaynaklanan küçük bir ventral çıkıntı safra kesesi ve sistik kanal haline gelir (Sadler 2002).



Şekil 2.1. Karaciğerin embriyonik gelişimi (Sadler 2002)

Gelişimin ileri dönemlerinde, karaciğer kordonları vitellin ve umbilikal venlerle karışarak hepatik sinüzoidleri oluşturur. Karaciğer kordonları parankime farklanır ve safra kanallarının iç yüzünü döşer. Hematopoitik hücreler, kupffer hücreleri ve bağ dokusu hücreleri septum transversum mezoderminden köken alır.

Karaciğerle ön barsak ve karaciğerle karın duvarı arasında yer alan septum transversum mezodermi membranöz hale gelerek sırasıyla küçük omentum ve falsiform ligamenti oluşturur. Bu iki ligament birlikte ön barsakla, ön karın duvarı arasında peritoneal bağlantıyı oluştururlar ve bu yapı ventral mezogastrium adını alır.

Karaciğer yüzeyindeki mezoderm, küçük bir alan dışında farklanır ve visseral peritonu oluşturur. Bu küçük alanda septum transversum ile olan temas devam ettirilir. Septumun bu parçası yoğun bir mezenşimal doku halindedir ve ileride diyaframın tendinöz parçasını oluşturacaktır. Gelecekteki diyaframla temas eden karaciğerin bu yüzeyi peritonla örtülmez ve karaciğerin çıplak yüzeyi olarak bilinir.

Karaciğer 10. haftaya kadar karın boşluğunun büyük bölümünü kaplar. Vena umbilikalisten karaciğere akan oksijenli kanın miktarı karaciğerin gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler. Gelişimin ilk evrelerinde sağ ve sol lob büyüklüğü aynıdır. İlerleyen evrelerde sağ lob daha fazla büyür (Sadler 2002, Moore 2002).

6. haftada karaciğerde hematopoiesis başlar. 10. haftada karaciğerin ağırlığı toplam vücut ağırlığının %10'una ulaşır. Bu hacim artışının sebebi karaciğerin hematopoietik fonksiyonudur. Hematopoietik aktivite gebeliğin son iki ayında azalmaya başlar ve doğumda karaciğerde sadece birkaç hematopoietik hücre adası kalır. Doğumda karaciğer ağırlığı vücut ağırlığının %5'i kadardır (Moore 2002).

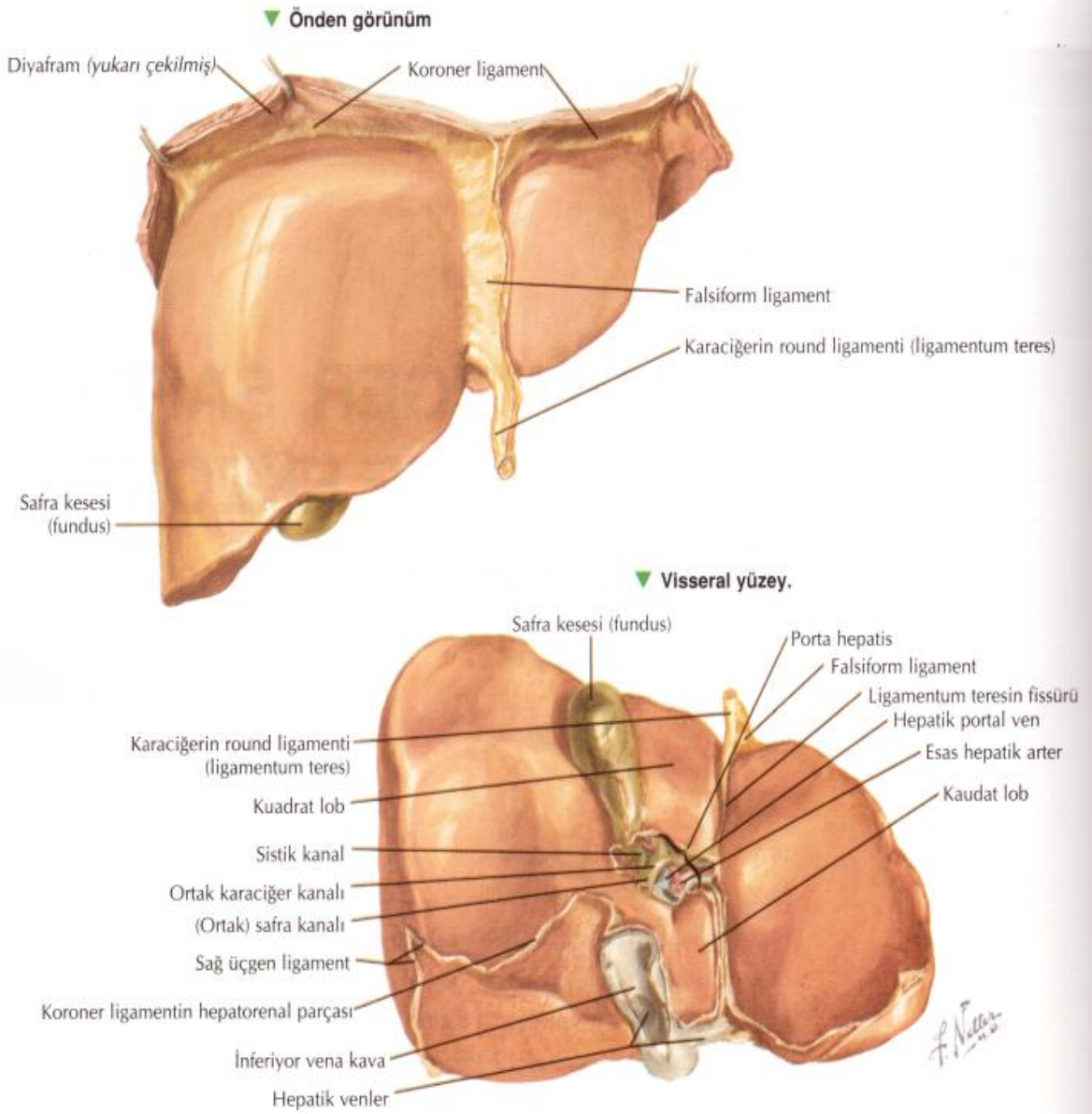
Karaciğerin önemli bir fonksiyonu da safra üretimidir. Karaciğer hepatik hücreleri 12. haftadan itibaren safra üretmeye başlar. Üretilen safra, sistik kanal ve hepatik kanalın birleşmesiyle oluşan koledok kanalından barsağa akar. Sindirim kanalı içi safra içeriğinden dolayı koyu yeşil bir hal alır.

Duodenumda meydana gelen değişiklikler sonucu, koledok kanalının duodenuma giriş yeri başlangıçtaki anterior pozisyonundan posteriora doğru yer değiştirir ve koledok kanalı duodenumun arkasına geçer (Arınç ve Ehan 2001, Moore 2002).

2.1.2. Karaciğer Anatomisi

Abdomen boşluğunun üst bölümünde sağ hipokondriak ve epigastrik bölgenin büyük bir bölümünü kapsar. Sol lob, sol hipokondriuma kadar uzanır.

Karaciğerin üst yüzü ile diafragma yakın ilişkidir. Sağ lobun en yüksek noktası dördüncü veya beşinci kostaya kadar yükselir. Bu nokta sağ medio-klavikular hat üzerinde, sağ meme başından 1 cm aşağıdadır. Sol lobun üst sınırı altıncı kostanın üst sınırına kadar uzanır. Kostalar sağ lobun büyük kısmını kaplar. Ön yüzün küçük bir bölümü karın ön duvarı ile temastadır (Kuran 1993).



Şekil 2.2. Karaciğerin anatomik bölgeleri (Ovale ve Nahirney 2009)

Karaciğerin visseral ve diafragmatik olmak üzere iki yüzü; alt ve arka olarak da iki kenarı vardır. Karaciğer diafragmanın alt kısmına ve karın içi visseral organların üst yüzüne oturmuş konumdadır.

Karaciğer diafragmatik yüzündeki arenuda (bare area) adı verilen alan dışında, dıştan seröz bir zarla örtülüdür. Bu zara visseral periton adı verilir. Visseral periton; tek katlı

yassı epitel olan mezotelyum ve altındaki ince bağ dokudan oluşur. Visseral peritonun altında Glisson kapsülü denilen özel bir sıkı bağ doku yer alır.

Karaciğere dakikada yaklaşık 1500 ml kan iki yolla gelir.

1. Portal ven:

Karaciğere gelen kanın %75-80'i portal ven yoluyla sağlanır. Portal ven karaciğere dalak, pankreas ve sindirim yolundan kan taşır.

2. Hepatik arter:

Çölyak hattının bir dalı olan hepatic arterden sağlanan oksijenlenmiş kan, karaciğere gelen kanın %20-25'ini oluşturur.

Portal ve hepatic venöz damarlarda ven kapakçıkları yoktur. Hepatic arter ve portal venden gelen kan, sinüzoidlerde birbirine karışır. Sinüzoid içerisindeki kan, lobül merkezindeki venüllerde toplanır. Her lobülün merkezinde bulunan bu venüller birleşerek sublobüler venleri oluştururken sinüzoidlerden merkezi venüle akan kan da toplayıcı venlerin ve hepatic venüllerin yolunu izleyerek Inferior Vena Cava' ya geri döner.

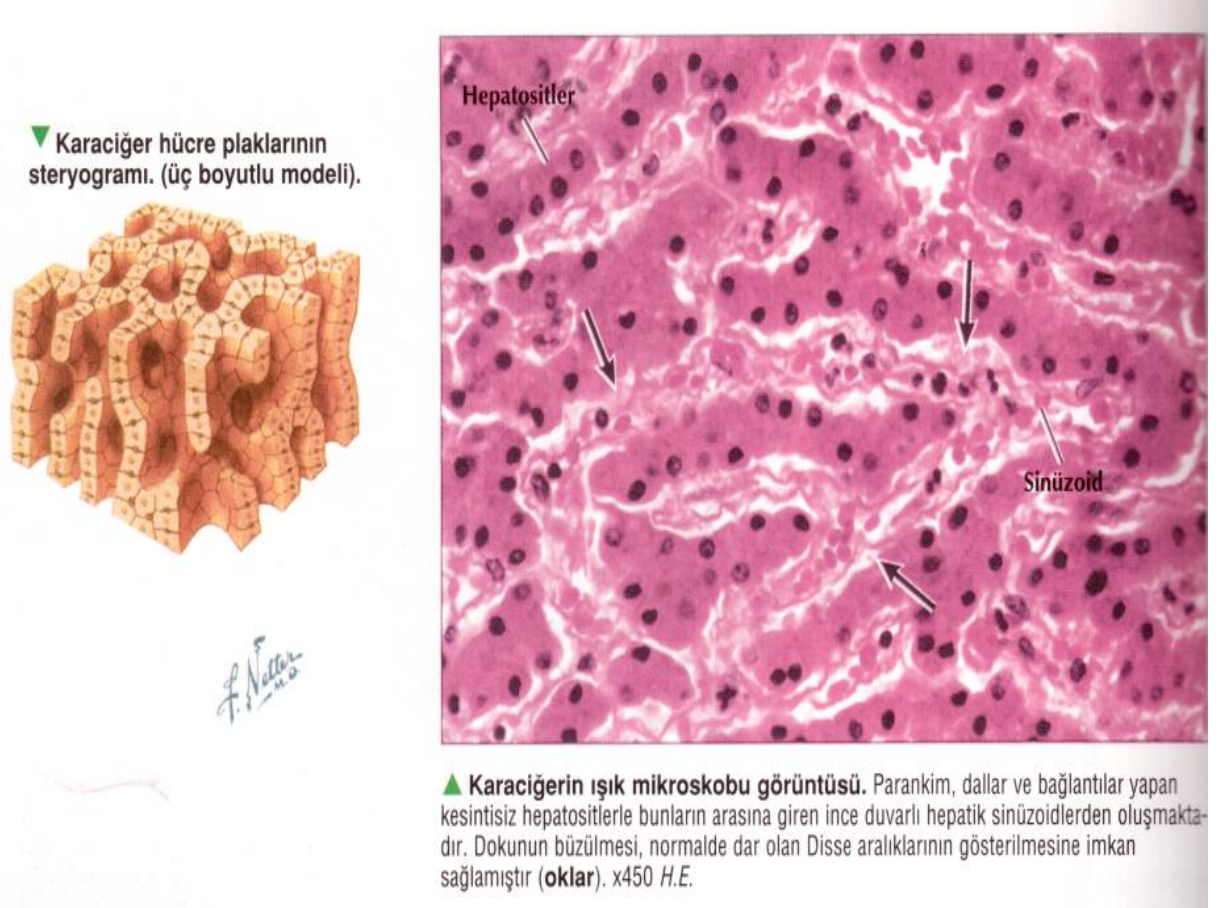
Sağ ve sol hepatic safra kanalları karaciğerdan çıkarlar ve birleşerek hepatic kanalı oluştururlar. Hepatic kanal, ortak safra kanalını oluşturmasının hemen ardından, safra kanalını safra kesesine bağlayan ince bir tüp halindeki kistik kanalı oluşturur (Kuran 1993, Gürbüz 2004).

Hepatositler ile sinüzoidleri döşeyen endotel hücrelerinin arasındaki boşluğa Disse aralığı denir. Disse aralığı lenfin oluşmaya başladığı alandır. Sinüzoid ve hepatositlerin bazolateral bölgeleri arasında bulunan bu aralık hepatositler ve kan arasında alışveriş imkân sağlar.

Karaciğer hem sempatik hem de parasempatik sinirlerle uyarılır. Porta hepatis bölgesinden portal kanallar yoluyla karaciğer içerisinde ilerler. Sempatik lifler kan damarlarını, parasempatik lifler de duvarında düz kas içeren büyük safra kanallarını sinirlendirirler (Kurangöz 2002, Kuran 1993).

2.1.3. Karaciğer Histolojisi

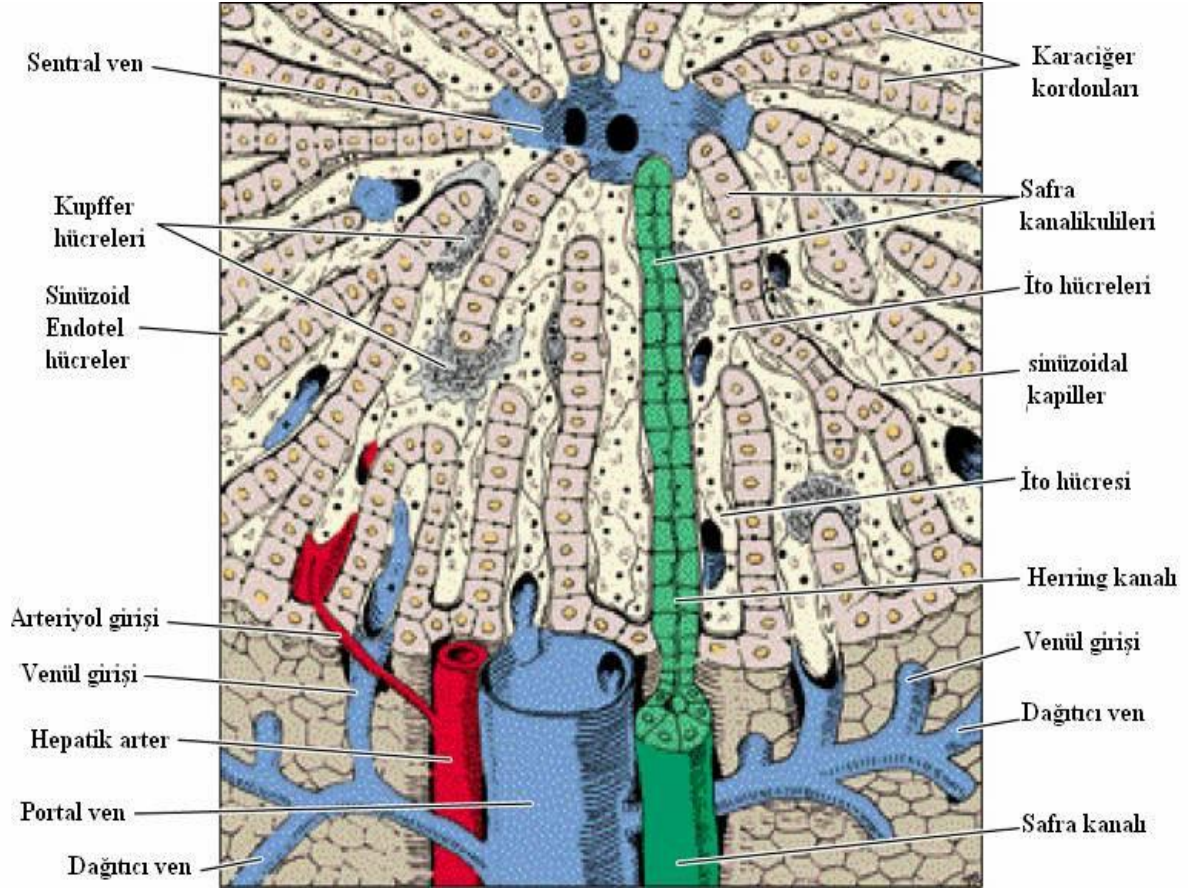
Karaciğer dokusunun %80'i hepatositlerden (karaciğer epitel hücrelerinden) meydana gelen parankim yapısındadır. Geri kalan %20'lik kısım ise, dıştan organı saran Glisson kapsülünü de meydana getiren bağ dokusunu oluşturan stromadır.



Şekil 2.3. Karaciğerin üç boyutlu yapısı ve ışık mikroskobik yapısı (Ovale ve Nahirney 2009)

Karaciğer stroması hilumda kalınlaşan bir bağ doku kapsülü olan Glisson kapsülü ile çevrelenmiştir. Glisson kapsülü sıkı bağ doku yapısındadır. Ortalama kalınlığı 70-100 µm kadardır. Kapsülün peritona bakan yüzünü seröz mezotel örter. Mezotel, patojen ve diğer zararlı maddelere karşı bir kalkan vazifesi görür. Kapsül yapısında kollajen ve elastik lifler bulunur. Glisson kapsülü karaciğere dışarıdan destek verir, organın şeklini korur ve bunun yanında karaciğer parankimine uzantılar göndererek destek stromasına katkıda bulunur. Karaciğer jel kıvamına sahip ve bol damarlanma gösteren bir organ olduğundan kolay hasar görebilir. Bazı hasar durumlarında kapsülde kalınlaşma görülebilir. Yaşın ilerlemesi

ve bazı hastalıklarda da kapsül kalınlığında artış görülebilir (Carnerio ve Kelley 1998, Eşrefoğlu 2009).



Şekil 2.4. Karaciğer lobülünün üç boyutlu yapısı (Carnerio ve Kelley 1998)

Organa giriş-çıkış yapan damar, sinir ve safra kanalları hilumdaki bağ doku kılıfı içinden organa giriş-çıkış yapar. Hilumdan organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. Hilumdan organ içerisine giren bağ doku bölmeleri gittikçe incelerek içerisindeki damar ve sinirlerle beraber ilerler ve karaciğeri loblara ve en küçük morfolojik birimler olan lobüllere ayırır.

Karaciğerde 0,7-2 mm boyutlarındaki bu yapısal birimlerin sayısı bir milyonu bulur. Bir karaciğer lobülünün komşu lobüllerle birleştiği bazı bölgelerde lobüller; safra kanalları, lenfatikler, sinirler ve kan damarları içeren bağ doku uzantısıyla sınırlandırılmıştır. Bu bağ doku alanlarına Portal alan, Portal aralık veya Kiernan aralığı adı verilir (Carnerio ve Kelley 1998, Yağmurca 2003).

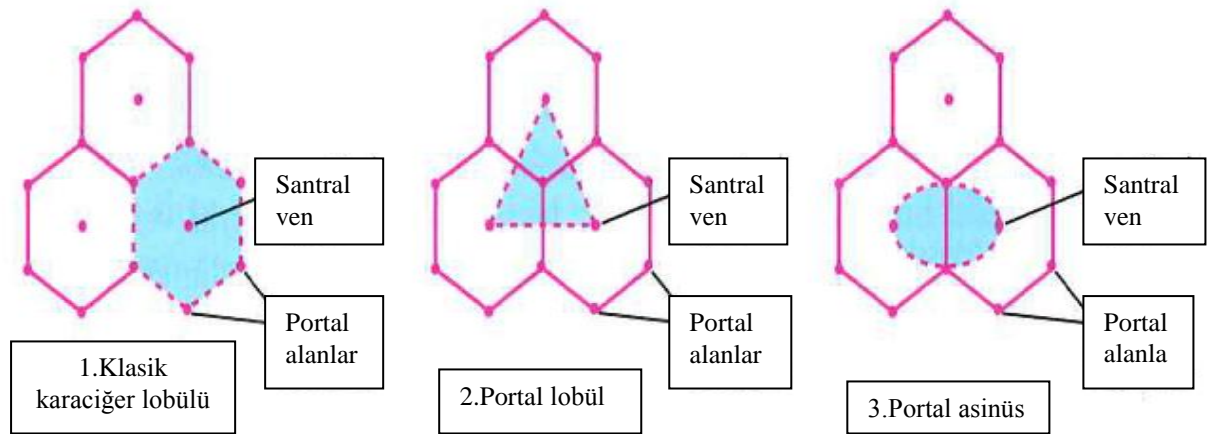
Portal alanlar portal triadları içerir. Portal alan içerisinde üç yapıya ait kesitler izlemek mümkündür.

- a) Vena interlobülaris,
- b) Arteriya interlobülaris
- c) Safra kanalı

Portal alanda yerleşim gösteren bu üçlü yapıya portal triad adı verilir. Venül, genelde çapı en büyük olanıdır. Venül duvarı ince ve lümen düzensizdir. Superior ve inferior mezenterik ve splenik venlerden gelen kanı taşır. Arter, venüle göre daha düzgün lümenli ve daha kalın duvarlıdır. Çapı venüle göre daha küçüktür. Abdominal aortun çölyak dalından gelen kanı taşır. Safra kanalının ise belirgin tek katlı kübik epitelidir.

Portal alanlarda bu üçlü yapının yanı sıra lenf damarları ve sinir fibrilleri de bulunur. Portal alanda yer alan sempatik (postganlionik) sinir fibrilleri çölyak gangliondan, parasempatik (preganlionik) sinir fibrilleri ise N. Vagus'tan kaynaklanır. Her iki sistem de portal alandaki arteriyal kasların innervasyonunu sağlar (Yağmurca 2003, Roose ve ark. 1995).

Karaciğerin parankimasını hepatosit hücreleri oluşturur. Karaciğer parankiminin organizasyonu ile ilgili olarak kabul edilen üç histofizyolojik karaciğer lobül modeli vardır.

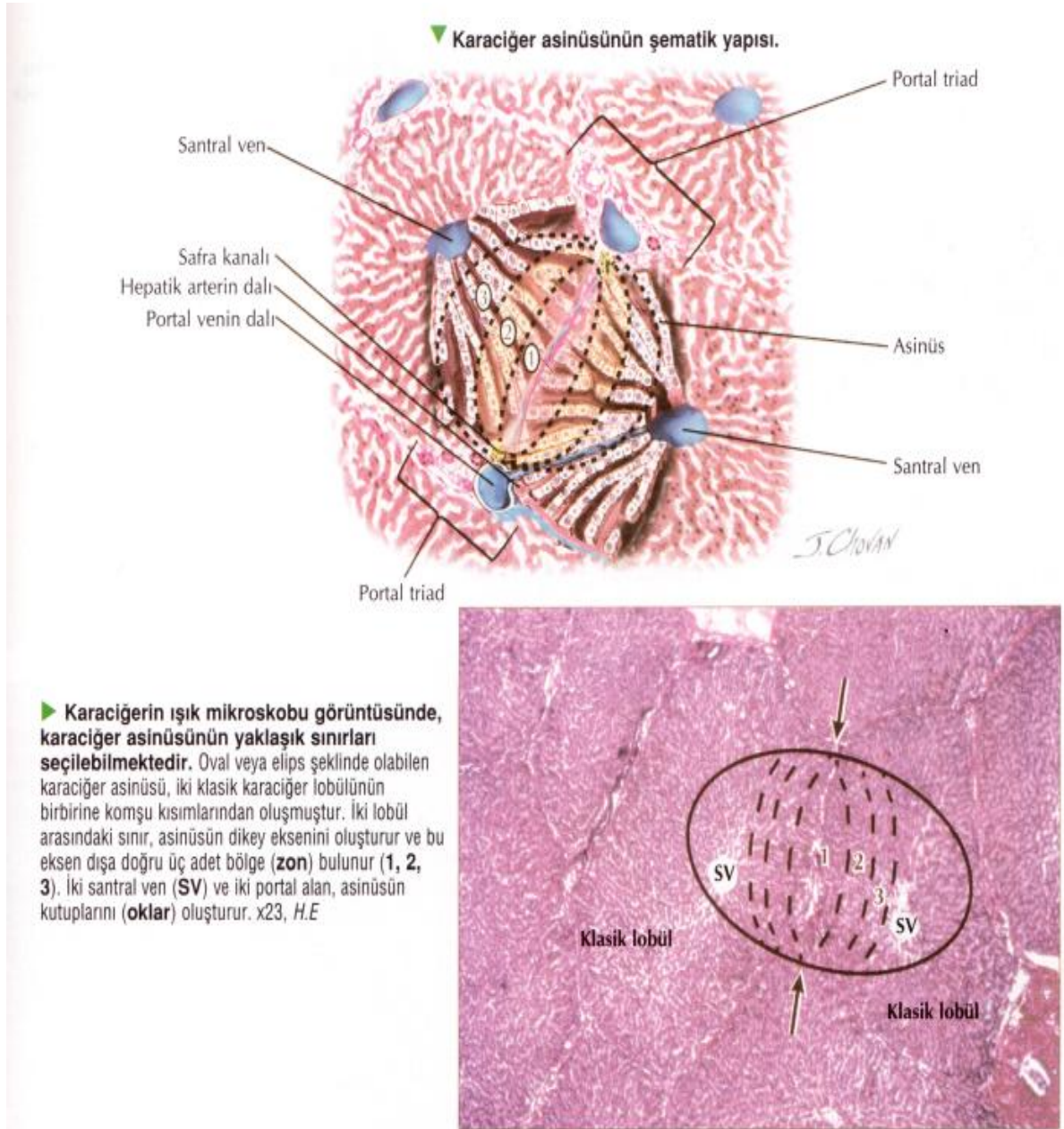


Şekil 2.5. Karaciğer lobül modelleri (Roose 1995)

1. Klasik Karaciğer Lobülü: Santral ven merkezli, köşelerinde portal alanların yer aldığı altıgen şekilli yapılardır. Hepatositler merkezden periferde doğru hücre kordonları şeklinde ışımsal olarak uzanırlar. Kordonlar arası bölgede sinüzoidler yer alır. Kan akış yönü portal alanlardan yani periferden merkeze doğrudur.

2. Portal lobül: Bu model hepatositler tarafından salgılanan safranın salgılanışı dikkate alınarak tasarlandığından, iyi anlaşılması için safranın izleği yolun bilinmesinde fayda vardır. Safra, hepatosit hücrelerince sentezlenir ve komşu iki hepatosit arasındaki hücreler arası boşluğa salgılanır. Duvarı hepatosit hücrelerince oluşturulan bu kanala safra kanalikülü denir. Işık mikroskopik preparatlarda gözlenemez. Elektron mikroskopla görmek mümkündür. Birbirine komşu iki hepatosit arasında 1-2 µm çapında, küçük mikrovilluslar içeren bir boşluk olarak görülür. Hepatositler arasında yer alan bu kanaliküller zonula okludensler sayesinde bir ağ oluştururlar. Safra kanalikülleri lobülün periferinde yer alan tek katlı kübik epitelle döşeli Herring kanalları ile devam eder. Herring kanalları da portal alandaki çapları ortalama 15-40 µm olan interlobüler safra kanallarına açılırlar. İnterlobüler safra kanallarını tek katlı kübik epitel döşer. Portal alanlardaki safra kanalları birleşerek sağ ve sol ana safra kanalını oluşturarak karaciğeri terk ederler. Bu yolla safra, safra kesesi ve duodenuma ulaştırılır. Hepatositlerce üretilen safranın akışı dikkate alınarak geliştirilen portal lobül modeli, üç klasik karaciğer lobülünün santral venlerinin birleştirilmesiyle oluşan üçgenden meydana gelir. Farklı üç lobülde oluşan safra, ortak portal alanlardaki safra kanalına akmaktadır.

3. Portal Asinüs: En fazla kabul gören modeldir. Portal asinüs; iki komşu lobülün portal alanları ve vena santralislerinin birleştirilmesiyle elde edilen baklava dilimi şekilli alandır. Portal asinüsün yapısı; dejenerasyon, rejenerasyon, perfüzyon ve bazı maddelerin toksik etkilerini açıklayabilmek açısından önemlidir. Portal asinüs modelinde hepatositler, portal alandan uzaklıklarına göre farklı üç zona ayrılır (Roose 1995, Carnerio ve Kelley 1998, Abraham ve Kierszen 2006).



Şekil 2.6. Karaciğer asinüsünün şematik yapısı (Ovale ve Nahirney 2009)

a) Zon I (Periferik Zon): Portal alandan vena santralse doğru akan kandan ilk etkilenen hepatositlerden oluşur. Oksijen ve kanın taşıdığı diğer maddelerden en zengin kanla ilk karşılaşan kısımdır. Bu kısımdaki hepatositler sürekli aktiftirler. Glikojen en çok bu zonda bulunan hepatositlerde depolanır ve açlık durumunda kana ilk glikozu bu kısımdaki hepatositler verir. Ayrıca bu zondaki hepatositler en son ölen ve ilk rejenere olan hücrelerdir.

b) Zon II (Ara Zon): Zon I ile sınırlarını kesin ayırmak zordur. Bu zondaki hepatositler kana Zon I de bulunan hepatositlerden sonra ikinci derecede cevap oluştururlar. Zon I de bulunan hepatositlerden daha az aktiflik gösteren hepatositlerden oluşur.

c) Zon III (Santral Zon): Vena santralis etrafındaki hepatositlerin oluşturduğu zondur. Ara zondaki hepatositlere göre daha az aktiflik gösteren hepatositlerden oluşur. Hücreler özellikle düz endoplazmik retikulumdan (DER) zengindir. Bu zondaki hücreler, perfüzyon azaldığında I ve II. zondaki hepatositlere göre daha erken iskemik nekroza girer ve patolojik değişiklikler bu zonda daha erken saptanır.

Bu şekilde zonlara ayrılarak yapılan tanımlama ile hepatositlerin çeşitli toksik maddelere karşı farklı derecelerde gördükleri hasarın nedeni açıklanmaya çalışılmıştır (Carnerio ve Kelley 1998, Eroschenko 2000, Eşrefoğlu 2009).

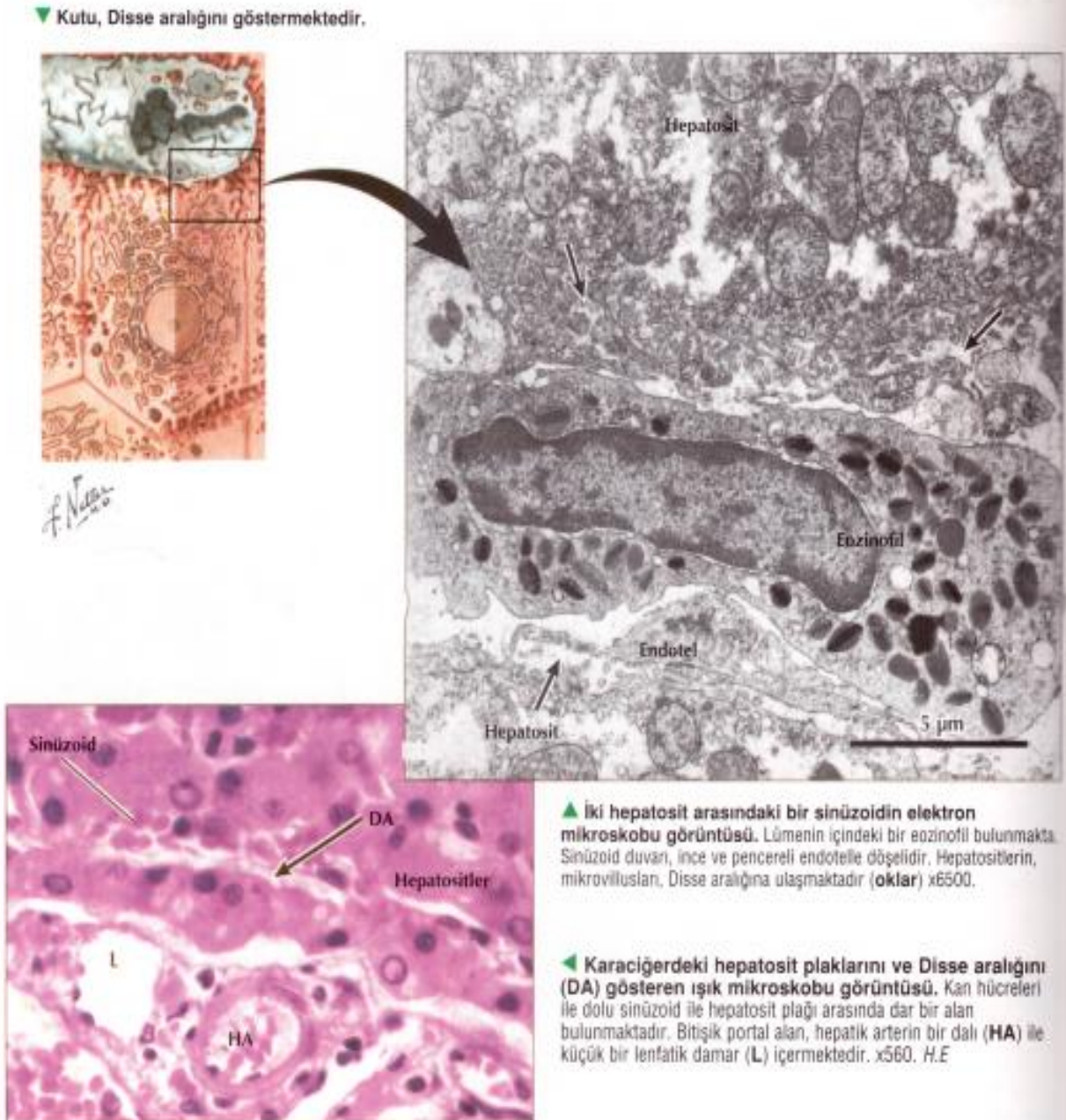
Santral venden başlayarak perifere doğru anastomozlaşarak ilerleyen hepatosit kordonları arasında sinüzoidler kapillerleri yer alır. Ortalama çapları 9-15 µm olan karaciğer sinüzoidleri, kılcal damarlardan daha geniş ve daha düzensiz bir yapıya sahiptir. Son derece ince olan duvarlarını yassılaştırmış endotel hücreleri oluşturur. Hücreler arasında yaklaşık 2 µm çapında boşluklar vardır. Endotel hücrelerinde 100 nm çapında, diyaframsız ve geçirgen fenestralar (pencereler) bulunur. Endotel hücrelerinin lümene doğru uzanan koyu boyanan oval şekilli çekirdekleri vardır. Sinüzoidler hızlı madde geçişi sağlanabilmesi için son derece uygun yapılardır. Hücreler arası boşluklar ve endoteldeki pencereler plazma proteinlerinin geçişine izin verirken kan hücreleri ve trombositlerin geçişine izin vermez. Disse aralığı da sinüzoidleri hepatositlerden ayırır (Roose 1995, Carnerio ve Kelley 1998, Eşrefoğlu 2009).

2.1.4. Karaciğer Hücreleri ve Fonksiyonları

2.1.4.1. Hepatositler

Karaciğerin fonksiyonel birimi olan lobüllerin endokrin ve ekzokrin işlev gören hücreleridir. 20-30 µm çapında, altıgen veya daha fazla yüzeyli olabilirler. Hepatositler ürettikleri safra nedeniyle ekzokrin, ürettikleri çeşitli plazma proteinlerini kana vermeleriyle de endokrin hücre özelliğindedirler. Karaciğerdeki hücrelerin yaklaşık %80'i

ni oluştururlar. Santral ven etrafında, portal alanlara doğru ışınal olarak yerleşmişlerdir. Birbirleriyle anastomoz yaparak bir hücre kalınlığında plaklar oluştururlar. Bu plaklar sinüzoid boşlukları ile çevrenmiştir. Hepatositlerle sinüzoidleri dōşeyen endotel hücreleri arasındaki boşluk disse aralıdır. Perisinüzodial disse aralığı hepatositleri sinüzoidlerdeki kandan ayırır.



Şekil 2.7. Disse aralığının ışık ve elektron mikroskobik görüntüsü (Ovale ve Nahirney 2009)

Bir hepatositin bazolateral bölge ve apikal bölge olmak üzere iki hücresel bölgesi bulunur. Bazolateral bölge disse aralığına bakar ve mikrovilluslarla kaplı yüzeydir. Komşu hepatositlerin yan yüzeylerinde bulunan bağlantı birimleri fonksiyonel olarak hücreler arası işbirliği sağlar. Bazolateral bölgeden kandan bazı maddeler emilir ve hepatositlerce sentezlenen maddeler salgılanır (Tekelioğlu 2002, Eroscheno 2000).

Genelde merkezi yerleşim gösteren tek çekirdeğe sahiptirler fakat iki ve çok çekirdekli hücrelere de rastlanır. Hepatositlerin yaklaşık %20'si iki çekirdeklidir. Bu binükleer hepatositler, nükleus volümü ve DNA içeriğinin artmasıyla gerçekleşen endomitosis sonucu meydana gelir (Polat 2003, Abraham ve Kierszen 2006).

Portal alanlardan farklı uzaklıklarda bulunan hepatositler yapısal, biyokimyasal ve histokimyasal farklılık gösterirler. Yani hepatosit sitoplazması, işlevsel durumuna bağlı olarak farklı oranda organel ve inklüzyon içerir.

Sitoplâzmadaki yuvarlak, uzun şekilli, yassı veya tübüler kristaya sahip çok sayıda mitokondri çeşitli hücre işlevlerinde kullanılmak üzere ATP sentezler. Yüksek miktarda enerji gereksimini duyan hepatositlerde vital ve enzim boyamalarıyla yaklaşık 800-2000 mitokondri olduğu gösterilmiştir. Hematoksilen-Eozin ile boyanmış karaciğer preparatlarında sitoplazma, mitokondrilerin çok olması nedeniyle asidofilik boyanır.

Hepatosit sitoplazması bol miktarda lizozom içerir. Hepatosit lizozomları hücre içi organellerin yıkım ve dönüşümü için önemlidir. Lizozomlar yaşlanmış plazma glikoproteinlerini, bazolateral bölgede hepatik lektin membran reseptörü ile asialoglikoprotein reseptörü içine alarak yıkıma uğratar. Lizozomlar ferritinin yıkım ürünü olan eriyebilir ferritin ile erimeyen formdaki hemosiderin şeklinde bulunan demiri depolarlar (Erdoğan ve ark. 1996, Ovale ve Nahirney 2009).

Hepatositler, çapları 0,2-1µm arasında değişen yaklaşık 200-300 adet peroksizom içerirler. Daha önceden var olan peroksizomlardan tomurcuklanma ile meydana gelen peroksizomlar, değişik metabolik olaylarda kullanılan birçok enzim içerir. Membran ile çevrili bu peroksizomlar hidrojen peroksit açığa çıkaran yüksek miktarda oksidazlar içermektedir. Hidrojen peroksit toksik bir metabolit olduğu için katalaz tarafından yıkıma uğrattılır (Yağmurca 2003, Abraham ve Kierszen 2006).

Hepatositler bol miktarda endoplazmik retikulumu sahiptirler. Serbest ribozomlar ve granüllü endoplazmik retikulumlar protein sentezinde görev alır. Kan albumini ve

fibrinojen gibi birkaç tip protein sentezi yapar. Granüllü endoplazmik retikulumlar bazofilik cisimler olarak adlandırılırlar.

Sitoplazma içine diffüz olarak yayılmış olan düz endoplazmik retikulumda bir takım önemli olaylar meydana gelir. Bu organel çeşitli maddelerin vücuttan atılmadan önce inaktivasyonu ya da detoksifikasyonu için gerekli olan oksidasyon, metilasyon ve konjuasyon olaylarından sorumludur. Ayrıca glikojenin glukozla çevrilmesi ve kolesterol yapımı için gerekli bazı enzimler içermektedir.

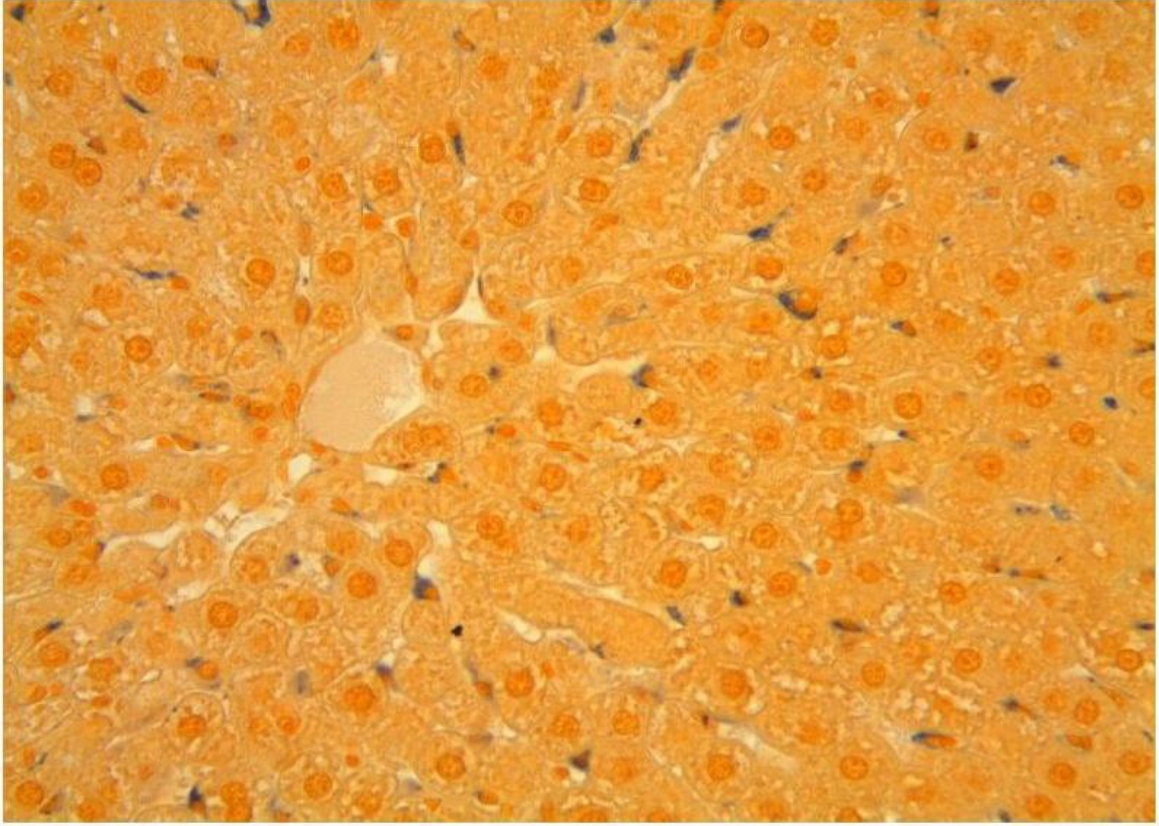
Golgi kompleksi hepatositlerde tipik olarak safra kanaliküllerine yakın ve çekirdek etrafında yerleşmiştir. Salgılanan proteinlerin glikolizasyonuna ve lizozomal enzimlerin çeşitlenmelerine katkı sağlar. Lizozomun oluşumu, plazma proteinlerinin sentezi, glikoprotein ve düşük dansiteli lipoproteinlerin salgılanması fonksiyonlarını görürler.

Hepatositlerde glikoz, glikojen olarak depo edilir. Elektron mikroskopik incelemelerde glikojen, düz endoplazmik retikulum kümeleri içinde toplanmış granüller halinde görülür (Carnerio ve Kelley 1998, Ovale ve Nahirney 2009, Abraham ve Kierszen 2006).

2.1.4.2. Kupffer Hücreleri

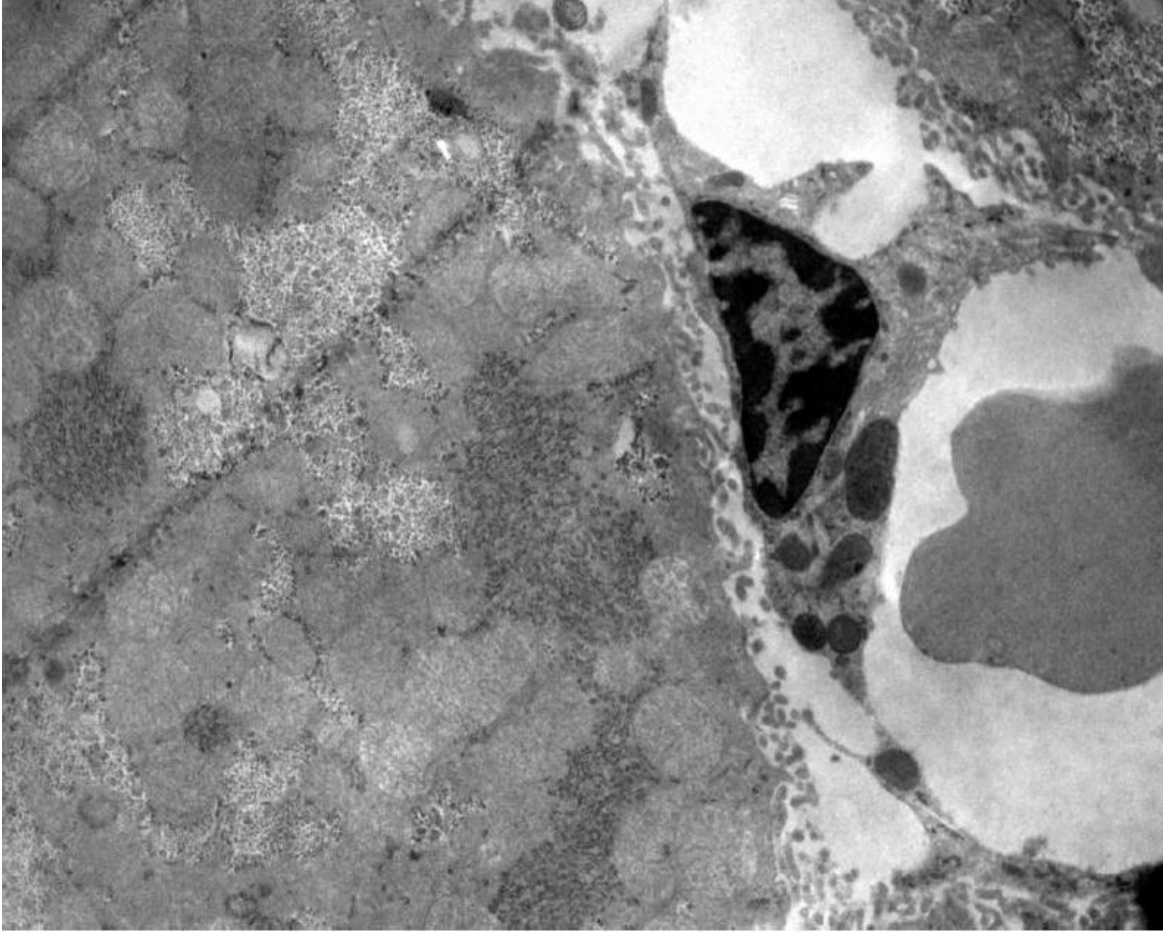
Karaciğerde bulunan ve fagositoz yapan Mononükleer Fagositik Sistem (M.F.S) üyesi hücrelerdir. Kandaki monositlerden köken alan, makrofaj yapısında hücrelerdir. 1876 yılında Von Kupffer isimli araştırmacı tarafından karaciğer perisinuzoidal bağ dokusunda altın kloroid yöntemi ile gösterilmiştir.

Karaciğerin yaklaşık %15 lik kısmını oluşturan Kupffer hücreleri çok sayıda lipofoda (yalancı ayak) ve sitoplazmalarında endositotik veziküllere sahiptirler. Işık mikroskopik düzeyde bu hücreler incelenmek istendiğinde, vital boyaları takiben karaciğer kesitleri alınır. Fagositik aktivite sayesinde hücre içine alınan boya ile Kupffer hücrelerinin lokalizasyonu başarılı bir şekilde görülebilir (Roose 1995, Ovale ve Nahirney 2009).



Şekil 2.8. Sinüzoidlerde yerleşen Kupffer hücreleri. (Çetin 2006)

Karaciğer sinüzoidleri içerisinde farklı şekil ve yerleşimde bulunabilirler. Genelde portal alanlar etrafında daha yoğun yerleşim gösterirler. Elektron mikroskopik incelemelerde hareketli ve çok sayıda hücresel uzantılara sahip oldukları görülmüştür. Kupffer hücreleri ile endotel hücrelerinin membranları yüz yüze komşuluk yapar ancak hücre membranları arasında bağlantı kompleksleri oluşturmazlar. Endotel hücrelerin fenestrasyonlarından Kupffer hücre uzantılarının disse aralığına uzantılar gönderdiği ve burada hepatosit mikrovilluslarıyla temasta oldukları gözlenmiştir. Kupffer hücreleri uzantılarıyla sinüzoid içerisindeki hücrelerle ve endotelde bulunan fenestralar yoluyla da hepatosit ve yağ depolayan satellit hücreleriyle temas kurarlar (Abraham ve Kierszen 2006, Roose 1995).



Şekil 2.9. Kupffer hücrelerinin elektron mikroskobik görüntüsü. (Çetin 2006)

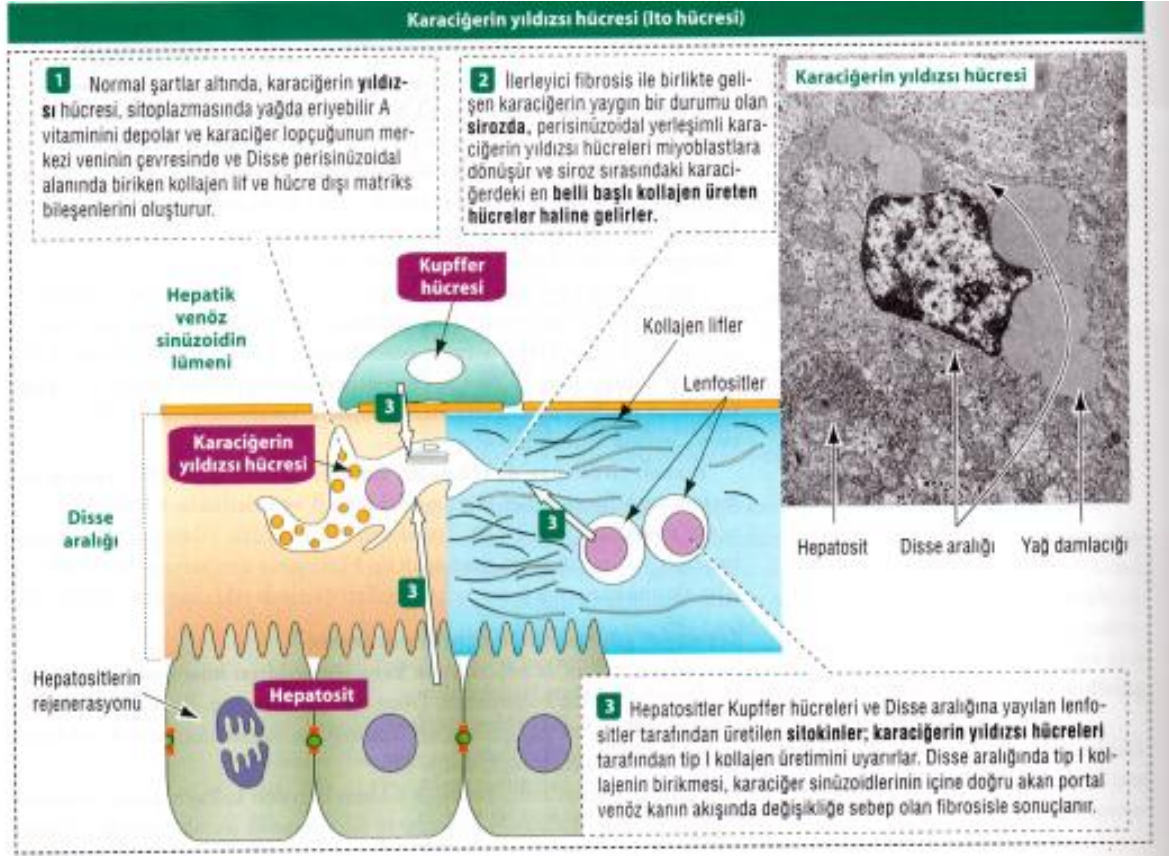
Fagositik ve enzimatik aktiviteye bağlı olarak boyutları ve hücre şekilleri farklılık gösterir. Portal alanlara daha yakın yerleşim gösteren Kupffer hücreleri daha yüksek aktiviteye sahiptirler.

Oval şekilli büyük bir çekirdeğe sahiptirler. Granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı iyi gelişmiştir. Bu da aktif şekilde protein sentezi yaptıklarını gösterir. Sitoplazmada bol lizozom bulunur.

Başlıca fonksiyonları yaşlı ve hasarlı eritrositleri metabolize etmek, bazı immünolojik proteinleri salgılamak ve kana karışmış bakteri, virüs, mantar, tümör hücrelerini fagosite etmektir (Abbas ve Lichtman 2007, Roose 1995, Akay 2008, Abraham ve Kierszen 2006).

2.1.4.3. Satelit Hücreleri

1876 yılında Von Kupffer tarafından tanımlanmış, İto hücreleri veya karaciğer yıldızlı hücreleri olarak bilinirler. Disse aralığında sinüzoidlere yakın konumda yerleşirler. Mezenşimal kökenli satelit hücreleri yağ damlacıkları içerirler. Vitamin A'nın depolanması ve metabolizmasında rol oynarlar.



Şekil 2.10. İto hücrelerinin şematik ve elektron görüntüsü (Abraham ve Kierszen 2006)

Satellit hücreler Elektron mikroskopta incelendiğinde, sitoplazmasında bol yağ damlacıkları, kısmen gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum ve az sayıda mitokondriye sahip olduğu görülür. Hematoksilin-Eozin boyamalarda satelit hücrelerini tanımak zordur. Satelit hücrelerin gözlenmesi Vitamin A'nın boyanması ile ilişkilidir. Toluidin mavisi, bazik fuksin gibi boyalar kullanılarak satelit hücreleri gözlemek mümkündür. Gümüşleme tekniği ile de insan karaciğer kesitlerinde sentrolobüler alanda çok sayıda satelit hücresi gözlenmiştir.

Bazı patolojik durumlarda Kupffer hücreleri tarafından üretilen sitokinlerle satellit hücreler uyarılır ve kollajen üreten hücrelere dönüşürler. Tip I kollajen üretimine ve salınımına ek olarak satellit hücreler laminin, proteoglikanlar ve bazı büyüme faktörlerini salgılar.

Kupffer hücrelerinin uyarımı ile satellit hücreler kollajen sentezlemeye başlarsa, disse aralığı bir süre sonra kollajenle dolar. Artan bu kollajen ve hücre dışı matriks sinüzoid endotelindeki fenestrasyon ve aralıklarda kayıplara neden olur. Fibrotik süreç ilerledikçe yıldızlı hücreler sinüzoid lümenini sıkarak daraltan ve damar direncini artıran miyofibroblastlara dönüşürler. Özellikle sirozda, ilerleyici fibrozis nedeniyle portal venöz kan akışına karşı karaciğer sinüzoidlerinde oluşan direnç artışı portal hipertansiyona neden olur (Abraham ve Kierszen 2006, Kurangöz 2002, Roose 1995).

2.1.5. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğer birbiri ile ilişkili birçok önemli fonksiyona sahiptir. Bu fonksiyonlar şöyle özetlenebilir:

- a) Kanın filtrasyonu ve depolanması,
- b) Karbonhidratların, proteinlerin, yağların, hormonların ve yabancı kimyasalların metabolize edilmesi,
- c) Safranin oluşumu,
- d) Vitaminlerin ve demirin depolanması ve pıhtılaşma faktörlerinin salınımıdır.

2.1.5.1. Karbonhidrat Metabolizması

Birçok değişik işlemi kapsayan karbonhidrat metabolizması şöyle özetlenebilir.

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

Karaciğer kandaki fazla glikozu depo eder. Kandaki glikoz seviyesi düştüğünde ise tekrar kana verir. Buna karaciğerin glikoz tamponlama fonksiyonu adı verilir.

2.1.5.2. Yağ Metabolizması

Yağ metabolizması kısmen vücudun tüm hücrelerinde yapılırsa da, bu metabolizmanın başlıca işlemleri karaciğerde yapılır. Bu özgül fonksiyonlar şöyle özetlenebilir.

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

2.1.5.3. Protein Metabolizması

Karaciğerin protein metabolizmasına ait fonksiyonları hayati önem arz eder. Protein metabolizması fonksiyonları şöyle özetlenebilir.

- a) Amino asitlerin deaminasyonu,
- b) Üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından ayrılması,
- c) Plazma proteinlerinin sentezlenmesi,
- d) Metabolik olaylar için önemli amino asitlerin ve bazı maddelerin birbirine dönüşümleri.

2.1.5.4. Safra Salınımı

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

2.1.5.5. Pıhtılaşma Faktörlerinin Metabolizması ve Diğer Metabolik Fonksiyonlar

Karaciğer fibrinojen, protrombin, faktör V, VII, IX, X gibi pıhtılaşma faktörlerinin sentezlenmesinde görev alır. Karaciğer bu fibrinolitik faktörlerin yapım ve yıkımından sorumludur.

Karaciğerde başta vitamin A olmak üzere karaciğerde vitamin D ve B12 de depo edilir. Vücutta kandaki hemoglobinde bulunan demir dışında, demirin büyük bölümü karaciğerde ferritin şeklinde depo edilir.

Çeşitli zararlı maddeler detoksifiye edilerek safra ile vücuttan uzaklaştırılır. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden salınan steroid hormonlar ya kimyasal olarak değiştirilir ya da atılır (Polat 2003, Guyton ve Hall 2001, Abraham ve Kierszen 2006, Eşrefoğlu 2009).

2.1.6. Karaciğer Rejenerasyonu

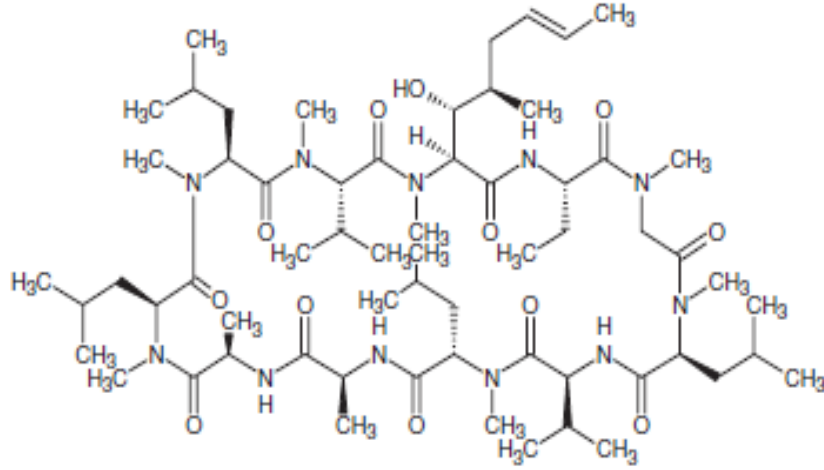
Karaciğer hücreleri yavaş yenilenmesine karşın rejenerasyon için uygun bir organdır. Cerrahi yollarla karaciğerin bir kısmının alınması veya toksik maddelerin etkisiyle kaybı, rejenerasyonu başlatır. Hücre poliferasyonu periportal alanda başlar ve lobülün ortasına doğru hücre dizileri yeniden şekillenir. Hücreler bölünmeye devam ederken metabolik fonksiyonlarını devam ettirirler (Carnerio ve Kelley 1998).

Karaciğer rejenerasyonu mitojenik faktörler ve büyüme faktörlerinin uyarıcı etkisi ile gerçekleşir. Bunlardan bazıları Hepatosit Growth faktör, TNF-alfa, interlökin-6 (IL-6), epidermal growth faktör, insülin ve norepinefrindir. Hepatosit growth faktörün karaciğer gelişiminde de önemli rolü vardır. TNF-alfa, endotel hücrelerinin poliferasyonunu uyarırken, IL-6 ise safra kanalları epitel hücrelerini etkileyen mitojenik bir ajandır (Eşrefoğlu 2009).

2.2. İmmün Baskılayıcılar (İmmünsüpressifler)

İmmün baskılayıcı ilaçları çoğu CD4 tipi T lenfositler aracılığı ile oluşturulan red reaksiyonunun ve otoimmünite gelişmesine yol açan hastalıkların tedavisinde kullanılır. Akut allogreft reddi reaksiyonunu güçlü şekilde önlerler. Organ transplantasyonlarında başarı oranını ileri derecede artırmışlardır. Red riskinin yüksek olduğu dönemlerle yüksek dozda ve sonrasında kademeli şekilde azalan dozlarda kullanılırlar.

İmmünoşüpresif ilaçların en önemli sakıncaları enfeksiyona ve malignite gelişimine karşı, vücudun savunma sistemini kırmaları ve malignite gelişme riskini artırmalarıdır (Kayaalp 2005).



Şekil 2.11 . Siklosporinin kimyasal yapısı (www.guidechem.com)

2.2.1. Siklosporin A (CsA)

Siklosporin A (CsA), immün baskılayıcı bir ilaç olarak, organ transplantasyonları başta olmak üzere otoimmün hastalıkların tedavisinde uzun süredir kullanılan bir ilaçtır (Grub ve ark. 2000, Ponticelli 2005). *Trichoderma polysporum* ve *Cylindrocarpum lucidum* mantarlarının fermantasyonu ile elde edilen CsA, 11 amino asitli siklik bir polipeptittir (Borel ve ark. 1977). Siklosporin A, C₆₂ H₁₁₁ N₁₁ O₁₂ kimyasal formül yapısındadır. Siklosporin A'daki Alfa aminobütirik asidin yerine Norvaline'nin gelmesiyle oluşan Siklosporin G'nin etkisi yaklaşık CsA'ya eşittir (Wartburg ve Traber 1996, Van Buren 1986).

Siklosporinin metabolizması sitokrom p-450 gen ailesi aracılığıyla bağırsak ve karaciğerde gerçekleşir. Kanda eritrositler içinde ve plazma proteinlerine bağlı olarak taşınır ve sadece %5'i serbest olarak dolaşır. İnsanda safra, kan ve idrarda 25'ten fazla metaboliti tespit edilmiştir. Siklosporin, etkisini hücre düzeyinde sitozolde siklofilin adı verilen sitozolik reseptör proteinine bağlanarak gösterir. Oluşan bu kompleks kalsinörine bağlanır ve onun enzimatik fonksiyonunu bloke eder. Kalsinörin, T hücrelerine antijen sunumundan sonra İnterlökin-2 (IL-2) ve diğer sitokinlerin salgınlamında rol oynayan bir sitoplazmik fosfatazdır. Böylece DNA bağımlı proteinlerin aktivasyonunu, dolayısıyla IL-2 sentezini bloke ederek, lenfosit proliferasyonu ve aktivasyonunda anahtar rol oynar ve özellikle CD4 tip T lenfositleri baskılar (Morris 1981, Wenger 1990, Kayaalp 2005).

CsA'nın en önemli yan etkileri malignite gelişimi, nefrotoksisite, hipertansiyon, nörotoksisite ve hiperlipidemidir (Magee ve Pascual 2004, Magnasco ve ark. 2008, Amuda ve ark. 2007). Nadir görülen diğer yan etkiler ise gingival hiperplazi, karaciğer disfonksiyonu ve hirsutizmdir. Nefrotoksisite başta olmak üzere tüm yan etkiler genelde doza bağlıdır ve ilaç dozunun azaltılması veya geçici olarak kesilmesi ile genelde düzelir (Sibley ve ark. 1983, Actis ve ark. 1995, Cheung ve Menkis 1998).

CsA'nın dokular arası dağılımını araştıran çalışmalara göre, CsA en çok yağ dokusunda birikmiştir. Siklosporinden zengin diğer iki doku ise pankreas ve sürrenalendir. Beyin ve Beyin-omurilik sıvısı (BOS)'ında çok düşük miktarlarda bulunur. Bu düşük geçiş oranı ile CsA'nın santral sinir sistemi üzerine olan etkilerini açıklamak zordur (Eemaire ve ark. 1986, Lo 2004).

CsA'nın yan etkileri şu şekilde sıralanabilir;

Nefrotoksisite: Siklosporin nefrotoksik bir ilaçtır. Nefrotoksisite, siklosporin tedavisine sınırlamalar getirebilen, hatta bazen başka tedavi seçeneklerinin aranılmasına yola açan en önemli sorun olarak görülmektedir (Humers ve ark. 1988, Baczkowska 2009). Böbrek transplantasyon hastalarında böbrek biyopsilerinin %50'sinde siklosporine bağlı değişikliklere rastlanılmaktadır. Siklosporine bağlı nefrotoksisite 3 şekilde ortaya çıkabilir:

- 1) Akut böbrek yetmezliği,
- 2) Subakut böbrek yetmezliği
- 3) Kronik nefropati.

Temel mekanizmanın böbrek kan akımındaki azalma ve böbrek damar direncindeki artış olduğu düşünülmektedir. Olayda prostaglandinlerin rolü olabileceği gibi, siklosporinin doğrudan böbrek damarları üzerine etkisi, ya da böbrek sinirleri aracılığıyla oluşturduğu vazokonstriksiyon söz konusu olabilir. Histopatolojik incelemede, akut böbrek yetmezliğinde proksimal tübülüs hücrelerinde dev mitokondri oluşumu, izometrik vakuolizasyon ve mikrokalsifikasyon bulunurken, kronik nefropatide tabloya siklosporin arteriolopatisi ve fokal glomerüloskleroz eklenir. Aslında uzun süredir siklosporin kullanan ve serum kreatinin düzeylerinde yükselme saptanan bir hastada olayın siklosporin nefrotoksisitesine mi, yoksa kronik rejeksiyona mı bağlı olduğunu söylemek güçtür. Bazen böbrek biyopsisi ve siklosporin düzey ölçümü yapıldığı halde bu mümkün olmayabilir (Naesens ve ark. 2009, Baczkowska 2009).

Hipertansiyon: Birçok çalışma siklosporin kullanılan kemik iliği transplantasyon hastalarının %60'ında kısa sürede hipertansiyon geliştiğini göstermiştir. Konvensiyonel tedavi ile karşılaştırıldığında hipertansiyon görülme riski, siklosporin alan hastalarda 30 kez fazla olduğu görülmüştür. Renal vazokonstriksiyon ve böbrek kan akımındaki azalma sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Bazen hipertansif ensefalopati yapabilecek ölçüde ciddi olabilmektedir. Tedavide vazodilatörler ve diüretikler kullanılır (Schacter 1988).

Sekonder malignite gelişimi: Bağışıklığın uzun süre baskılanması bazı kanserlerin oluşumuna yol açabilir. Siklosporin tedavisi sonrası gelişen malignitelerin başında lenfomalar gelir ve konvensiyonel tedaviye göre daha kısa sürede ortaya çıkar. Deri kanserleri ise ikinci sırada yer alır. Kaposi sarkomu ve renal karsinomlar da görülen maligniteler arasındadır. İmmünsüpresyon altında onkogenik virüslerin kontrolsüz çoğalması ve bununla ilişkili TGF- β üretimi malignite gelişiminde etkili olabilir (Penn ve Branson 1980).

Hepatotoksisite: Siklosporinin %20-40 oranında görülen önemli bir yan etkisidir. Bilirubin, aminotransferaz ve alkalen fosfatazda yükselmeye neden olur. Siklosporin düzeyi ile hepatotoksisite arasında belirgin bir ilişki vardır ve doz azaltılmasıyla çoğunlukla ortadan kalkar (Tredger ve ark 2008). Siklosporin karaciğer sinüzoidlerinde genişlemeye, hepatosit hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon oluşumuna neden olur. Ayrıca portal alanlarda nötrofil ağırlıklı bir lökosit filtrasyonu gözlenir (Kuruş ve ark. 2008).

Siklosporin karaciğer üzerine direk etkilidir. Siklosporin ve karaciğer arasında ilişkiler aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- 1) Siklosporin karaciğerde metabolize olur. Oral absorpsiyonu karaciğere bağlıdır. Serum bilirubin konsantrasyonu ile siklosporin biyoyararlanımı korelasyon gösterir. Karaciğerde hidrosilasyon, demetilasyon ve dekarboksilasyon reaksiyonları ile metabolize edilir ve metabolitleri safra ile itrah edilir.
- 2) Siklosporin hepatotoksiktir. Hepatotoksisitesinde kolestatik tipte karaciğer test profili görülür. Serum bilirubin düzeyleri, alkalen fosfataz ve γ -glutamil transferaz düzeyleri artar. Yüksek dozlarda hepatoselüler protein yapımını azaltır. Glikojen sentezini artırır.
- 3) Transplantasyonlardan sonra allogeft reaksiyonlarını önlemede kullanılır.
- 4) Karaciğeri etkileyen otoimmün hastalıkların tedavisinde yararlı etkileri vardır.

- 5) Parsiyel hepatektomiden sonra rejenerasyonu artırmaktadır. Eksperimental olarak bakteriyel ve endotoksinlere bağı hücre hasarını azaltmaktadır.
- 6) Hepatotik tümör büyümesini indüklemekte ya da modifiye etmektedir. Karaciğerde lenfoma gelişimini indüklerken, transplantasyondan sonraki hepatoselüler karsinom oranını azaltmaktadır. Buna karşılık karaciğerde metastatik tümör gelişimini artırır (Groen 1990, Kapan 1994).

CsA'nın dokularda neden olduğu hasarın mekanizması ile ilgili birçok görüş ileri sürülmüştür. En çok kabul gören görüş CsA'nın lipit peroksidasyonu sonucunda oluşturduğu serbest radikallerin yaptığı oksidatif hasardır (Bianchi ve ark. 2003).

2. 3. Erdosteine

Erdosteine (N-karboksimetiltioasetil-homosisteine tiolakton) kronik pulmoner hastalıkların tedavisi için geliştirilmiş mukolitik bir ajandır (Dechant ve Noble 1996, Fumagali ve ark. 1988).

Erdosteine; Metabolit I, II ve III olmak üzere üç aktif metaboliti vardır. Metabolit I; N-tiyoglikol homosisteine, metabolit II; N-asetil homosisteine, metabolit III; homosisteindir. Plazma proteinlerine %64,5 oranında bağlanır. Eliminasyon yarılanma ömrü 1,4 saattir. Erdosteine, oral alım sonrası çabuk absorbe olur ve absorpsiyonu gıdalardan etkilenmez. Barsaklardan emilerek portal dolaşıma geçer ve karaciğerde metabolize olur. Karaciğerde metabolize olduktan sonra serbest hale gelen sülfidril (tiyol = -SH) grupları sayesinde çok yönlü etki mekanizması oluşur. Üç aktif metaboliti de mukolitik ve serbest radikal temizleyici aktivite göstermektedir (Biagi ve ark. 1989, Inglesi ve ark. 1994, Yağmurca ve ark. 2007, Çabuk ve ark. 2008).

Bronşiyal mukus salgısını seyreltici ve ekspektoran özelliğine sahip olan Erdosteine, hem serbest radikallerin oluşumunu engeller, hem de elastaz enziminin aktivitesini inhibe ederek etki gösterir (Titti ve ark. 2000). Erdosteine, solunum sisteminde bakterinin mukozaya kolonize olmasında en önemli aşama olan adezyon aşamasını önler ve kullanılan antibiyotiğin balgamdaki konsantrasyonunda artış sağlayarak antibiyotikler ile sinerjik etki gösterir (Biagi ve ark. 1989, Gazzani ve ark. 1989). Erdosteine antiadeziv etkisini, bakteri fimbriasındaki disülfid bağlarını kırarak bakterinin hücre reseptörüne

bağlanmasını sağlayan yapıyı bozma şeklinde gösterir. Bu etkisi kanıtlanmış tek mukolitik ajandır (Braga ve ark. 1999).

Antoksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen Erdosteine birçok çalışmada bu özelliğinden dolayı kullanılmış ve serbest radikal oluşumunu önlediği biyokimyasal ve histolojik olarak gösterilmiştir (Koç ve ark. 2005, Yağmurca ve ark. 2007).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Hayvanları ve Gruplar

Bu deneysel çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (MKUHDEK) tarafından etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmıştır. Çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde (MKUDAM) gerçekleştirildi. Dokuların boyanması, mikrofotograflanması ve incelenmesi aşamaları Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada 32 adet, 250 ± 20 gr ağırlığında, *Wistar albino* erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deneylerde kullanılan hayvanlar Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Yeni ortama adaptasyon için 5 gün süreyle bekletildi. Deney süresince hayvanların deney ortamı; ışık düzeni 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve sıcaklık 20 ± 2 °C olacak şekilde ayarlandı. Deney süresince hayvanlar standart pellet yem ve şehir şebeke suyu ile ad libitum olarak beslendi.

Her grupta 8 hayvan olmak üzere, 4 gruba ayrılan hayvanlara 10 gün boyunca ilaç uygulamaları yapıldı.

Gruplar:

1. Kontrol grubu (n:8)
2. Siklosporin grubu (n:8)
3. Siklosporin +Erdosteine grubu (n:8)
4. Erdosteine grubu (n:8)

3.2. İlaçlar ve Uygulama Yolları

Deneyde hayvanlara uygulanan maddeler Siklosporin, Erdosteine ve Serum fizyolojiktir (SF).

Kontrol grubundaki hayvanlara 0,5 ml SF, intraperitoneal yolla verildi.

Siklosporin, Novartis Sandimmun® 50 mg/ml ampul kullanıldı. 50 mg siklosporin içeren her ampul, 4 ml SF ile seyreltilti. Her ampulden 5 ml; 50 mg siklosporin içeren çözelti elde edildi. Siklosporin 20 mg/kg dozunda, intraperitoneal (i.p) yolla verildi.

Erdostein, Sandoz Erdostin 300 mg/kapsül kullanıldı. Her bir kapsül 10 ml'lik bikarbonat içerisinde çözüldü. Oluşan karışımdan 2 ml alınarak, üzerine 8 ml daha bikarbonat ilave edildi. Elde edilen 10 ml'lik çözelti 60 mg erdostein içermekteydi. Her uygulamada bu karışımdan hayvanlara 0,5 ml uygulandı. Erdostein 12 mg/kg dozunda, özofagial-prob aracılığıyla intragastrik yolla verildi.

Çizelge 3.1. Deney grupları ve ilaç uygulamaları

Gruplar	Uygulanan madde	Uygulama yolu	Doz
1.Kontrol grubu	SF	İntraperitoneal	20 mg/kg
2.Siklosporin grubu	Novartis, Sandimmun® 50 mg/ml ampul	İntraperitoneal	20 mg/kg
3.Siklosporin+ Erdostein grubu	Novartis, Sandimmun® 50 mg/ml ampul + Sandoz, Erdostin 300 mg/kapsül	Siklosporin intraperitoneal, erdostein oral	Siklosporin 20 mg/kg, Erdostein 12 mg/kg
4.Erdostein grubu	Sandoz Erdostin 300 mg/kapsül	Oral	12 mg/kg

3.3. Cerrahi Uygulama

On günlük deney sonunda ratlara intraperitoneal olarak Ketamin (90 mg/kg)-Xylazin (10 mg/kg) anestezi uygulandı. Hayvanlar ön orta hattan açıldı. Kanatma yöntemi ile kalpten kan alınarak hayvanlar öldürüldü. Hedef doku olan karaciğerleri alındı. Dokular SF ile temizlendikten sonra uygun büyüklüklerde bölünerek tespit solüsyonuna alındı.

3.4. Histolojik Tekniklerin Uygulanması

Alınan karaciğer dokuları, daha iyi tespit sağlanması için yaklaşık 1 cm³'lük parçalar halinde %10'luk nötral formaldehite alındı. Tespit solüsyonu haftada iki kez değiştirilerek

fiksasyon yenilendi. Fiksasyon aşamasından sonra dokular, klasik histolojik takip metoduyla takip edilip parafine gömüldü.

Takip aşamaları:

1.Hidratasyon (çeşme suyu altında, 12 saat)

2.Dehidratasyon

%70 alkol 1 saat

%80 alkol 1 saat

%90 alkol 1 saat

%96 alkol 1 saat

Absolü alkol 2×½ saat

3.Şeffaflandırma

Xylene 2×1 saat

4. Parafine Gömme

Xylene + parafin 1 saat

Sıvı parafin 1 saat (etüvde)

Katı parafin 1 saat

5. Bloklama

Bloklanan dokulardan mikrotomla 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler etüve alınarak 30 dakika bekletildi ve boyama için hazır hale getirildi. Dokular verilen prosedürlere göre Hematoksilen-Eozin, PAS ve Elastik doku boyası ile boyandı.

Hematoksilen- Eozin (HE) boyama (SIGMA-ALDRICH MHS 128- HT110180):

Dokunun genel histolojik yapısını incelemek amacıyla HE boyama yapıldı. Dokular aşağıdaki prosedüre göre HE ile boyandı.

1. Xylene I 5 dk

2. Xylene II 5 dk

3. Absolü alkol 3 dk

4. Absolü alkol 3 dk

5. %96 alkol 3 dk

6. %80 alkol 3 dk

7. %70 alkol 3 dk

8. Çeşme suyu 1-2 dk

9. Mayer's hematoxilen 15 dk
- 10.Çeşme suyu 1-2 dk
11. Eozin 1 dk
12. %96 alkol 30 sn
13. Absolü alkol 30 sn
14. Xylene 30 dk
15. Entellan ile kapatma

PAS (Periodic Acid-Schiff) Boyama (SIGMA-ALDRICH 395B):

Hepatositlerin sitoplazmasındaki glikojen granülleri ve bazal membranların daha iyi incelenebilmesi için dokular PAS ile aşağıdaki prosedüre uygun olarak boyandı.

1. Deparafinizasyon
Ksilol 2×5 dk
2. Hidratasyon
Absolü alkol 2×3 dk
%96 alkol 3 dk
%80 alkol 3 dk
%70 alkol 3 dk
3. Çeşme suyu 1-2 dk
4. Peryodik asit çözeltisi 5 dk
5. Distile suya birkaç kez daldırıp çıkarma
6. Schiff ayracı 10 dk
7. Çeşme suyunda yıkama 5 dk
8. Hematoxilen 90 sn
9. Çeşme suyunda yıkama 3 dk
10. Dehidratasyon
%96 alkol 30 sn
%100 alkol 30 sn
- 11.Şeffaflandırma
Ksilol 30 dk
- 12.Entellan ile kapama

Elastik Lif Boyama (SIGMA-ALDRICH HT25A):

Portal alanlar ve santral vendeki kollajen liflerini görebilmek amacıyla doku Elastik Lif boyası ile aşağıdaki prosedüre göre boyandı.

1. Deparafinizasyon
Ksilol 2×5 dk
2. Hidratasyon
Absolü alkol 2×3 dk
%96 alkol 3 dk
%80 alkol 3 dk
%70 alkol 3 dk
Çeşme suyu 1-2 dk
3. Verhoeff boyası 10 dk
4. Distile suda hafifçe yıkama
5. Ferik klorit solüsyonuna birkaç defa daldırıp çıkarma
6. Çeşme suyunda hafifçe yıkama
7. %95'lik alkole birkaç defa daldırıp çıkarma
8. Distile suda yıkama
9. Van Gieson solüsyonunda bekletme, 1-2 dk.
10. Dehidratasyon
%96 alkol 30 sn
%100 alkol 30 sn
11. Şeffaflandırma
Ksilol 30 dk
12. Entellan ile kapama

Hazırlanan preparatlar Olympus CX20 ışık mikroskobu ile incelenerek fotoğraflandı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler

HE ile boyanan preparatlardan, her gruptan 100 klasik karaciğer lobülü incelenerek skorlamaya tabi tutuldu. Gruplar arasındaki histolojik farklılıkları ortaya çıkarmak için her

klasik karaciğer lobülünde sinüzoidlerde genişleme, inflamatuvar hücre varlığı, hepatosit hücrelerinin sitoplazmasında vakuollerin varlığı ve sinüzoidlerde kanamanın olması bulguları değerlendirildi.

Skorlama yapılırken histolojik değişiklikler; normal=0 (sıfır), hafif =1, orta=2 ve ağır=3 olarak derecelendirildi. Gruplar arasında histolojik farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı değerlendirildi.

Skorlama işlemini daha objektif yapabilmek için preparatların etiket bilgi kısımları kapatılarak her preperata numara verildi. Preperatın hangi gruba ait olduğunu bilmeyen iki histolog tarafından skorlama yapıldı. Skorlama işlemi sonrası numaralandırılan preparatların etiketlerine göre veriler bilgisayar ortamına aktarıldı.

Skorlama işlemi yapılırken gruptaki her hayvanın karaciğerinden farklı preparatardan en az 10 lobül sayıldı. Bu şekilde her gruptan toplamda 100 lobül değerlendirildi.

Bütün istatistiksel analizlerde SPSS paket programı (Version 11.5.0; SPSS, Chicago, IL, USA) kullanıldı.

Çizelge 3.2. Deney grupları ve histolojik dejenerasyonlar

Histolojik dejenerasyonlar	Sinüzoidal genişleme	Hepatositlerde vakuolizasyon	Kanama	İnflamatuvar hücre varlığı
Gruplar				
1.Kontrol grubu	0	0	0	0
2.Siklosporin grubu	2.79±0.43	1.24±0.66	2.58±0.47	2.41±0.53
3.Siklosporin+Erdosteine grubu	1.40±0.68	0.88±0.52	1.33±0.62	1.23±0.55
4.Erdosteine grubu	0	0	0	0

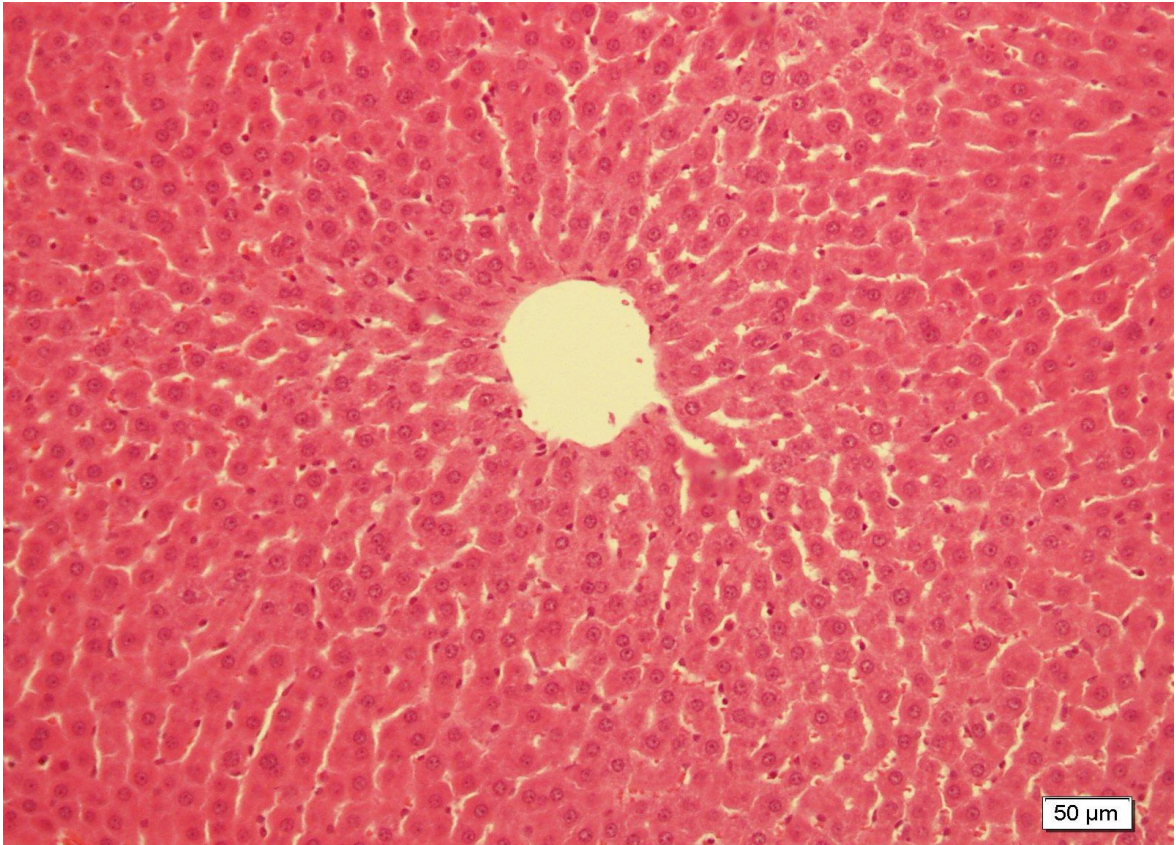
(± = standart sapma)

4. BULGULAR

Deney süresi tamamlayıncaya kadar hayvan kaybı olmadı. II. grup (Siklosporin grubu) ve III. grupta (Siklosporin + Erdosteine grubu), I.(Kontrol grubu) ve IV.(Erdosteine) gruplara göre yem ve su tüketiminde azalma görüldü. Buna bağı olarak II. ve III. gruplarda ağırlık kaybı olduğu görüldü.

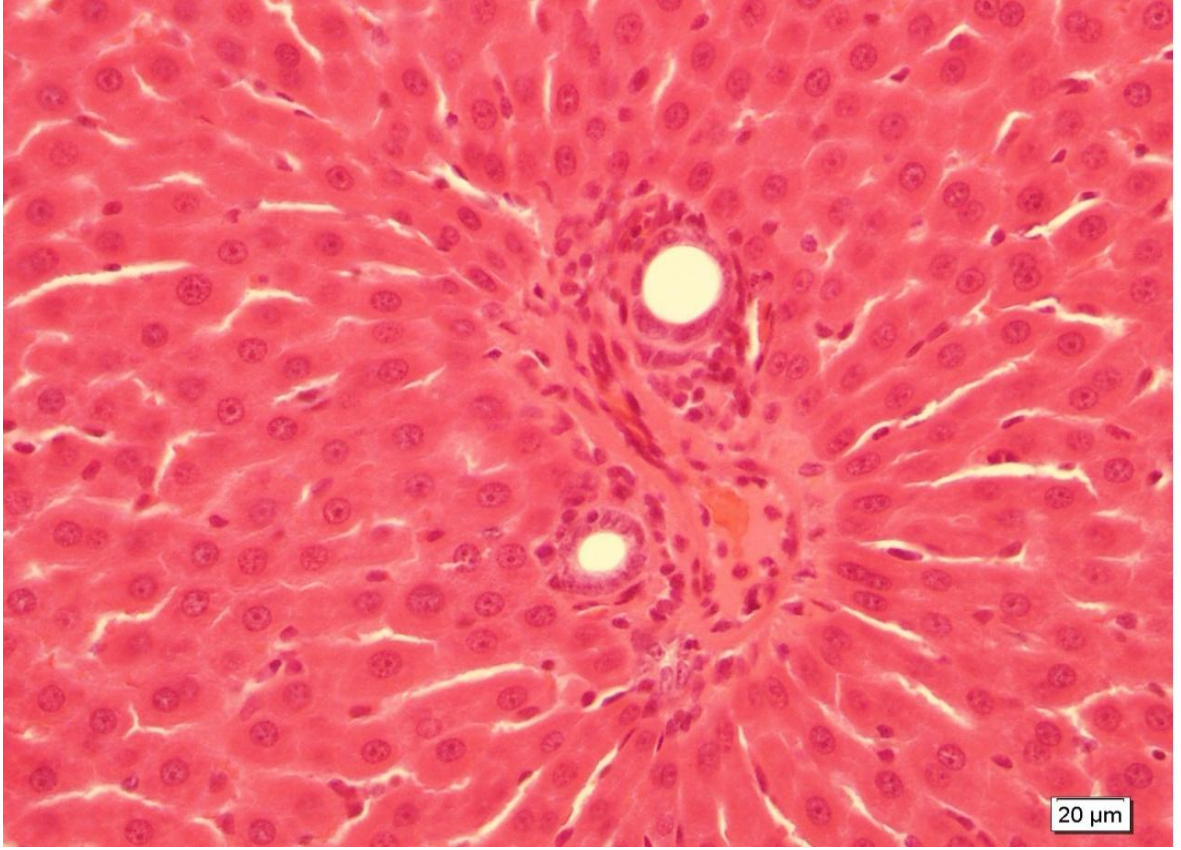
I.Grup (Kontrol grubu) bulguları;

Karaciğer dokusunun genel histolojik yapısı HE ile gösterildi. SF uygulaması yapılan I. grubun doku yapısı normal olarak gözlemlendi. Santral venden klasik karaciğer lobülünün periferine doğru uzanan hepatosit kordonlarının yapısı normal olarak gözlemlendi. Hepatosit kordonlarının arasında seyreden sinüzoidlerin yapısının normal olduğu ve santral vene açıldıkları gözlemlendi (Şekil 4.1).



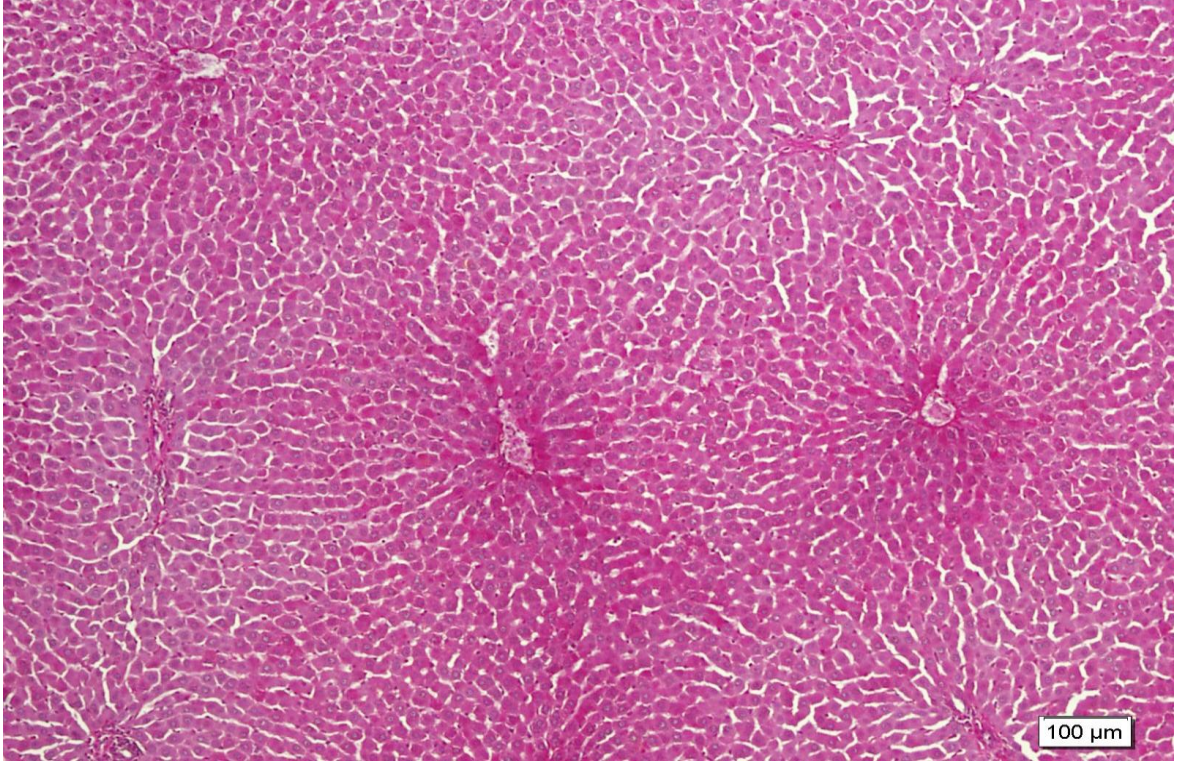
Şekil 4.1. Kontrol grubu normal karaciğer dokusu (HE)

Hepatosit hücrelerinin sitoplazmalarının pembe, çekirdeklerin mor renkte boyandığı görüldü. Hepatosit çekirdeklerinin yuvarlak, ökromatik ve bazı hepatositlerin iki çekirdekli olduğu görüldü (Şekil 4.2).

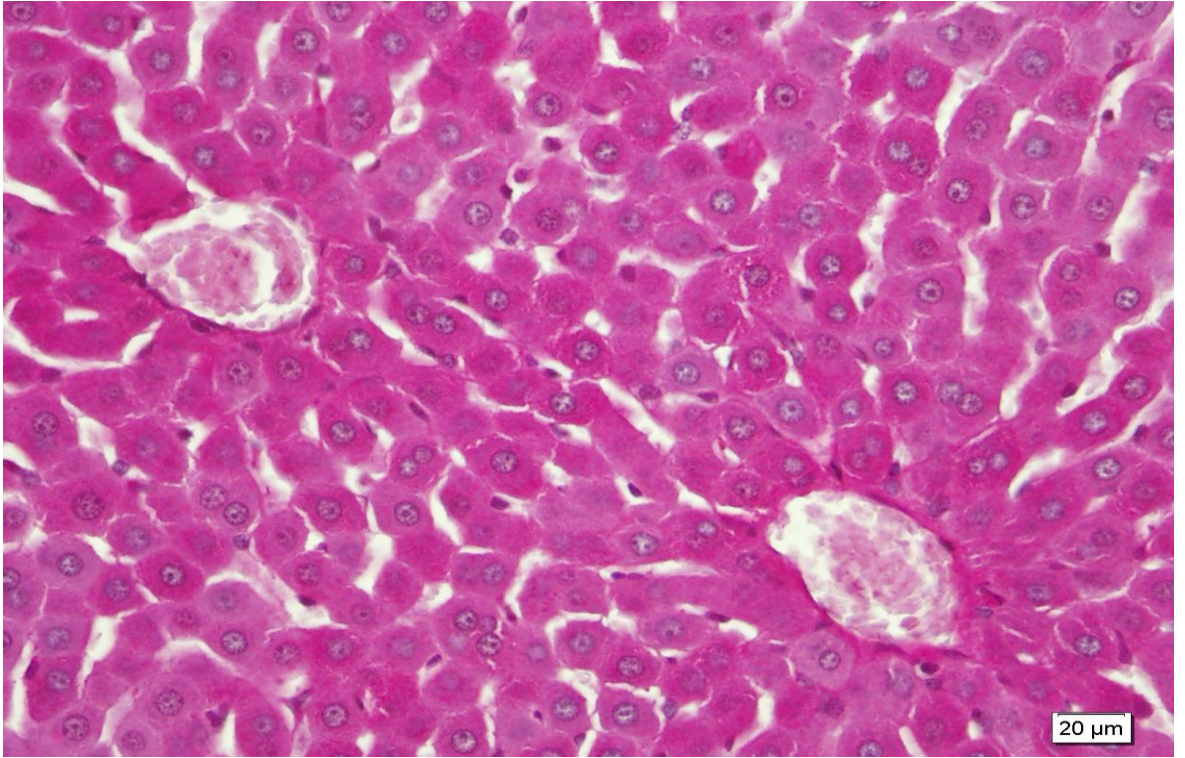


Şekil 4.2. Kontrol grubu normal karaciğer dokusu portal alan (HE)

PAS ile boyanan kontrol grubunun karaciğer dokusunda hepatosit hücrelerinin sitoplazmalarında boyanan glikojen granülleri leylak renkte izlendi. HE boyamaya göre hepatosit çekirdekleri daha belirgin görüldü. Portal alanlar ve santral ven etrafındaki hepatosit sitoplazmalarının daha yoğun boyandığı görüldü (Şekil 4.3 ve 4.4).

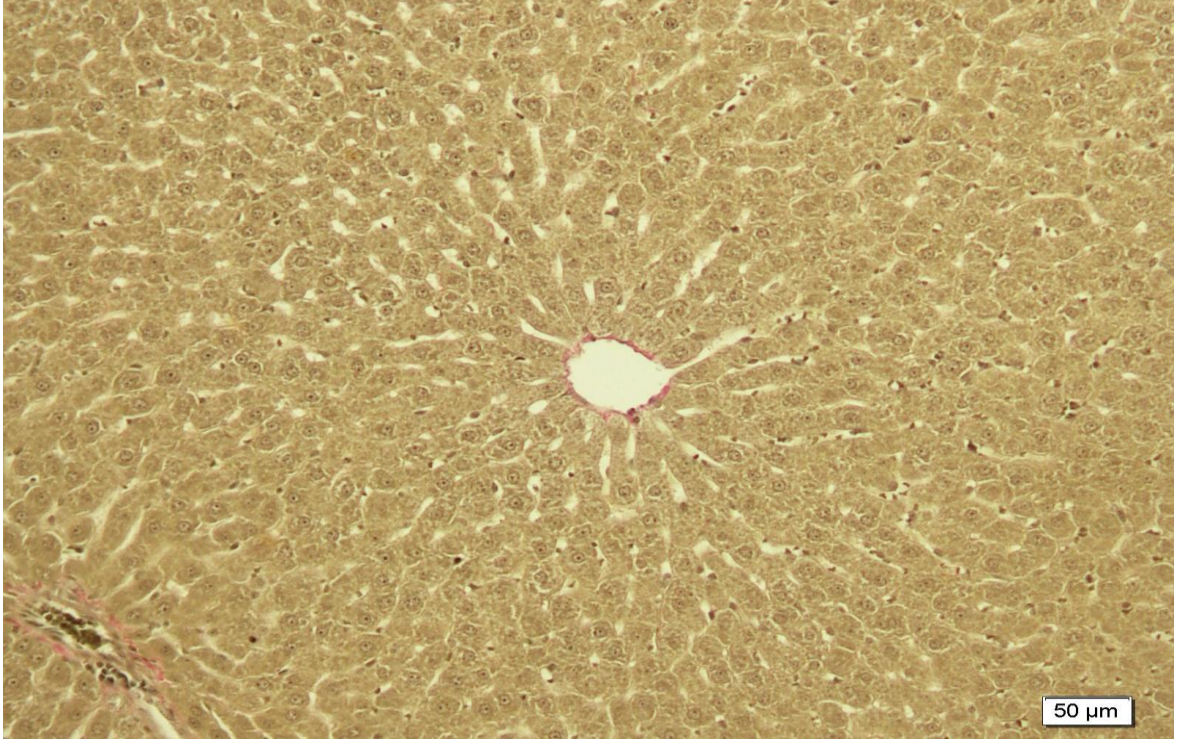


Şekil 4.3. Kontrol grubu karaciğer dokusu genel görünümü (PAS)

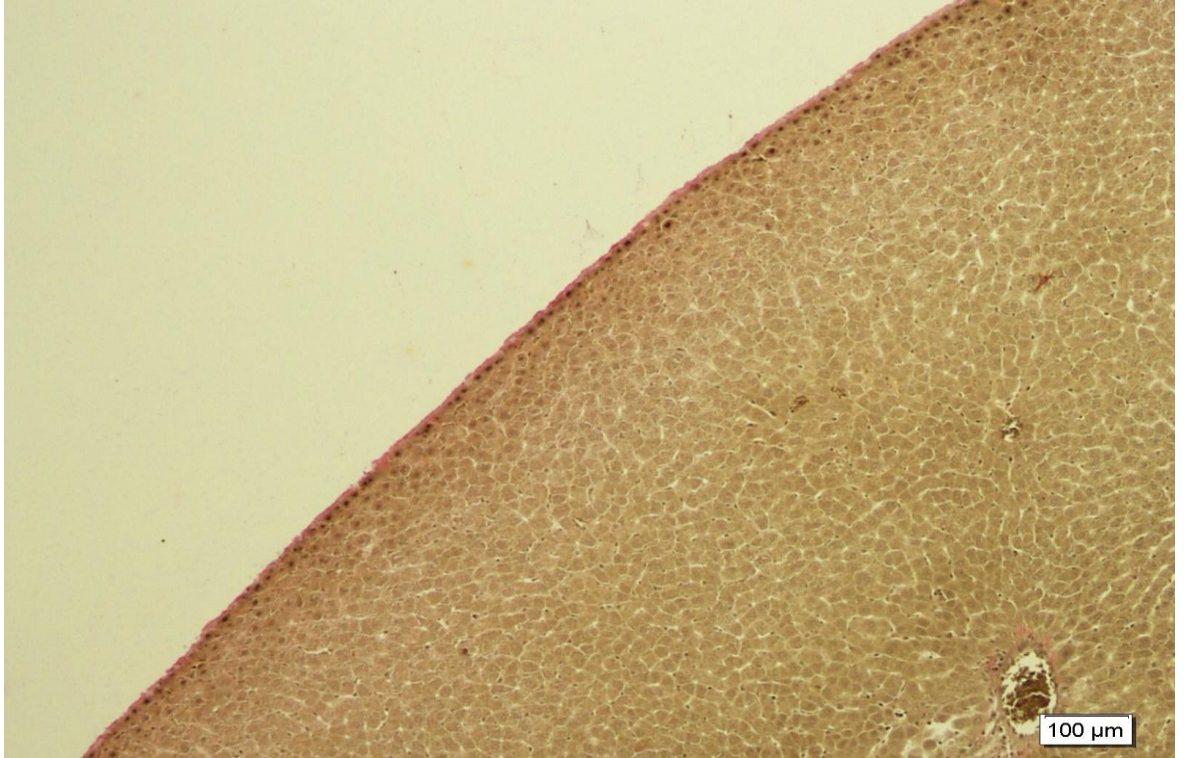


Şekil 4.4. Kontrol grubu karaciğer dokusu (PAS)

Elastik lif boyası ile boyanan kontrol grubu karaciğer dokularında santral ven, portal alanlar ve Glisson kapsülündeki kollajen fibrillerin pembe-kırmızı renkte boyandığı görüldü (Şekil 4.5 ve 4.6).



Şekil 4.5. Normal karaciğer dokusu genel görünüm (Elastik lif boyama).



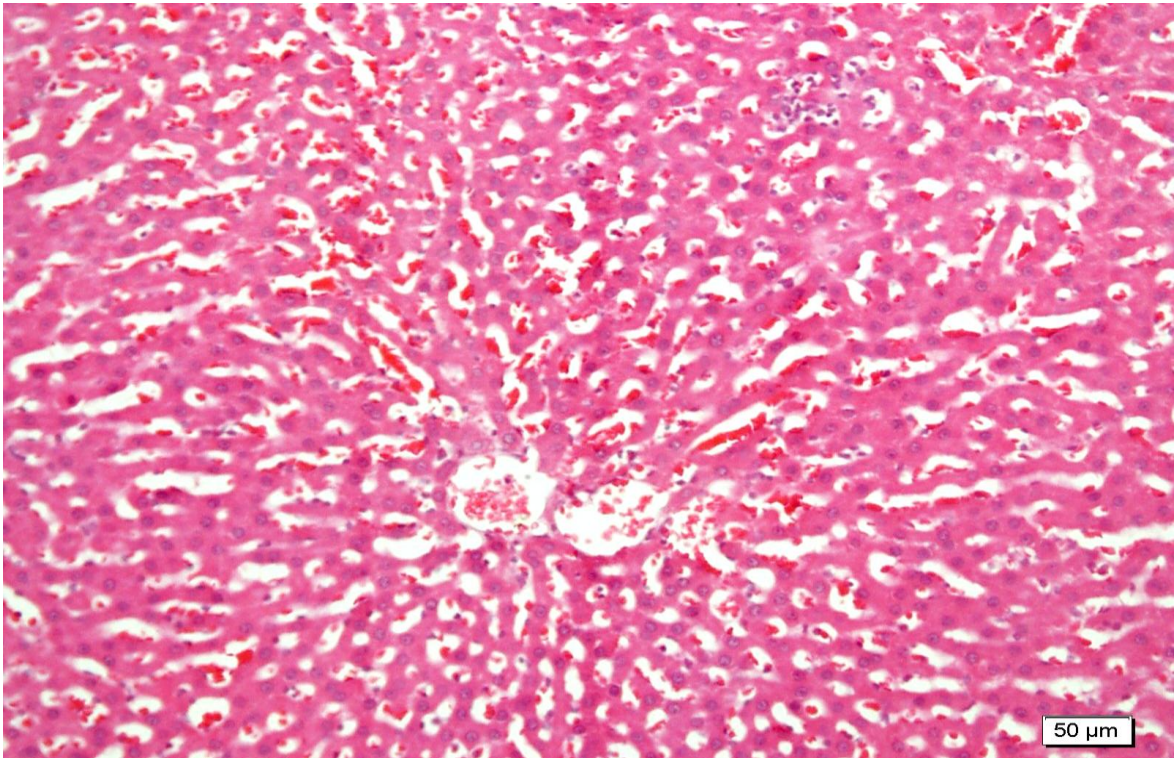
Şekil 4.6. Glisson kapsülünün Elastik lif boyası ile boyanması

II. Grup (Siklosporin grubu) bulguları;

Siklosporin uygulanan II. grubun genel doku yapısı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında histopatolojik değişiklikler olduğu görüldü. Bu bulguların istatistiksel olarak da anlamlıydı.

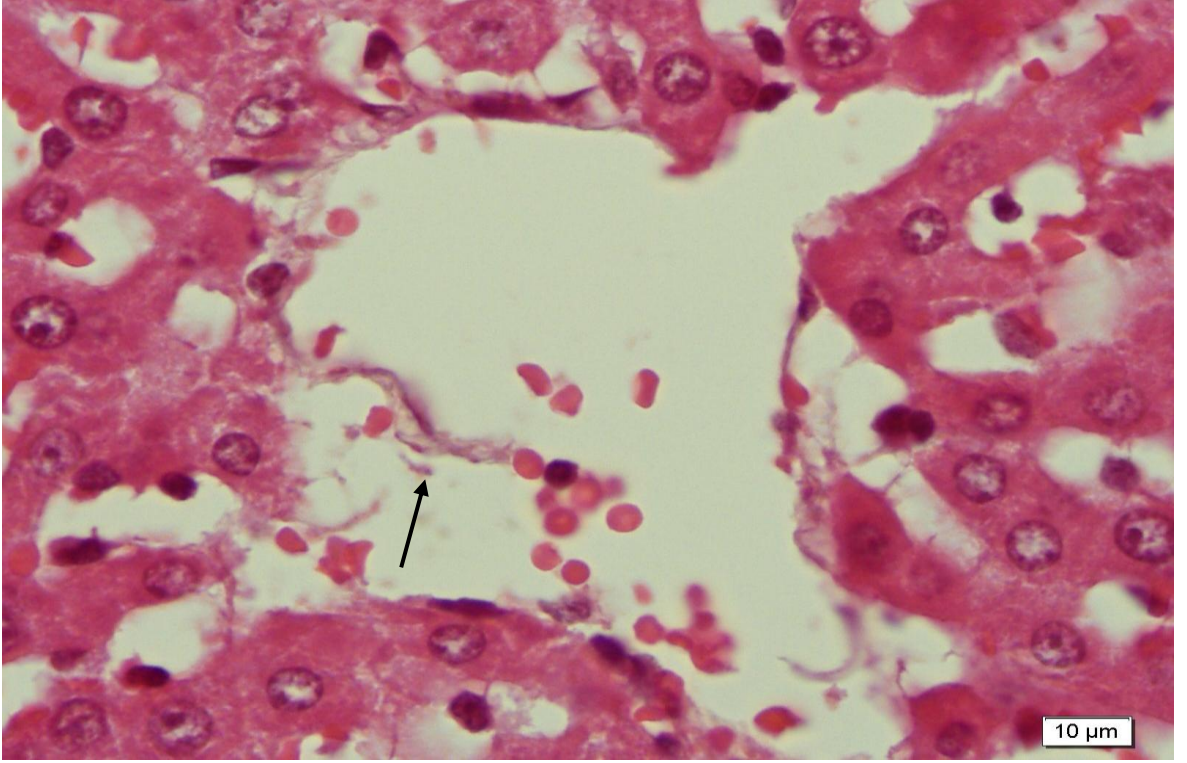
Dokunun genel yapısı incelendiğinde santral venden portal alanlara doğru uzanan hepatosit kordonlarının yapısında düzensizlik fark ediliyordu. Bazı bölgelerde hepatosit hücrelerinin ortadan kalktığı ve kordon yapısında bir organizasyon bozukluğu olduğu gözlemlendi (Şekil 4.7).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, hepatositler arasında yerleşen sinüzoid lümeninde genişlemeler olduğu gözlemlendi. Genişleyen sinüzoid lümeninde bazı bölgelerde yoğun olmak üzere kanama olduğu görüldü. Portal alanlar ve sinüzoid lümenlerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu gözlemlendi. Lobülün bazı bölgelerinde inflamatuvar hücre gruplarının olduğu görüldü. Hepatosit hücre sitoplazmalarının boyanması da farklılık göstermekteydi. Bazı hepatosit sitoplazmaların daha yoğun boyandığı görülmektedir.(Şekil 4.7).

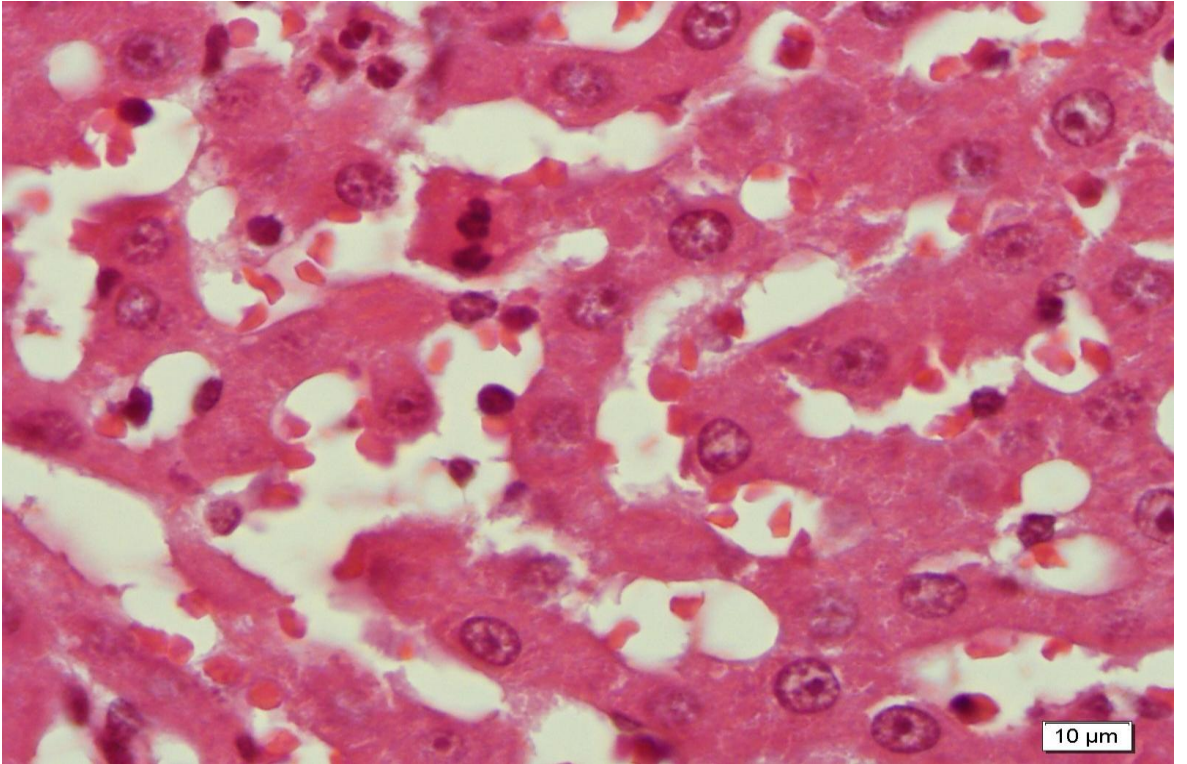


Şekil 4.7. Siklosporin grubu karaciğer genel görünümü (HE)

Santral ven endotelinde parçalanma olduğu görüldü (ok Şekil 4.8). Endoteli hasarlı santral venlerde inflamatuvar hücre ve kanama bulguları da görüldü (Şekil 4.8).



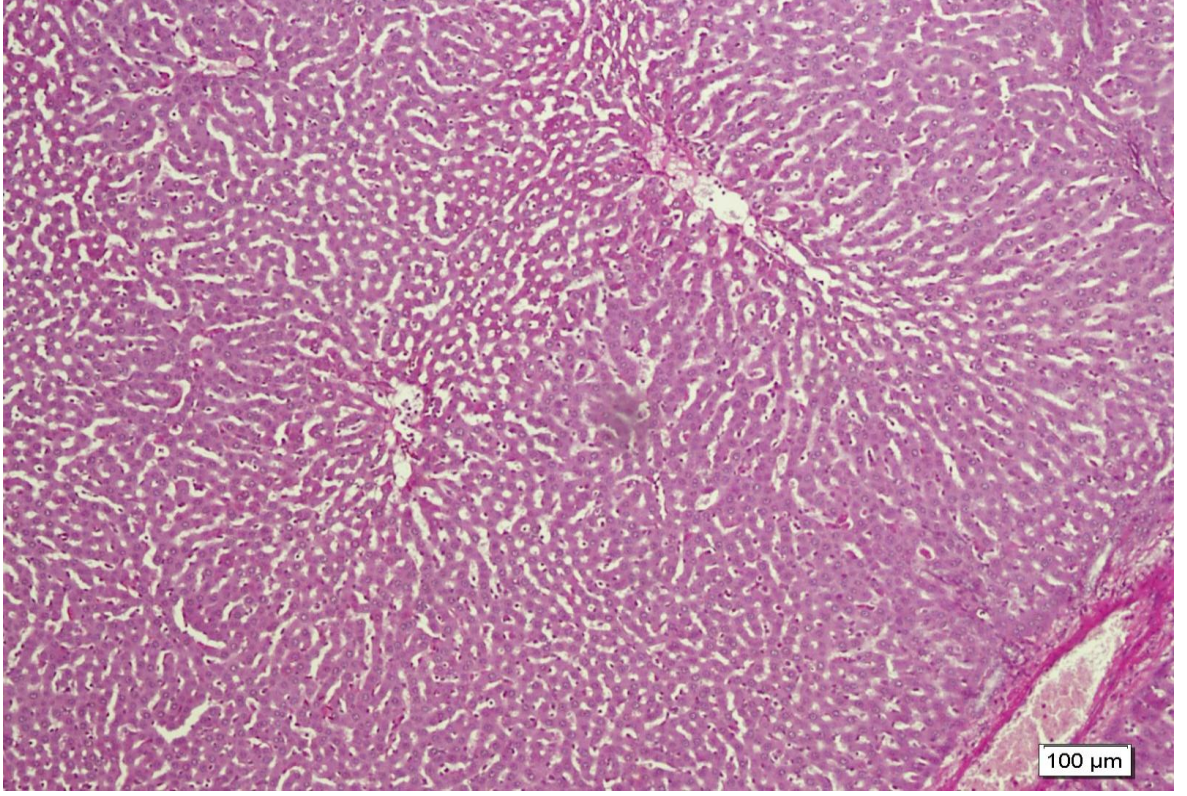
Şekil 4.8. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusu. hasarlı santral ven (HE)



Şekil 4.9. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusu. Hepatosit kordonlarındaki dağılmalar (HE)

PAS ile boyanan preparatlarda glikojen dağılımında kontrol grubuna göre bir farklılık görülmedi. HE ile boyanmış preparatlardaki histopatolojik bulgular teyit edildi.

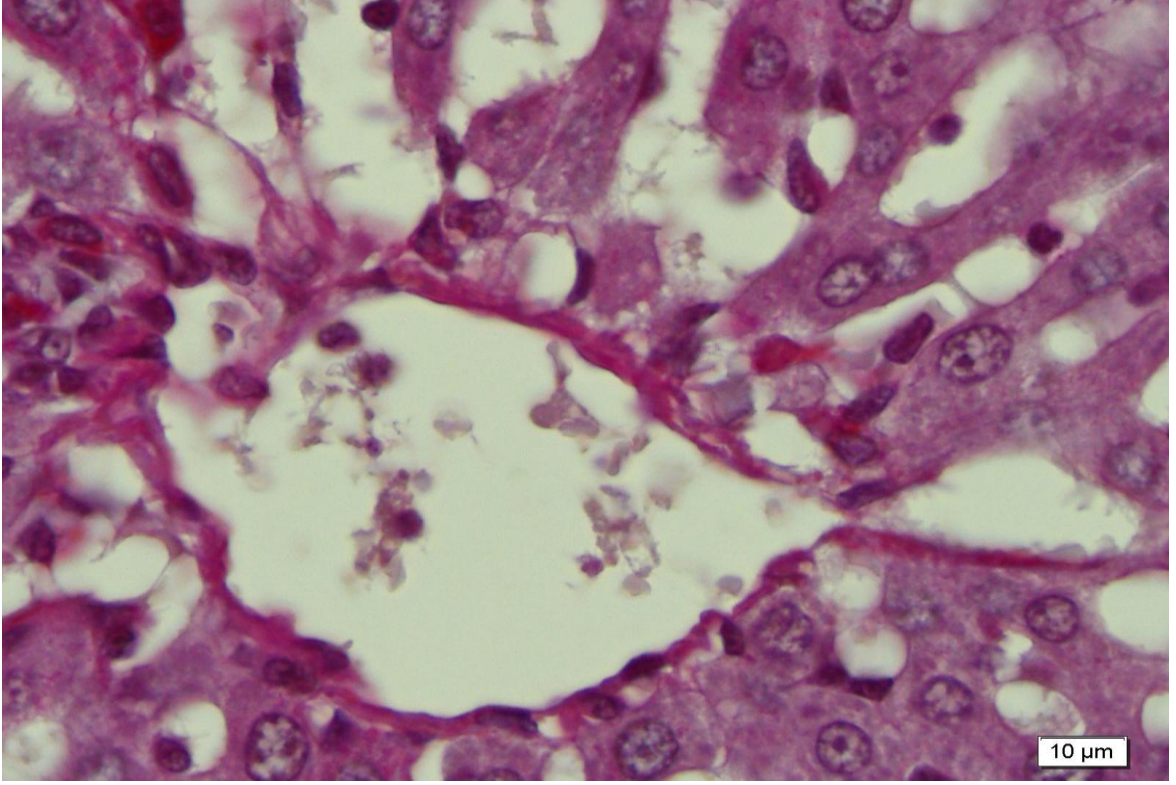
Bazal membranlar PAS ile daha iyi boyandığı için bozulan hepatosit kordonları ve genişleyen sinüzoidler daha net gözlemlendi



Şekil 4.10. Siklosporin grubu genel görünüm (PAS)

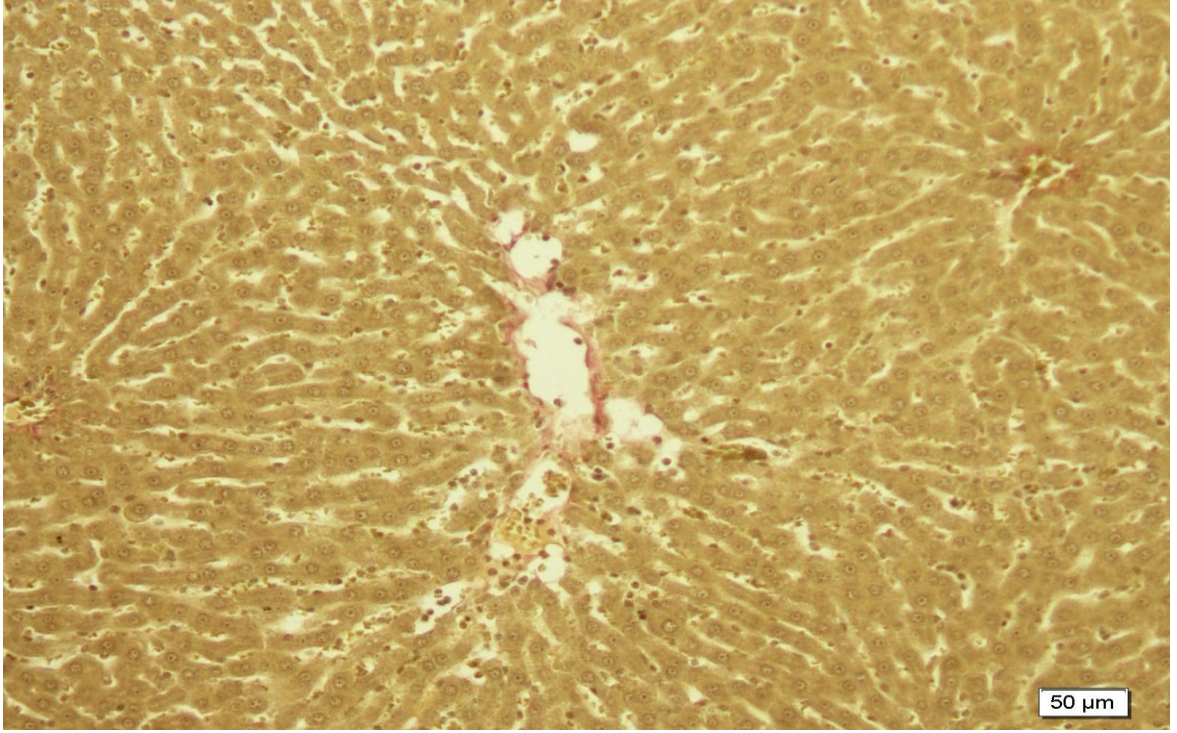
Santral ven ve portal alanlarda daha yoğun bir boyanma siklosporin uygulanan grupta da görülmekteydi. Sinüzoid boşluklarındaki eritrositler ve inflamatuvar hücreler bu genel görüntüde tanecikler şeklinde görülmektedir.

Daha küçük ölçekli mikrofotograflarda hepatosit kordonlarının santral vene kadar ulaşamadıkları ve kordon yapısının bozulduğu görülmektedir.

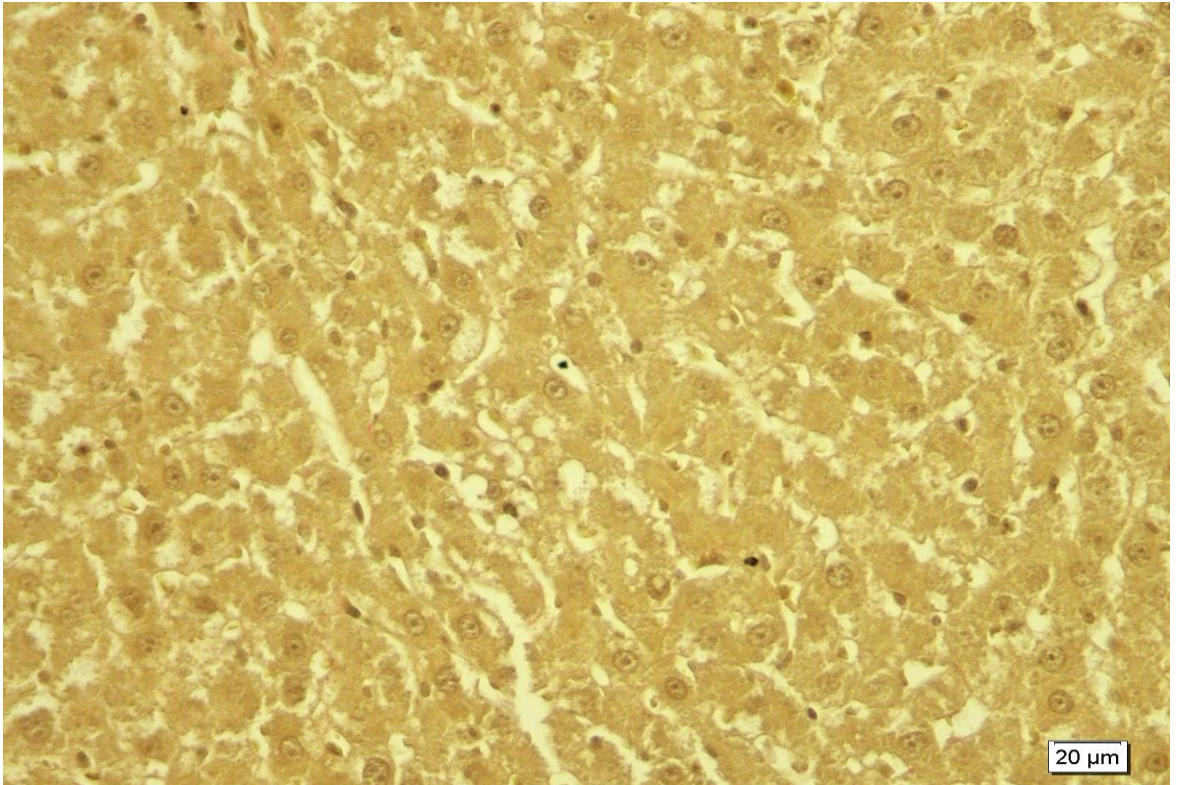


Şekil 4.11. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusunda santral ven ve kopan hepatosit kordonları (PAS)

Elastik lif boyası ile boyanan preparatlarda özellikle santral ven endotelinde meydana gelen hasar daha belirgindi. Özellikle hepatosit sitoplazmalarında meydana gelen vakuolizasyon ve dejenerasyonun daha belirgin olduğu görüldü (Şekil 4.12 ve 4.13).



Şekil 4.12. Siklosporin grubuna ait karaciğer dokusunda hasarlı endotel (Elastik lif boyama)



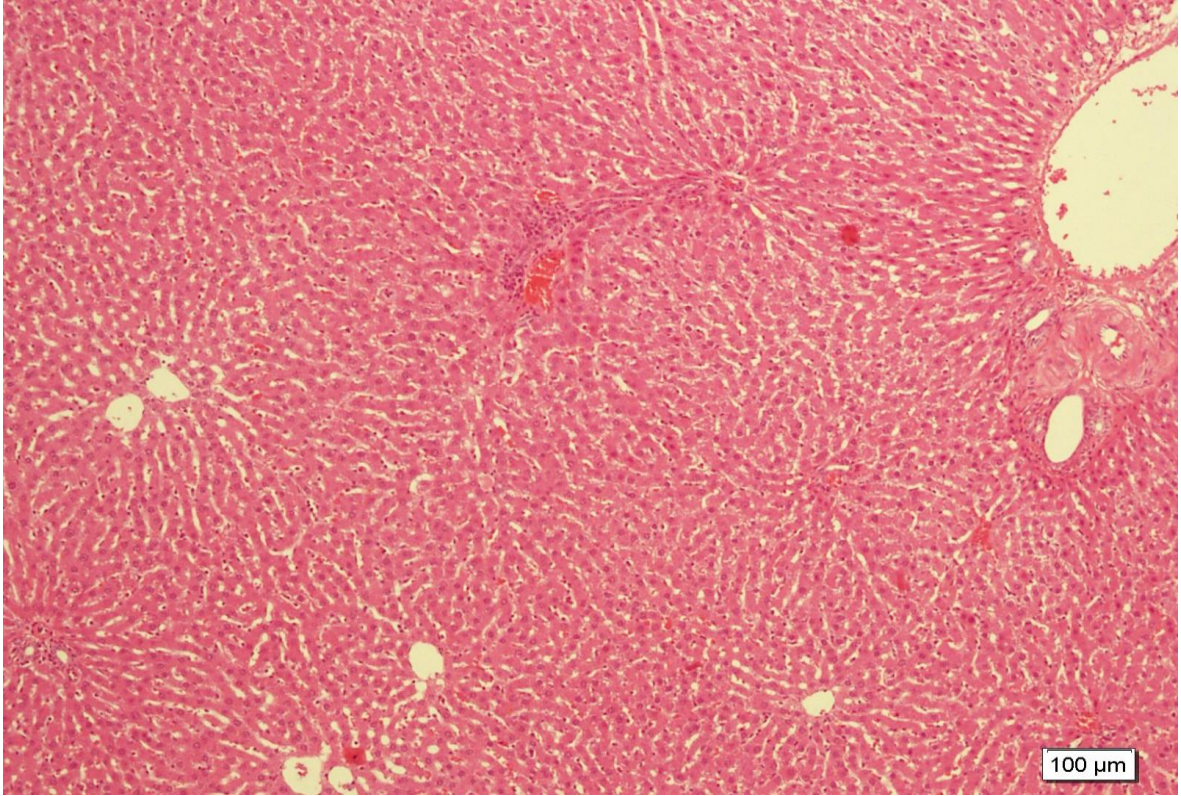
Şekil 4.13. Siklosporin grubuna ait karaciğer. Hepatosit sitoplazmalarında vakuolizasyonlar. (Elastik lif boyama)

III. Grup (Siklosporin+Erdostein grubu) bulguları;

HE ile boyanan III. grup preparatlarında genel doku yapısı incelendiğinde bazı Histopatolojik bulgulara rastlandı. III. grupta meydana gelen dejenerasyonların II. gruba göre daha hafif seyrettiği görüldü.

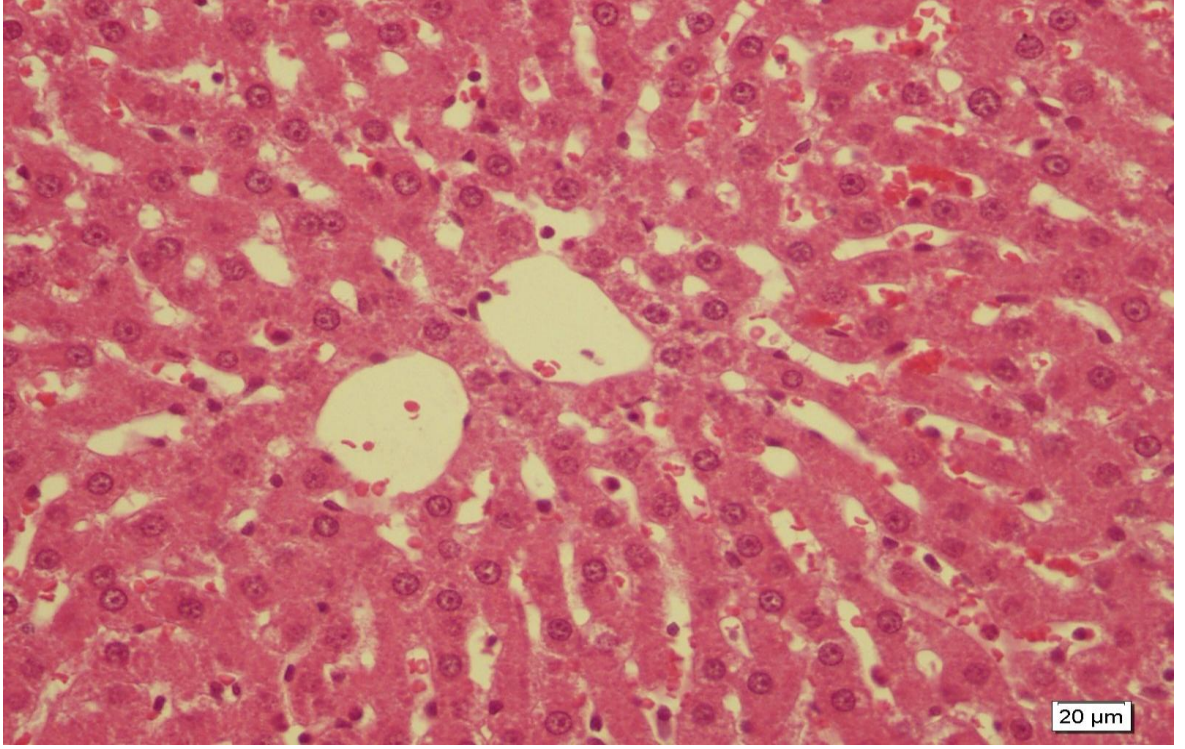
HE ile boyanan preparatlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hepatositlerde daha soluk bir boyanma göze çarpıyordu. Ayrıca sadece siklosporin uygulanan II. gruptaki sinüzoidlerde genişleme, kanama, inflamatuvar hücre inflamasyonu ve hepatosit hücre sitoplazmalarında vakuolizasyon bulguları bu grupta da izlenilmesine rağmen, daha hafif seyrettiği görüldü.

Genel doku yapısı incelendiğinde III. grubun normal yapıya daha yakın bir görünüm sergilediği görüldü.



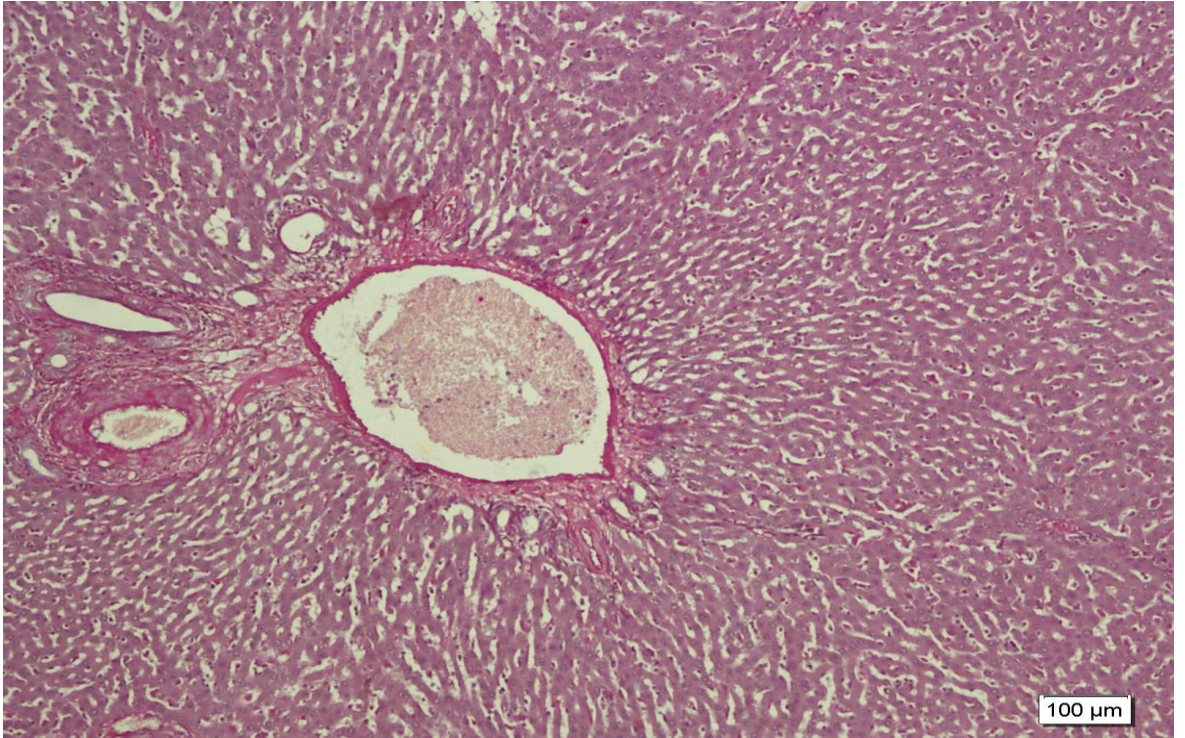
Şekil 4.14. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (HE)

Daha küçük ölçekli mikrofotograflar incelendiğinde kanama ve hepatosit kordonlarındaki organizasyon bozukluğunun daha az oranda olduğu görüldü.

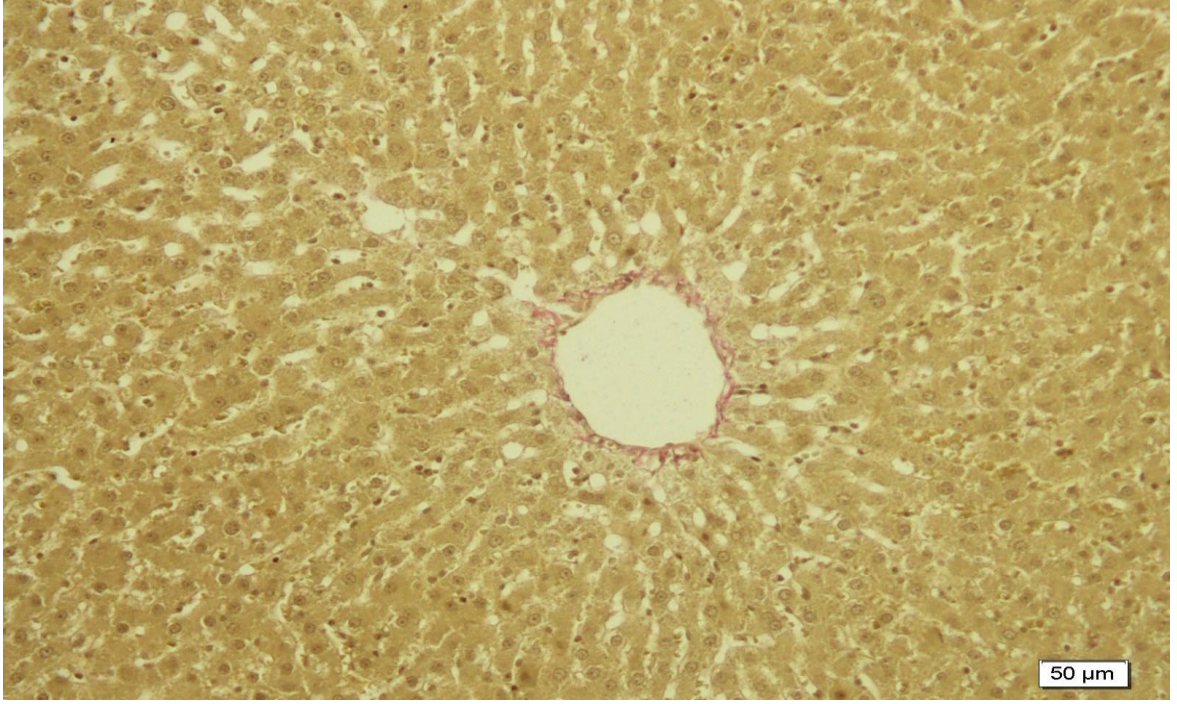


Şekil 4.15. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (HE)

PAS ile boyanan preparatlarda glikojen dağılımında bir farklılık görülmedi. Histopatolojik bulgular teyit edildi. Genel doku yapısındaki iyileşme PAS boyama da belirgindi (Şekil 4.16).

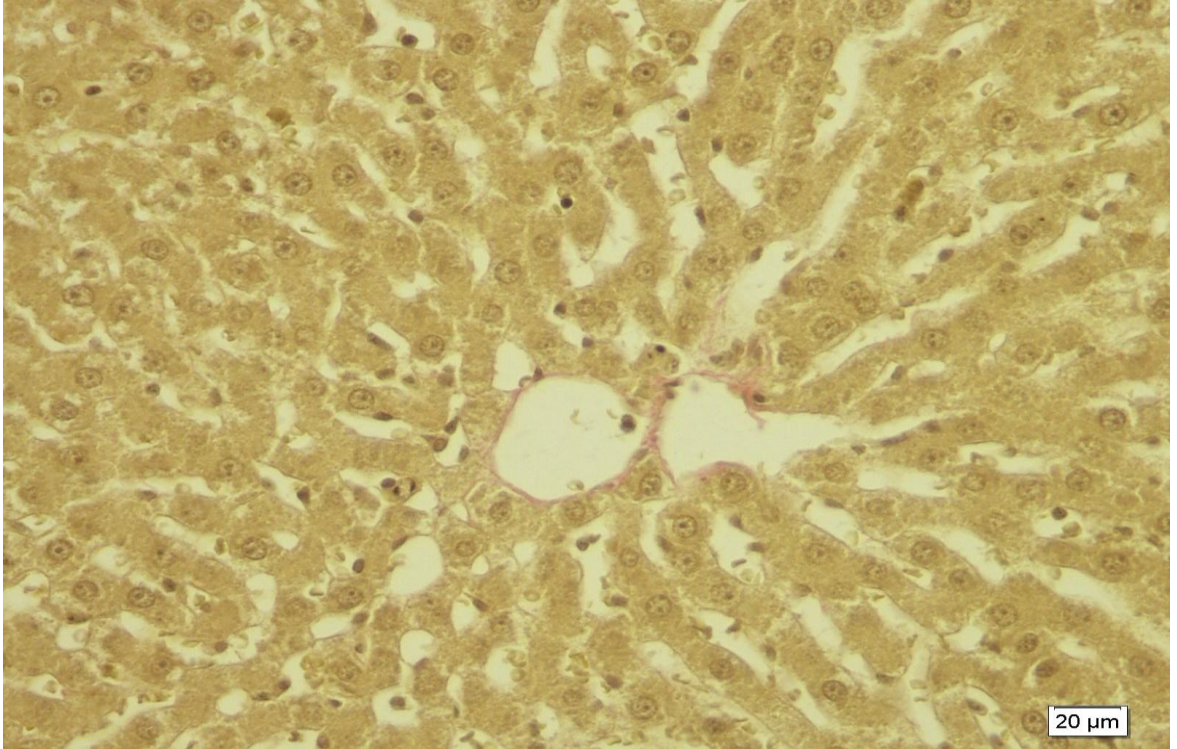


Şekil 4.16. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun genel doku yapısı (PAS)



Şekil 4.17. CsA ve erdosteine uygulanan grupta karaciğer dokusu. Endotel hasarının azalması. (Elastik lif boyama)

Doku yapısındaki iyileşme Elastik lif boyası ile boyanan preparatlarda da belirgindi. Özellikle santral ven endotellerinde hasarın azaldığı gözlemlendi. Hepatosit hücre sitoplazmalarında vakuolizasyon oluşumu bu grupta da belirgindi (Şekil 4.17 ve 4.18).

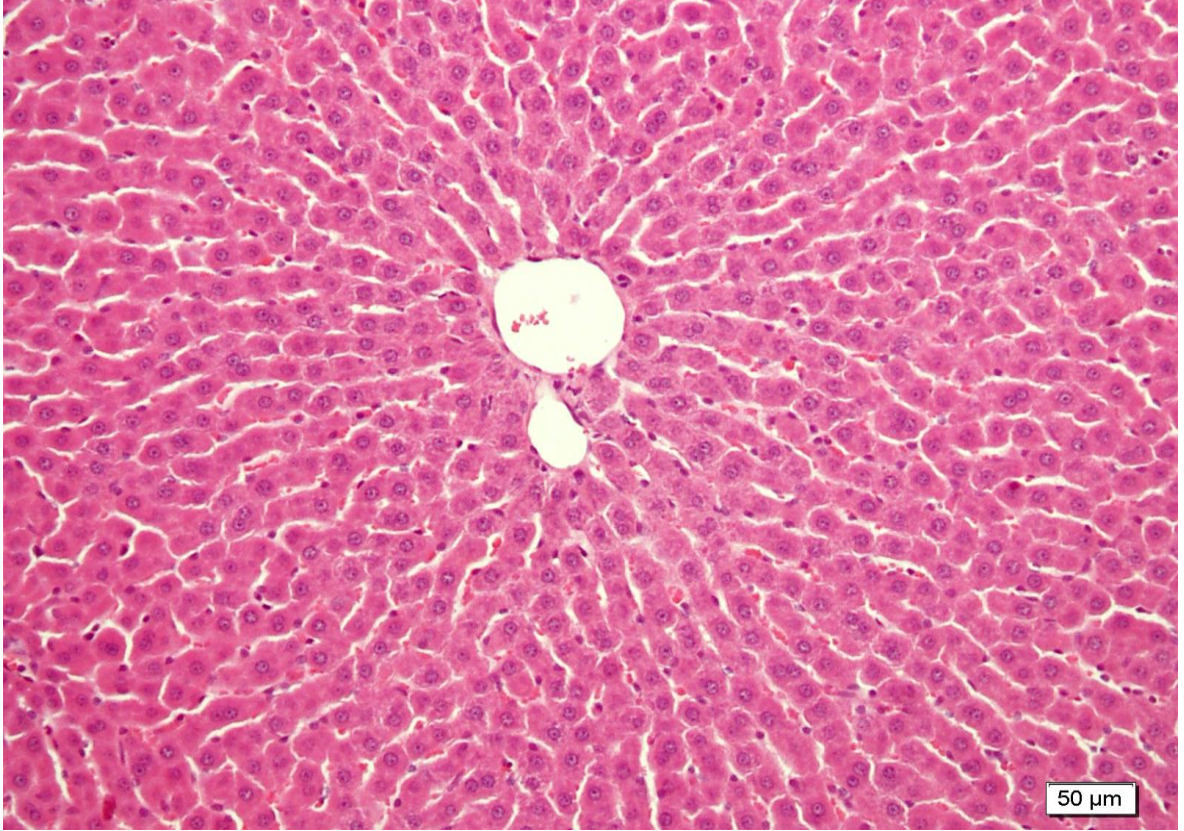


Şekil 4.18. CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grubun karaciğer dokusu (Elastik lif boyama)

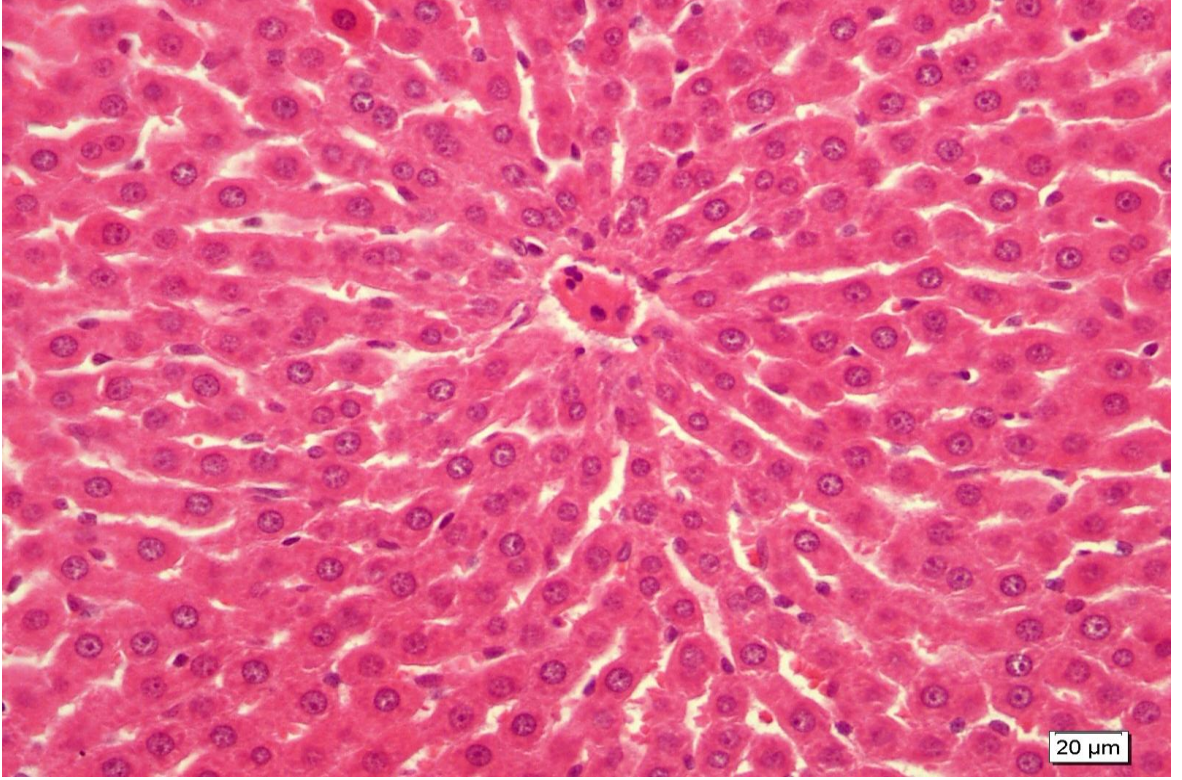
IV. Grup (Erdostein grubu) bulguları;

Sadece Erdostein uygulaması yapılan IV. grupta karaciğer dokusunun genel yapısının normal olduğu ve Erdosteinin dokuda bir hasara yol açmadığı görüldü.

HE ile boyanan preparatlarda hepatosit kordonlarının düzenli seyrettiği, sinüzoid lüminde kontrol grubuna göre bir farklılık olmadığı gözlemlendi.

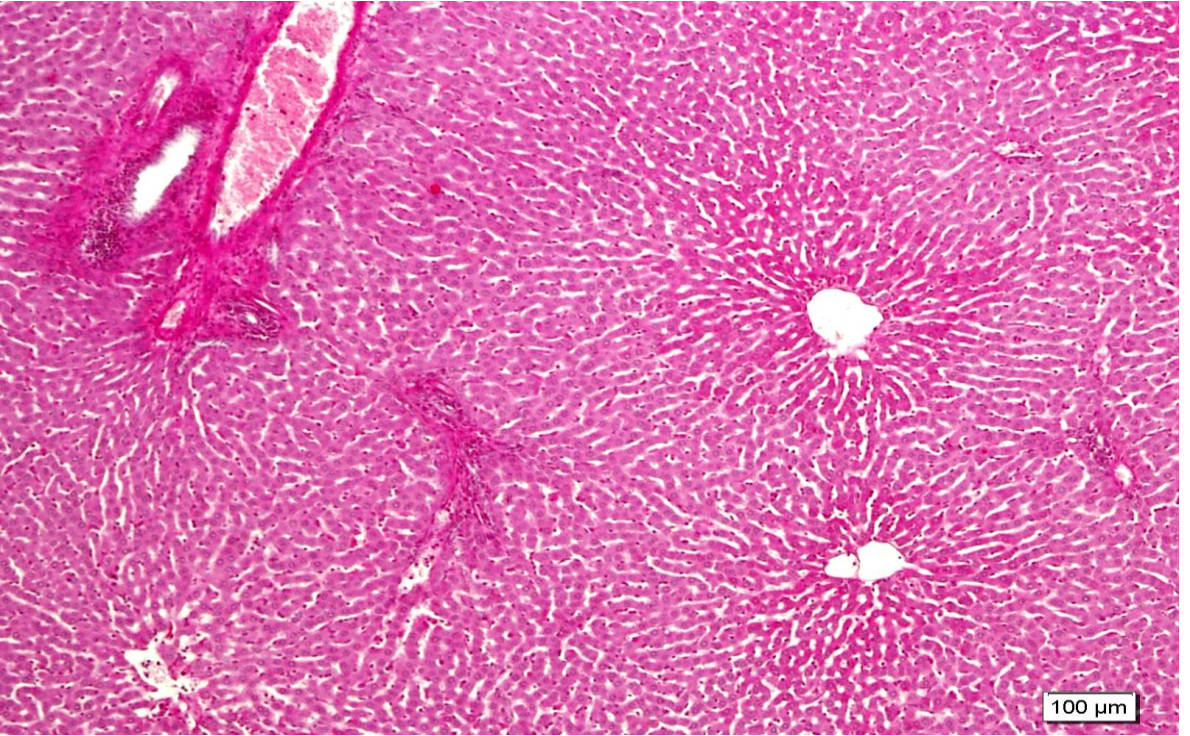


Şekil 4.19. Erdostein uygulaması yapılan grubun karaciğer dokusu genel görünümü (HE)

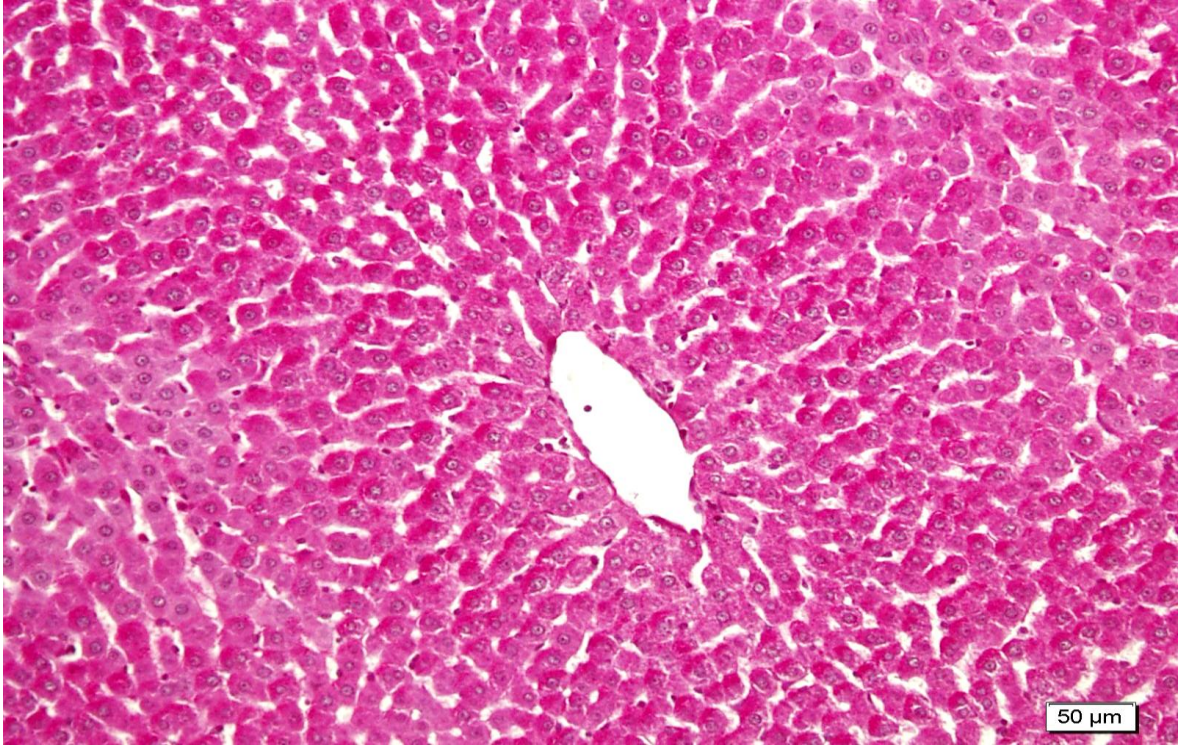


Şekil 4.20. Sadece erdostein uygulanan grubun karaciğer dokusu (HE)

PAS ile boyanan preparatlarda hepatosit sitoplazmalarında kontrol grubuna göre daha yoğun glikojen depolandığı görüldü (Şekil 4.21).

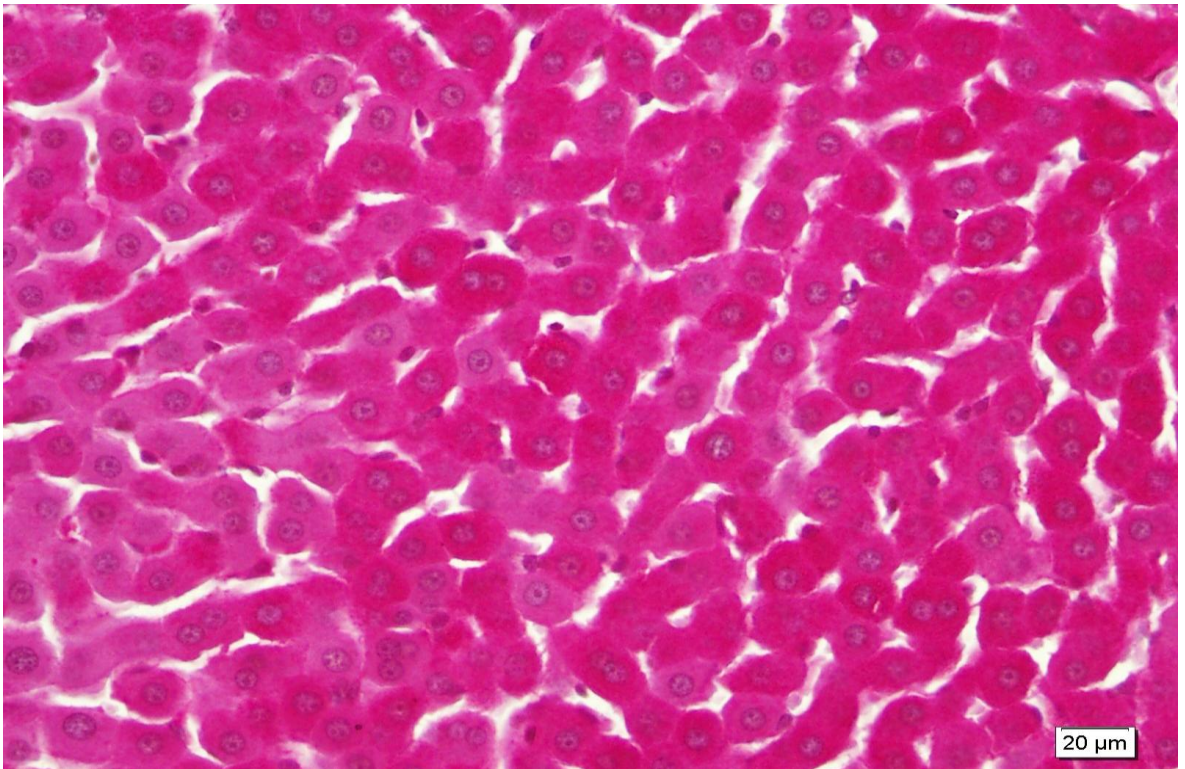


Şekil 4.21. Sadece erdostein uygulanan grubun karaciğer dokusu (PAS)



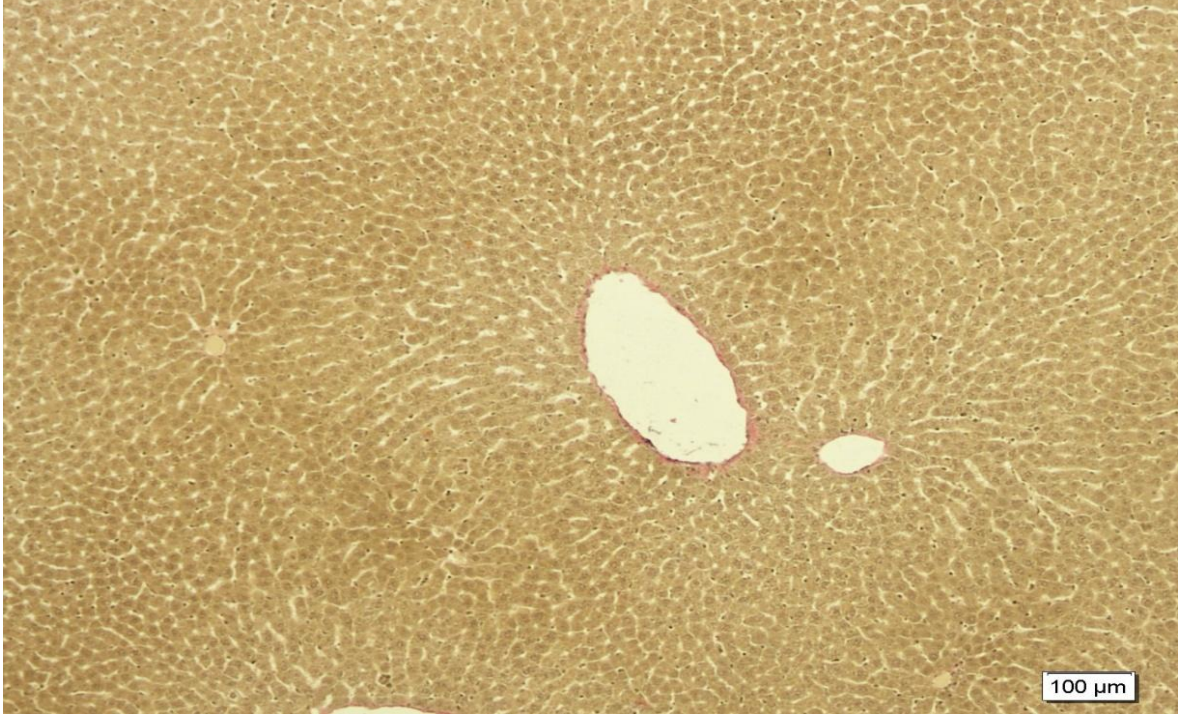
Şekil 4.22. Sadece erdostein uygulanan grubun karaciğer dokusu (PAS)

Kontrol grubunun PAS boyamalarına benzer şekilde portal alan ve santral ven etrafındaki hepatosit sitoplazmalarının daha yoğun boyandığı görüldü (Şekil 4.22 ve 4.23).

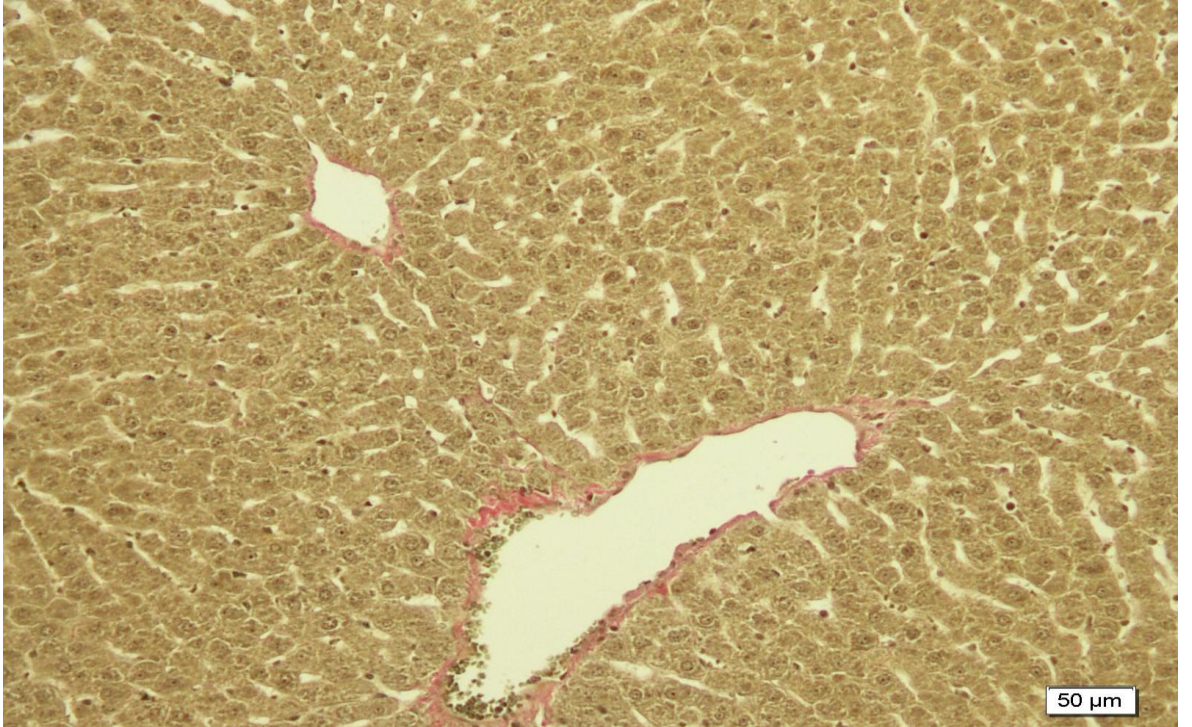


Şekil 4.23. PAS ile yoğun boyanan hepatositler

Elastik lif boyası ile boyanan preperatlarda dokunun görünümü normaldi. Sanrtal ven ve portal alanlardaki endotelde bir değişiklik olmadığı ve hepatositlerin normal olduğu görüldü (Şekil 4.24 ve 4.25).



Şekil 4.24. Erdostein uygulanan grupta Elastik lif boyama genel görünüm



Şekil 4.25. Erdostein uygulanan grupta Elastik lif boyama genel görünüm

Histolojik olarak mikrofotografılarla CsA'nın hepatotoksik etkisi ve erdosteinin hasarı önemli ölçüde engellemesi istatistiksel verilerimizle de desteklenmiştir. Histopatolojik bulguların gruplar arasında karşılaştırılması ve önem değerleri Çizelge 4.1. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Histopatolojik bulguların skorlarının gruplar arasında karşılaştırılması

Gruplar	Sinüzoidal Genişleme	Hepatositlerde Vakuolizasyon	Kanama	İnflamatuvar Hücre Varlığı
1.Kontrol grubu	0	0	0	0
2.Siklosporin grubu	2.79±0.43	1.24±0.66	2.58±0.47	2.41±0.53
3.Siklosporin+Erdostein grubu	1.40±0.68	0.88±0.52	1.33±0.62	1.23±0.55
4.Erdostein grubu	0	0	0	0
p değerleri				
1-2	,000*	,000*	,000*	,000*
1-3	,000*	,000*	,000*	,000*
1-4	1,000	1,000	1,000	1,000
2-3	,000*	,000*	,000*	,000*
2-4	,000*	,000*	,000*	,000*
3-4	,000*	,000*	,000*	,000*

*p < 0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

Çizelge 4.1.'deki p değerleri tablosu incelendiğinde, kontrol grubu ve erdostein grubu arasında anlamlı bir farkın olmadığı görülmektedir (p=1,00).

Kontrol grubu siklosporin grubuyla karşılaştırıldığında bütün histopatolojik bulgular bakımından aralarında anlamlı bir fark olduğu görülmektedir (p=0,00 * p< 0,05)

Siklosporin ve siklosporin+erdostein grubu karşılaştırıldığında tüm histopatolojik bulgular bakımından neredeyse %50'lik bir azalma söz konusudur. Bu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,00 *p<0,05).

5. TARTIŞMA

Siklosporin A (CsA), 1980' li yıllardan itibaren pek çok immünolojik hastalıkta ve organ nakillerinde red reaksiyonlarının önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Diepering ve ark. 1983, Borel ve ark. 1996). Fungal bir siklik peptit olan bu ajan, güçlü bir immün baskılayıcıdır (Bianchi ve ark. 2003, Margreiter ve ark. 1983).

CsA'nın kullanımı, transplantasyon hastalarında yaşam kalitesi ve süresini artırmıştır. Fakat ortaya çıkan önemli yan etkiler kullanımını kısıtlamaktadır (Calne ve ark. 1978). Bunlar; nefrotoksisite (Andoh ve ark. 1997, De Mattos ve ark. 2000, Rezzani 2004), kardiyotoksisite (Laczkovics ve ark. 1987, Miller 2002, Rezzani ve ark. 2003), hipertansiyon (Bennet 1988, Textor ve ark. 1994) ve hepatotoksisitedir (Actis ve ark. 1995, Zhong ve ark. 2001). Bunlardan hepatotoksisite en endişe verici yan etkisidir (Rezzani 2004).

CsA'nın dokularda oluşturduğu hasarın mekanizması tam olarak anlaşılamamakla birlikte, elde edilen bulgular ROS (reaktif oksijen türleri)'u artırarak oksidatif hasara neden olduğunu göstermektedir (Amuda ve ark. 2007, Bianchi ve ark. 2003). Lipofilik bir yapıya sahip olan CsA'nın, hücre zarına kolayca bağlandığı ve membranda lipit peroksidasyonunu indükleyerek serbest radikal oluşumuna neden olduğu in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Wang ve Salahudeen 1995, Wolf ve ark. 1997, Durak ve ark. 2004).

Artan serbest radikaller fosfolipit, glikolipit ve giserid gibi intraselüler moleküllerle reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu artırır. Membran yağ asitlerinin hasarını artırarak iyon gradiyentini bozar ve membran geçirgenliğini artırır. Dolayısıyla membran fonksiyonları ve metabolik süreçleri bozar. ROS sentezindeki bu artış, geri dönüşümsüz hücre hasarına neden olabilir (Yagi 1980).

ROS fazla üretildiğinde antioksidan enzimlerce detoksifiye edilemez. Bununla beraber antioksidan tedavi, endojen antioksidanların detoksifiye edemediği ROS'nin toksik etkisini engeller (Lee ve ark. 2010). Eğer oksidatif stres antioksidan mekanizmalar tarafından karşılanamazsa lipit peroksidasyonu başlar (Greene ve Paller 1991).

Selcoki ve ark. (2007) ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada, günde 15 mg/kg dozunda, 21 gün süreyle CsA uyguladıkları kalp dokusunda önemli histopatolojik

değişiklikler olduğunu göstermişlerdir. CsA uygulanan kalp dokusunda inflamatuvar hücre arştı, kalp kaslarında organizasyon bozukluğu ve fibrozis oluşumu bulgularına rastlamışlardır.

Salem ve ark. (2010) yaptıkları deneysel çalışmada CsA'nın böbrek dokusunda hasara neden olduğunu göstermişlerdir. 25 mg/kg dozunda, 21 gün süreyle CsA uyguladıkları ratların böbrek kortekslerinde kanama ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğunu, ayrıca böbrek tübüllerinde yoğun lökosit birikimi olduğu histolojik olarak gösterilmiştir.

Nacar ve ark. (2006) CsA tedavisi uygulanan böbrek nakli hastalarından alınan biyopsi örnekleri üzerinde yaptıkları elektron mikroskopik incelemelerde; glomerül kapillerindeki endotel hücrelerinde şişme ve fenestra kaybı, dev mitokondri oluşumu bulgularını elde etmişlerdir. Ayrıca podosit hücrelerinde vakuolizasyon, lipit damlacıklarının oluşumu ve podosit hücre ayaklarında hasar oluştuğunu göstermişlerdir.

Yukarıda verilen deneysel çalışmalarda da görüldüğü gibi CsA, çeşitli dokularda toksik etkiye neden olabilmektedir. Oluşturduğu hasar; organa, dozaja ve kullanma süresine bağlı olarak değişmektedir.

Karaciğer canlılık için önemli fonksiyonları yerine getiren, kanın kompozisyonunu ayarlayan en önemli organdır (Aktümsek 2006). 500'den fazla endokrin ve ekzokrin fonksiyona sahip olan karaciğer günümüzde en çok araştırılan organlardan birisidir (Altunkaynak 2006). Bizim çalışmamız da karaciğerde immün baskılayıcı bir ajan olan CsA'nın oluşturduğu hasar ve antioksidan özelliğe sahip erdosteinin bu hasara karşı etkisini histolojik olarak göstermek amacıyla planlanmış deneysel bir çalışmadır.

Yapılan deneysel çalışmalarda CsA'nın karaciğer dokusunda hasara neden olduğu görülmüştür. CsA uygulanan hayvanların karaciğer dokularında; hepatositlerde şişme, vakuolizasyon ve hücre kaybı, sinüzoidlerde genişleme, hepatosit kordonlarında dağılmalar, kanamalar ve inflamatuvar hücre bulgularına rastlanmıştır (Kuruş ve ark. 2008, Durak ve ark. 2004, Rezzani ve ark. 2005, Pari ve Sivasankari 2008, Kaya ve ark. 2008).

Deneysel araştırmalar incelendiğinde karaciğerde oluşturulan toksik etkiyi önlemek için antioksidan uygulaması yapıldığı görülmektedir (Kuvandık ve ark. 2008, Yağmurca ve ark. 2007).

Kuruş ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada CsA'nın karaciğerde toksik etkisi olduğunu göstermiştir. 28 gün boyunca 10 mg/kg/gün dozunda CsA uygulanan grupların

karaciğer dokularında sinüzoidlerde genişleme, hepatosit hücre sitoplazmalarında vakuolizasyon ve hücre kaybı bulgularını elde etmişlerdir. Bizim çalışmamıza göre daha kronik bir hasar oluşturulan bu çalışmada hepatosit kaybı daha yüksektir. Hepatosit hücrelerinin çoğunun sitoplazmasında asidofilik cisimler ve vakuolizasyon oluşumu tespit edilmiştir. CsA ile birlikte Melatonin (4 mg/kg/gün) uygulanan grupta ise bu hasarın azaldığı yönünde bulgular elde edilmiştir.

Rezzani ve ark. (2005) 30 gün süreyle 15 mg/kg/gün dozda uyguladıkları CsA'nın rat karaciğerinde histopatolojik değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamıza göre daha kronik bir hasar oluşturulmuştur. CsA uygulanan grubun karaciğer dokusunda yapılan histolojik incelemede; hepatosit kordonlarında organizasyon bozukluğu, hepatositlerde yaygın olarak şişme ve sinüzoidlerde kanama bulguları tespit edilmiştir. Çalışmamızla benzerlik gösteren bulgular, 1 mg/kg/gün melatonin tedavisi ve CsA'nın beraber uygulandığı grupta daha hafif seyretmiştir.

Josephine ve ark. (2008) ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada 25 mg/kg/gün dozunda 21 gün süreyle CsA uygulanan grubun karaciğer dokusunda; portal triadların çevresinde belirgin bir inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca hepatosit sitoplazmalarında düzensiz yağ mikrovezikülleri olduğu bulgusu gözlemlenmiştir. Bu bulgular bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla paralellik arz etmektedir. Fakat bizim elde ettiğimiz kanama ve sinüzodial genişleme bulguları bu çalışmada elde edilmemiştir.

Pari ve ark. (2008) 25 mg/kg/gün dozda, 21 gün süreyle CsA uyguladıkları ratların karaciğer dokularında hepatosit hücrelerinde hasar oluşumu ve sinüzoidlerde genişleme gibi histopatolojik bulgulara elde etmişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla benzer bu histopatolojik değişiklikler Ellajik asit (EA) kullanılarak tedavi uygulanmıştır. Ve tedavi uygulanan grubun doku yapısının normale daha yakın olduğu ve hasarın azaldığı gözlemlenmiştir.

Kaya ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada 15 mg/kg/gün dozunda, 10 gün süreyle CsA uyguladıkları ratların karaciğer dokusunda özellikle portal alanlarda eozinofilik hücre infiltrasyonunda artış ve yaygın olarak hepatositlerde şişme gözlemlenmişlerdir. Ayrıca santral ven çevresindeki hepatositlerde nekroz ve sinüzoidler boyunca mononükleer hücre infiltrasyonu bulguları gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamız ile benzer histopatolojik bulguların elde edildiği bu çalışmada hasar, N- asetilsistein (NAC) ile tedavi edilmiştir.

CsA ve NAC'in beraber uygulandığı grupta histopatolojik değişikliklerin azaldığı görülmüştür.

Kurus ve ark. (2008) ratlar üzerinde, 7,5 mg/kg/gün dozunda 28 gün süreyle CsA uygulanan karaciğer dokularında histopatolojik bulgular elde etmişlerdir. CsA uygulanan ratların karaciğer dokularında hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon ve sinüzoidlerde belirgin bir genişleme olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca portal alan etrafında nötrofil ağırlıklı bir hücre infiltrasyonu bulgularına rastlanmıştır. CsA uygulanan ve içme sularına 2 g/lt/gün L- arjinin eklenen grubun karaciğer dokularında ise sinüzodial genişleme, hepatositlerde vakuolizasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu bulgularının azaldığı görülmüştür.

Yapılan deneysel çalışmalarda da görüldüğü gibi CsA, karaciğerde hepatotoksik etki etkiye neden olan bir ajandır. Karaciğerde oluşturduğu hasar; uygulamanın dozajına ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Hepatosit hücrelerinin sitoplazmalarında vakuol oluşumu, hepatosit kordonlarının bozulması, hepatosit kaybı ve sinüzoidlerde genişleme gibi histopatolojik bulguların çalışmalarda genellikle ortak olduğu görülmüştür. Fakat bizim elde ettiğimiz kanama bulgusunun birçok çalışmada bulgular arasında olmadığı görülmüştür. Biyokimyasal parametrelerin değişiminin de ön planda tutulduğu bu deneysel çalışmalarda, bulguların farklı olmasının histopatolojik yorumlama farkından kaynaklanabileceğini bizlere düşündürmüştür.

Erdosteine, kronik pulmoner hastalıkların tedavisinde kullanılan mukolitik bir ajandır. Bu ajan, ancak karaciğer metabolizması ile serbestleştirilen iki adet tiyol (-SH) grubu içerir. Erdosteinin antioksidan mekanizmasında bu iki tiyol grubu rol oynar. Klinik ve deneysel birçok çalışma erdosteinin antioksidan olarak serbest radikal temizleyici fonksiyonlarının olduğunu göstermiştir (Biagi ve ark. 1989, Inglesi ve ark. 1994, Şahin ve ark. 2006).

Antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen Erdosteine birçok çalışmada hepatotoksik etkiye karşı kullanılmıştır.

Yağmurca ve ark. (2007) yaptıkları deneysel çalışmada Doksorubisin (DXR) uygulanarak ratlarda oluşturulan hepatotoksositeye karşı, Erdosteine uygulaması yaparak toksik etkinin azaltılabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada erdosteine 50 mg/kg/gün dozunda oral yolla verilmiştir. Histolojik ve biyokimyasal parametrelerin istatistiksel olarak değerlendirildiği bu çalışmada, DXR ve erdosteinin beraber uygulandığı grupla

sadece DXR uygulanan grup arasında anlamlı bir fark olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir.

Kuvandık ve ark. (2008) Asetaminofen (APAP) uygulaması yaparak oluşturdukları hepatotoksik hasarın Erdosteine kullanılarak azaltılabileceğini histolojik ve biyokimyasal olarak göstermişlerdir. Çalışmada APAP'ın hepatotoksik etkisine karşı 150 ve 300 mg/kg/gün dozda uygulanan erdosteinein toksik etkiyi azalttığı histolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir.

APAP ve DXR uygulanarak hepatotoksik etki oluşturulan bu iki deneysel çalışmanın sonuçları incelendiğinde erdosteinein iyi bir serbest radikal temizleyicisi olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara bakıldığında erdosteinein antioksidan özelliği sayesinde histolojik hasarı azalttığı görülmektedir.

Eraslan ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada CsA uygulanarak oluşturulan karaciğer hasarının Erdosteine uygulanarak azaltılabileceğini göstermişlerdir. Bu yönüyle çalışmamız, Eraslan ve ark.(2010) yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Eraslan ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, hepatotoksik hasar 25 mg/kg/gün CsA uygulanarak oluşturulmuştur ve uygulama 21 gün sürmüştür. Bizim çalışmamızda hepatotoksik hasar, 20 mg/kg/gün CsA uygulanarak 10 günde oluşturulmuştur. Çalışmamızla kıyasladığımızda, Eraslan ve ark. yaptığı çalışmada daha kronik bir hasar oluşturulduğunu söylemek mümkündür. Eraslan ve ark. (2010), antioksidan olarak erdosteine kullanmış (10 mg/kg/gün), CsA ve erdosteinei beraber uyguladığı gruplarda, hasarın daha az görüldüğünü; sinüzoidlerde genişleme, kanama ve portal alanlarda inflamatuvar hücre bulgularının azaldığını göstermişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler Eraslan ve ark.(2010) elde ettiği bulgularla paralellik göstermektedir. Bizim çalışmamız bu çalışmadan histolojik bulguları skorlama ve farklı histolojik boyama yöntemleriyle ayrılmaktadır.

Literatürde karaciğer toksisitesi konusunda yayınlanmış birçok deneysel çalışma incelendiğinde; histolojik veriler elde edilirken dokulardan nasıl bir örnekleme yapıldığı hakkında açıklayıcı bilgilere yer verilmediği görülmektedir (Rezzani ve ark. 2005, Josephine ve ark. 2008, Pari ve ark. 2008, Kaya ve ark. 2007, Yağmurca ve ark. 2007, Kuvandık ve ark. 2008, Eraslan ve ark. 2010).

Bu konuda sadece Kurus ve ark. (2008, 2009) yaptıkları karaciğer toksisite çalışmalarında dokuları nasıl örnekledikleri hakkında bilgi vermiş oldukları görülmektedir.

Çalışmamızda tüm gruplardaki dokular incelenerek, daha objektif bir sonuç elde etme adına skorlama yapılmıştır. Skorlama yapılırken gruplardaki her hayvandan en az 10 klasik karaciğer lobülü olmak üzere, toplamda her gruptan 100 lölül incelenmiştir. Skorlama yapılırken sinüzoidlerde genişleme, hepatositlerde vakuolizasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kanama bulguları değerlendirilmiştir. Bulgular; 0= normal, 1=hafif, 2=orta, 3=ağır şeklinde derecelendirilerek skorlama yapılmıştır. Benzer şekilde histopatolojik bulguların skorlanarak veri elde edildiği, çalışmalar literatürde de yer almaktadır (Kuruş ve ark. 2008, Yağmurca ve ark. 2007).

Skorlama yapılırken preparatların etiket kısımları kapatılmış, hangi preparatın hangi gruba ait olduğu bilinmeden nesnel bir değerlendirme yapılmıştır. Grup bilgileri kapatılan preparatlar numaralandırılmış, skorlama işleminden sonra numaralarına ve grup bilgilerine göre veriler tablo haline getirilmiştir.

Preparatlar değerlendirilirken gruplardaki her hayvanın karaciğerinden örnekleme yapılmış, aynı lölülün tekrar incelenmemesine özen gösterilerek daha nesnel bir veri elde edilmeye çalışılmıştır. Gruplar arasında histolojik incelemelerde gözlenen farklılık, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur.

Daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak CsA ve erdosteinin beraber uygulandığı grupta toksik hasarın azaldığı, çalışmamızda da gösterilmiştir. Çalışmamızda erdosteine 12 mg/kg/gün dozajında oral olarak uygulanmıştır. Bazı çalışmalarda Erdosteine 50-150 mg/kg/gün dozunda uygulandığı da görülmektedir. Erdosteine dozu artışı toksik hasarın daha etkili bir şekilde önlenmesini sağlayabilir. Çalışmamızda sadece 12 mg/kg/gün dozunda uygulanan erdosteine, yeni gruplar oluşturularak daha yüksek dozajlarda uygulanıp daha etkin sonuçlar elde edilebilir. Burada CsA'nın oluşturduğu hasarın şiddetinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Çalışmamızda doku örnekleri 3 farklı histolojik yöntemle boyanmıştır. Bunlar genel doku boyası olan Hematoksilin-Eozin, glikojeni iyi boyayan PAS (Periyodik Asit- Schiff) ve Elastik lif boyamadır.

HE boyama ile genel doku yapıları incelenmiş ve skorlama işlemi de HE ile boyanan dokularda yapılmıştır. Doku genelindeki hasar HE ile boyanmış preparatlarda gösterilmiştir.

PAS ile boyanan dokuların genel yapısı incelendiğinde, HE boyama ile elde edilen bulguları destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Glikojen dağılımında gruplar arasında

belirgin bir farklılık görülmemiştir. Sadece Erdosteine uygulanan grubun hepatosit sitoplazmalarının PAS ile biraz daha yoğun boyandığı görülmüştür.

Elastik lif boyası ile boyanan preparatlar incelendiğinde özellikle CsA uygulanarak hasar oluşturulan II. grupta santral ven endotelinde meydana gelen hasar daha net gözlemlenmiştir. Ayrıca CsA uygulanan II. ve III. gruplardaki hepatosit sitoplazmalarında görülen vakuolizasyonların, bu boyamada daha net gözlemlenmiştir. Bu bulgularla da Elastik lif boyamanın HE boyamayı destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, hücrelerde serbest oksijen türlerini (ROS) artırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilen bir immün baskılayıcı ajan olan CsA'nın, karaciğer dokusunda oluşturduğu hasar ve bu hasara karşı antioksidan özelliğe sahip Erdosteinin koruyucu etkisi histolojik olarak gösterilmiştir.

CsA'nın karaciğer dokusunda sinüzoidlerde genişleme, kanama, hepatositlerde vakuolizasyon ve dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir.

Erdostein kullanımının, CsA'nın neden olduğu histopatolojik değişiklikleri azaltabileceği histolojik boyama yöntemleriyle gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler bu bulguları destekler niteliktedir.

Sadece Erdostein kullanımının karaciğerde bir hasara neden olmadığı da histolojik olarak gösterilmiştir.

CsA'nın karaciğerde oluşturduğu biyokimyasal ve histolojik değişiklikler ve Erdosteinin bu hasarı ne derece önleyebileceği, maddelerin değişik dozlarda uygulanarak farklı hayvan türleri üzerinde yapılacak deneysel çalışmalarla desteklenebilir.

7.KAYNAKLAR

1. **Abbas AK., Lichtman AH.,** Temel İmmünoloji, (I. baskıdan çeviri, Camcıoğlu Y., Deniz G.) I. baskı, İstanbul Tıp kitabevi, İstanbul, **2007**, s. 21-27.
2. **Abraham L., Kierszen Basım, MD,NAD,** Sindirim Bezleri, Arbak S. (çeviri editörü Demir R.), Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1.baskı, Ankara, PalmeYayıncılık. ,**2006**, (447-474).
3. **Actis GC, Debernardi-Venon W, Lagget M, Marzano A et al.:** Hepatotoxicity of intravenous cyclosporin A in patients with acute ulcerative colitis on total parenteral nutrition. *Liver* **1995**; 15: 320-323.
4. **Akay MT.,** Temel Histoloji, palme yayıncılık, Ankara, **2008**, s. 58-61.
5. **Aktümsek A.** Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi, 3. baskı, Nobel Yayınları, Ankara, **2006**, s. 366-367.
6. **Altunkaynak Z., Altunkaynak E.,** Farklı Fiksasyon İşlemlerinin Karaciğer Boyutu Üzerine Etkisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, (**2006**) 13(3) 151-156.
7. **Amudha G., Josephino A., Varalakshmi P.** Role of the lipoic acid in recuding the oxidative stres induced by cyclosporine. *Clinica Chimica Acta.* **2007**; 372(1-2): 134-139.
8. **Andoh TF, Burdmann EA, Bennet WM.** Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: experimental and clinical observations. *Semin Nephrol* **1997**;17:34 – 45.
9. **Arınc K. Ehan A.,** Anatomi, I.Cilt 3. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara, **2001**, s. 223-282.
10. **Baczowska T, Durlık M.** Calcineurin inhibitor sparing immunosuppressive regimens in kidney allograft recipients. *Pol Arch Med Wewn.* **2009**;119(5):318-325.
11. **Bennett WM, Porter GA.** Cyclosporine-associated hypertension. *Am J Med* **1988**;85:131– 3.
12. **Bennet WM.** The nephrotoxicity of immunosupressant Drugs. *Clin Nephrol*, **1995**, s. 34: 3-7.
13. **Biagi G, Fregnan G, Gazzani G, Vandoni G.** Erdosteine protection from cigarette smoke-induced loss of alpha 1-antitrypsin activity in rat lungs. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* **1989**; s. 27(5): 235-237
14. **Bianchi R, Rodella L, Rezzani R,** Cyclosporine A upregulates expression of matrixmetalloproteinase 2 and vascular endotelial growth factor in rat heart. *Int. Immunopharmacol.* **2003** ;3:427-433.
15. **Borel JF, Feurer C, Magnee C, Stahelin H.** Effect of the new-anti-lymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunology.* **1977**; 32:1017-25
16. **Borel JF, Baumann G, Chapman I, Donatsch P, Fahr A, et al.** In vivo pharmacological effects of cyclosporin and same analogues. *Adv Pharmacol.* **1996**;35:115– 246
17. **Braga P, Dal Sasso M, Zuccotti T.** Assessment of the Antioxidantactivity of the SH Metabolite I of Erdosteine on Human Neutrophil Oxidative Bursts. *Arzneimittelforschung* **2000**; s.50(8):739-746.
18. **Braga PC, Dal Sasso M, Sala MT, Gianelle V.** Effects of erdosteine and its metabolites on bacterial adhesiveness. *Arzneimittelforschung* **1999**;49(4):344-50

19. **Cabuk M, Gurel A, Sen F, Demircan N.** Renoprotective effect of Erdosteine in rats against gentamicin nephrotoxicity: a comparison of 99mTc-DMSA uptake with biochemical studies. *Mol Cell Biochem* **2008**; 308: 35-42
20. **Calne RY, White DJ, Thiru S, Evans DB, McMaster et all.** Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet*, **1978** 2:1323-1327,
21. **Calne RY. Thiru S. McMaster P ve ark.** Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet*, **1978**, s. 2: 1327-1328
22. **Carnerio J., Kelley R.O.** Sindirim Kanalına Bağlı Bezler, Aytekin Y., Solakoğlu S., Ahışalı B., *Temel Histoloji*, I. baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, **1998**, s. 307-319.
23. **Cheung A, Menkis AH.** Cyclosporine heart transplantation. *Transplantation Proc* **1998**; 30: 1881-1884.
24. **Çetin A.,** Sıçanların Solunum, Sindirim ve Boşaltım Sistemlerindeki Makrofajların Histolojik Yapılarının Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi, Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya, **2006**
25. **Çınar A., Yörlük M., Merul İ., Kılıçalp D., Koç A. ve ark.,** Karbon Tetraklorür (CCl₄) İle Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Akut ve Kronik İntoksikasyonun Karaciğer Histolojik Yapısına, Bazı Hematolojik Değerlere ve Elektrokardiyam Üzerine Etkileri, *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **1999**, s. 235-242 .
26. **Dechant K. Noble S.** Erdosteine. *Drugs*. **1996**; s. 52(6):875-881
27. **de Mattos AM, Olyaei AJ, Bennet WM.** Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: long-term consequences and challenges for the future. *Am J Kidney Dis* **2000**;35:333– 46
28. **Diepering H. Frandsen NE. Kemp E.** Cyclosporin A Bright proespects for organ transplantation?. *Ugeskr Laeger*, **1983**, s. 145:36 2749-2752.
29. **Durak I, Ozbek H, Elgun S.** Cyclosporine reduces hepatic antioxidant capacity: protective roles of antioxidants. *Int Immunopharmacol* **2004**;4:469 – 73.
30. **Eraslan E, Ekiz F, Uz B, Koca C, Turkcü UO.** Effects of erdosteine on cyclosporine-A–induced Hepatotoxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, **2010**, 1–6,
31. **Eemaire M. Maurer G, Wood AJ.** Pharmacokinetics and metabolism. *Prog Allergy* **1986**. 38:93-107.
32. **Erdoğan D., Hatipoğlu T., Görgün M., Ilgaz C.,** Büyük Sindirim Bezleri, *Özel Histoloji*, 1. Baskı, SBAD Yayınları, Ankara, **1996**, s. 94-99
33. **Eroschenko VP.** *Di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle* (9. Baskıdan Çeviri), Palme Yayıncılık, Ankara, s. (219-225)
34. **Eşrefoğlu M.,** *Özel Histoloji*, Medipres matbaacılık yayıncılık, Malatya, **2009**, s.106-120.
35. **Fumagalli G, Balzarotti C, Banfi P, Deco P, Ferrante L ve ark.** Erdosteine: a new molecule with mucolytic activity. Clinical and instrumental evaluation in patients with acute and exacerbated chronic bronchopneumopathies. *Italian Journal of Chest Diseases* **1988**; 42: 299-308.
36. **Gazzani G, Fregnan GB, Vandoni G.** In vitro protection by erdosteine against oxidative inactivation of alpha-1- anti-trypsin by cigarette smoke. *Respiration* **1989**; 55: 113-118

37. **Greene EL, Paller MS.** Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab.* 1991;17: 124-132
38. **Grub S, Pershon E, Trommer WE, Wolf A.** Mechanism of cyclosporin A induced Apoptozis in rat hepatocyte primary cultures, *Toxicol Appl. Pharmacol* **2000**;163:209-20.
39. **Groen PC:** Cyclosporine and the liver: how one affect the other *Transplant:Proc* 22:1197,**1990**.
40. **Guyton AC., Hall JE.,** Tıbbi Fizyoloji, (onuncu baskıdan çeviri: ed. Çavuşoğlu H.), Yüce yayımları&Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, **2001.** s. 797-798.
41. **Gürbüz H.** Karaciğerin Damar Sistemi, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2004, (21), s. 31-35.
42. **G. Titti, A. Lizzio, C. Temrini, P. Negri, S. Fazio ve ark..** A controlled multicenter pediatric study in the treatment of acute respiratory tract diseases with the aid of a new specific compound, erdosteine. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* **2000**;38(8):402-407
43. **Humers HD, Coffman T, Halderman II.** Cyclosporine Nephrotoxicity. A workshop to Discuss Mechanisms, Diagnosis and Treatment. *Transpl. Proc.* **1988**;6:511-516.
44. **Inglesi M, Nicola M, Fregnan G, Bradamante S, Pagani G:** Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco* **1994**, s.40(11):703-708
45. **Kapan M.** Sıçanlarda Parsiyel Hepatektomiden sonra Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Aprotinin, Siklosporin ve Sotamostatın Etkilerinin Kontrollü Olarak Karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, **1994**
46. **Kaşah H., Satıroğlu G. Taşerik M.** İnsan Embriyolojisi, (7.baskı), İstanbul, Alfa Basım Yayım Dağıtım (**1992**). s. (181-182).
47. **Kayaalp SO.,** Tıbbi Farmakoloji, I. cilt, 11. Baskı, Hacettepe-taş yayınları, Ankara, **2005**, s. 344-349.
48. **Kaya H, Koc A, Sogut S, Duru M, Yılmaz HR.** The protective Effect of N-asetilsisteine against cyclosporine A-induced hepatotoxicity in rats. *J. Appl. Toxicol.* **2008**;28:15-20.
49. **Koc A, Duru M, Ciralik H, Akcan R, Sogut S.** Protective agent, erdosteine, against cisplatin-induced hepatic oxidant injury in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry.* **2005**;278: 79-84.
50. **Koc A, Narci A, Duru M, Gergerlioglu HS, Akaydin Y. et all.** The protective role of erdosteine on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *Molecular and Cellular Biochemistry.* **2005**; 280:193-199.
51. **Kuran O.,** sistematik anatomi, I. baskı, İstanbul, filiz Kitap Evi, **1993** s. (429-439)
52. **Kurangöz E,** özel histoloji, I. baskı, Isparta, SDÜ basımevi, (**2002**) s. 95-113.
53. **Kurus M. Esrefoglu M. Karabulut AB. Sogutlu B. Kaya M. et all.** Oral L-arginine protects against cyclosporine-induced hepatotoxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology.* **2008**, s. 60: 411-419.
54. **Kurus M, Esrefoglu M, Sogutlu G, Atasever A.** Melatonin Prevents Cyclosporine-induced Hepatotoxicity in Rats. *Med Princ Pract* **2009**;18:407-410.
55. **Kuvandık G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvacı R.** Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats. *Toxicol Pathol.* **2008**; 36: 714-719

56. **Laczkovics A, Havel M, Teufelsbauer H, Harvath R, Schreiner W, ve ark.** Cyclosporin-A induced heart failure after orthotopic heart transplantation. *Thorac Cardiovasc Surg* **1987**; 35:83–6
57. **Lee JY, Kim HS, Park CS, Kim MC.** Erdosteine in Renal Ischemia-Reperfusion Injury: An Experimental Study in Pigs. *J Vet Med Sci.* **2010**;72(1):127-130.
58. **Liptak P, Ivanyi B.** Primer: histopathology of calcineurin-inhibitor toxicity in renal allografts. *Nat Clin Pract Nephrol.* **2006**;2(7):398-404
59. **Lo A.** Immunosuppression and metabolic syndrome in renal transplant recipients. *Metab Syndr Relat Disord.* **2004**; 2: 263-273.
60. **Magee CC, Pascual M.** Update in Renal Transplantation. *Arch Intern Med.* **2004**;164:1373-1388.
61. **Magnasco A, Rossi A, Catarsi P, et al.** Cyclosporin and organ specific toxicity: clinical aspects, pharmacogenetics and prospectives. *Curr Clin Pharmacol.* **2008**; 3: 166-173.
62. **Margreiter R, Huber C, Spielberger M, Konig P.** 1983. Cyclosporine in the treatment of acute cadaveric kidney graft rejection refractory to high-dose methylprednisolone. *Transplantation* **36**: 203–204.
63. **Morris PJ.** Cyclosporine A. *Transplantation.* **1981**, .32: 349.
64. **Moore Persaud,** Systema Digestorium, Ertem D., Çeviri Editörleri: Yıldırım M., Okar İ., Dalgıç H., İnsan Embriyolojisi.6. baskıdan çeviri, İstanbul, Nobel Tıp Kitap Evleri Ltd. Şti. (**2002**) (298-302).
65. **Miller LW.** Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents. *Am J Transpl* **2002**;2:807–18.
66. **Nacar A, Kıyıcı H, Ogus E, Zagyapan R, Demirhan B, ve ark.** Ultrastructural Examination of glomerular and tubular Changes in Renal Allografts with Cyclosporine Toxicity. *Renal Failure,* **2006** , 28:543-547
67. **Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M.** Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity. *Clin J Am Soc. Nephrol* **2009**;4: 481–508.
68. **Ozan H.** Ozan Anatomi, I. Baskı, Nobel ,Tıp Kitabevi, Ankara, **2004**, s. 287- 290.
69. **Ovale W.K., Nahirney C.P.,** Netter Temel Histoloji, (Çeviri Editörleri Müftüoğlu S., Kaymaz F., Atilla P.), Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, **2009**, s. 312-327
70. **Pari L, Sivasankari R.** Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 22 (**2008**) 395-401.
71. **Penn I, Branson ME,** Cancers after cyclosporine therapy. *Transpl. Proc.* **1980**:20: 885-892.
72. **Ponticelli C.** Cyclosporine: From renal transplantation to autoimmune diases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2005**:1051: 551-558
73. **Polat C.I.,** Fizyoloji, Karaciğer, Cilt I., I. baskı, Ankara Basın Yayım, Ankara, **2003**, s. 31-50
74. **Rezzani R.** Cyclosporine A and adverse effects on organs: histochemical studies. *Prog Histochem Cytochem* **2004**; 39:85–128.
75. **Rezzani R.** Exploring cyclosporine A-side effect and the protective role-played by antioxidants: the morphological and immunohistochemical studies. *Histol Histopathol.* **2006.** s. 21: 301-316.

76. **Rezzani R, Rodella L, Bianchi R.** Melatonin antagonizes the cyclosporine A immunosuppressive effect in rat thymuses. *Int. Immunopharmacol.* **2001** s. 8: 1615-1619.
77. **Rezzani R, Rodella R, Dessy C, Daneau G, Bianchi R ve ark.** Changes in Hsp90 expression determine the effects of cyclosporine A on the NO pathway in rat myocardium. *FEBS Lett* **2003**;552:125–9.
78. **Rezzani R, Buffoli B, Rodella L, Stacchiotti A, Bianchi R.** Protective Role of Melatonin in Cyclosporine A-induced oxidative stress in rat liver. *International Immunopharmacology* **5** (2005)1397-1405.
79. **Roose MH, Romrell LJ, Kage GI,** Histology. A text and atlas. Third edition, **1995**. S. 496-507.
80. **Sadler T.W** Langman’s Medikal Embriyoloji (Çeviri Editörü Başaklar A.C) , Özel Embriyoloji, 9. Baskı, Ankara, s. 292-293
81. **Sahin M, Cam H, Olgar S, Tunc SE, Arslan C.** Protective role of erdosteine on vancomycin-induced oxidative stress in rat liver. *Molecular and Cellular Biochemistry* **291**: 155–160, **2006**.
82. **Salem NA, Salem EA, Maarouf AM, Kamel M, Elgalaly H.** Protective effect of trapidil and L-arginine against renal and hepatic toxicity induced by cyclosporine in rats. *Renal Failure*, **2010**, 32;959-968.
83. **Schacter M.** Editorial Review. Cyclosporine A and Hypertension. **1988**;6:511-516.
84. **Sibley RK, Rynasiewicz J, Ferguson RM et al.:** Morphology of cyclosporine nephrotoxicity and acute rejection in patients immunosuppressed with cyclosporine and prednisone. *Surgery* **1983**; 94: 225-234.
85. **Snell R.S.,** Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Anatomi(1995), Yıldırım U.(çev ed.)5. baskı, İstanbul, Nobel Tıp kitap evleri &Yüce Yayın (183-274).
86. **Tekelioğlu M.** Özel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, **2002**. s. 226-229.
87. **Textor SC, Canzanello VJ, Taler SJ, Wilson DJ, Schwartz LL, et al.** Cyclosporine-induced hypertension after transplantation. *Mayo Clin Proc* **1994**;69:1181–93.
88. **Tredger JM, Brown NW, Dhawan A** Calcineurin inhibitor sparing in paediatric solid organ transplantation: managing the efficacy/toxicity conundrum. *Drugs.* **2008**; 68(10): 1385-1414.
89. **Van Buren C.** Cyclosporine: progress, problems and perspectives. *Surgery Clinics of North America.* **1986**. 66;435-449
90. **Wartburg A, Traber R.** Chemistry of the natural cyclosporin metabolites. *Prog Allergy.* **1996**, s. 38: 28-45.
91. **Wang C, Salahudeen AK.** Lipid peroxidation accompanies cyclosporine nephrotoxicity: effects of vitamin E. *Kidney Int* **1995**;47:927–34.
92. **Wenger RM.** Structures of cyclosporine and metabolites. *Transplant Proc.* 1990; 22:1104-1109.
93. **Wolf A, Trendelenburg CF, Diez-Fernandez C, Prieto P, Houy S, et al.** Cyclosporin A-induced oxidative stress in rat hepatocytes. *J Pharm Exp Ther* **1997**;280:1328– 34.
94. **Yagi K, 1980.** Lipid Peroxides in Biology and Medicine. Academic Press, New York.
95. **Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A, et al.** Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* **2007**; 38: 380-5.

96. **Yağmurca M.**, Embriyoloji, (Editör Dilek O.N), Karaciğer, Cilt I., Ankara Basın Yayım, Ankara, **2003**, s. 17-20
97. **zhong Z., Li X., Yamashina S.** Cyclosporine A causes a hypermetabolic state and hypoxia in the liver: prevention by dietary glycine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (**2001**) 299 858–865.
98. www.guidechem.com
99. SPSS Inc. SPSS for Windows (Version 11.5.0; SPSS), Chicago, IL, USA, 2002

8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Söke’de doğdu. 2004 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2008 yılında Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2008 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalışmaya başladı. 2009 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı.

