T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

SIÇANLARDA SAFRA YOLU LİGASYONUNUN KARACİĞERDE OLUŞTURDUĞU HASAR VE BU HASARIN *CYNARA SCOLYMUS* L. YAPRAK EKSTRAKTI, KOLŞİSİN VE PİOGLİTAZON İLE ÖNLENMESİNE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR: ÜÇ BOYUTLU MİKROSKOPİK BİR ÇALIŞMA

AISHA I M ADAWI

ANATOMİ ANA BİLİM DALI

TEMMUZ 2022

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

SIÇANLARDA SAFRA YOLU LİGASYONUNUN KARACİĞERDE OLUŞTURDUĞU HASAR VE BU HASARIN *CYNARA SCOLYMUS* L. YAPRAK EKSTRAKTI, KOLŞİSİN VE PİOGLİTAZON İLE ÖNLENMESİNE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR: ÜÇ BOYUTLU MİKROSKOPİK BİR ÇALIŞMA

Aisha I M ADAWI

DOKTORA TEZİ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEMMUZ 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Aisha I M ADAWI

25/07/2022

SIÇANLARDA SAFRA YOLU LİGASYONUNUN KARACİĞERDE OLUŞTURDUĞU HASAR VE BU HASARIN *CYNARA SCOLYMUS* L. YAPRAK EKSTRAKTI, KOLŞİSİN VE PİOGLİTAZON İLE ÖNLENMESİNE YÖNELİK YAKLAŞIMLAR: ÜÇ BOYUTLU MİKROSKOPİK BİR ÇALIŞMA

(Doktora Tezi)

Aisha I M ADAWI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2022

ÖZET

Safra yolu tıkanıklıklarında oluşan karaciğer harabiyetinin oluşum mekanizması ve tedavisiyle ilgili planlanan bu çalışmadaki amaç; sıçanlarda karaciğer fibrozis modelinde *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazonun koruyucu etkilerinin olup olmadığının incelenerek karşılaştırılmasıdır. Bu ajanların zamanla hasarın seyrini gerileteceği, dolayısıyla insanları etkileyen birçok hastalığın ileri aşamalarında kullanılan tedaviye bu ajanların eklenmesiyle yaşam sürelerinin uzatılmasına katkı sağlanabileceği düşünülmektedir. Çalışma kapsamında, 6-8 haftalık 200-250 gr ağırlığında sağlıklı 35 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı, her grupta 7 sıçan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grup 1-Sham Grubu dışında diğer gruplara karaciğer fibrozis modeli oluşturuldu ve 7 gün süreyle tedavi edildilerdir. Grup 1-Sham Grubu ve Grup 2-Kontrol Grubu hayvanlarına tedavi amaçlı herhangi bir işlem uygulanmadı. Grup 3-*Cynara scolymus* yaprak ekstraktı 1,5 gr/kg/per os verildi. Grup 4-Kolşisin 50 µg/kg/per os uygulandı. Grup 5-Pioglitazon 1 mg/kg/per os verildi. Histomorfolojik değerlendirme Hematoksilen-Eozin, Masson Trikrom ve Gümüş impregnasyon boyamalarıyla yapıldı. Serum örneklerinde total bilirubin, ALP, ALT, AST ve albümin düzeyleri değerlendirildi. Karaciğer rejenerasyonunu incelemek için AFP, inflamasyon durumunu değerlendirmek için TNF-α antikoru ve apoptoz değerlendirmek için p53 ve caspase 3 immünohistokimyasal boyama yapılarak incelendi. Karaciğer hasarı sonrası ortaya çıkan oksidatif stres durumu, doku TAS ve TOS düzeyleri değerlendirildi. Sonuç olarak hem histomorfolojik değerlendirmede hem de biyokimyasal analizinde, safra yolları ligasyonu sonucu ortaya çıkan patolojik bulgularda diğer deney gruplarında, kontrol grubuna göre azalma olduğu görüldü. Ayrıca gruplardaki histopatolojik ve histomorfometrik değişiklikler göz önüne alınarak 3 boyutlu bilgisayar modellemeleri ile bu modellerin gerçeğe yakın 3D printer çıktıları alındı. Ayrıca 3D modellerin sanal VR ve AR uygulamaları yapıldı.

Bilim Kodu	:	1005
Anahtar Kelimeler	:	Karaciğer, Safra Yolu Ligasyonu, 3D, *Cynara scolymus* Yaprak Ekstraktı, Kolşisin, Pioglitazon
Sayfa Adedi	:	132
Danışman	:	Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER

CYNARA SCOLYMUS L. LEAF EXTRACT, COLCHICINE AND PIOGLITAZONE AS APPROCHES TO PREVENT HEPATİC DAMAGE CAUSED BY BILE LIGATION IN RATS: THREE- DIMENSIONAL MICROSCOPIC STUDY

(Ph. D. Thesis)

Aisha I M ADAWI

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

July 2022

ABSTRACT

The aim of this study is to examine and compare the protective effects of *Cynara scolymus* L., Colchicine and Pioglitazone in liver fibrosis model in rats. It is thought that these agents will slow down the course of liver damage over time, so addition of these agents to advanced stages of many human's diseases may contribute to prolongate life span. In this study, 35 healthy Wistar Albino male rats weighing 200-250 g at 6-8 weeks were divided into 5 groups with 7 rats per group. Except for Group1, all groups were modeled for liver fibrosis and treated for 7 days. Group1 and Group 2 didn't recive any treatment. Group 3 received *Cynara scolymus* leaf extract 1.5 g / kg / per os. Group 4 received Colchicine 50 µg / kg / per os. Group 5 received Pioglitazone 1 mg / kg / per os. Histomorphological evaluation have been done with Hematoxylin-Eosin, Masson Trichrome and Silver staining. Total bilirubin, ALP, ALT, AST and albumin levels were evaluated. AFP to evaluate liver regeneration, TNF-α antibody to evaluate inflammation and p53 and caspase3 immunohistochemical staining for apoptosis. Oxidative stress were evaluated by tissue TAS and TOS levels. As a result, both histomorphological evaluation and biochemical analysis revealed a decrease in pathological findings resulting from bile duct ligation in the other experimental groups compared to the control group. Considering the histopathological and histomorphometric changes, 3D computer modeling and realistic 3D printer outputs of these models have been taken. Also VR and AR have been performed.

Science Code	:	1005
Key Words	:	Liver, Bile Duct Ligation, 3D, *Cynara scolymus* Leaf Extract, Colchicine, Pioglitazone
Page Number	:	132
Advisor	:	Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi ve tez çalışmalarımın her aşamasında destek veren, değerli bilgilerini ve tecrübelerini sürekli bizlerle paylaşan, sabrı ile yanımda olan saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER'e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim boyunca yakın destek ve ilgilerini gördüğüm, Anatomi Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Meltem BAHÇELİOĞLU'na, öğretim üyesi saygıdeğer hocam Prof. Dr. İ. Nadir GÜLEKON'a, Anabilim Dalın'da görevli tüm hocalarıma, uzman ve asistan arkadaşlarıma saygı ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmamın planlanması ve deney aşamalarındaki desteği nedeni ile Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, biyokimyasal analizlerde yardımcı olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU'ya, deney aşamalarında yardımcı olan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndan Doç. Dr. Ayşe Mürşide DEMİREL'e, birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve tecrübesinden yararlandığım Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğretim Üyesi, Özen AKARCA DİZAKAR'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Beni bu günlere getiren destekleri ve emekleri ödenemeyecek olan rahmetli anneme, babama, kardeşlerime, destek ve sabırları için sevgili eşim Dr. Bashir ahessen mohamed ALHASHIMI'ye en içten dileklerimle teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xii

SİMGELER VE KISALTMALAR xvi

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Karaciğer 5

2.1.1. Karaciğerin gelişimi 5

2.1.2. Karaciğerin makroskopik yapısı 5

2.1.3. Karaciğerin mikroskopik yapısı 12

2.1.4. Karaciğerin işlevleri 14

2.2. Safra Kesesi ve Safra Yolları 15

2.2.1. Safra kesesi ve safra yollarının gelişimi 15

2.2.2. Safra kesesi ve safra yolların makroskopik yapısı 16

2.2.3. Safra kesesi ve safra yolların mikroskopik anatomisi 19

2.2.4. Safra ve safra yollarının işlevleri 20

2.3. Ekstrahepatik Kolestazis 22

2.3.1. Kolestazis 22

2.3.2. Ekstrahepatik kolestazis modeli 23

2.3.3. Karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler 23

Sayfa

2.3.4. Karaciğer fibrozisi 24
2.4. Oksidatif Stres 25
2.4.1. Oksidatif stresin genel bilgileri 25
2.4.2. Kolestazis ve oksidatif stres 25
2.4.3. Kronik karaciğer hastalığında oksidatif stres etkisi 26
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri 27
2.5.1. Genel bilgiler 27
2.5.2. Reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan sistemler 28
2.6. Deneyde Kullanılan Kimyasallar 29
2.6.1. *Cynara scolymus* L 29
2.6.2. Kolşisin 31
2.6.3. Pioglitazone 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 35
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Hayvanlarının Gruplandırılması 35
3.2. Işık Mikroskopik İncelemeler 37
3.2.1. Hematoksilen-eozin (HE) boyama yöntemi 37
3.2.2. Gümüş impregnasyon boyama yöntemi 38
3.2.3. Masson trikrom boyama yöntemi 38
3.2.4. İmmünohistokimyasal analiz 39
3.3. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi 39
3.3.1. Serum analizi 39
3.3.2. Karaciğerde oksidatif stresin belirlenmesi 40
3.4. İstatistiksel Analizler 40
3.5. Üç Boyutlu Modelleme ve 3 Boyutlu Printer Çıktılarının Alınması 40
4. BULGULAR 43
4.1. Makroskopik Bulgular 43

Sayfa

4.2. Işık Mikroskop Bulguları 46

4.2.1. Hematoksilen- Eozin (HE) bulguları 46

4.2.2. Gümüşleme ve Masson Trikrom boyama yöntemi bulguları 57

4.3. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular 75

4.3.1. Serum analiz bulguları 75

4.3.2. Karaciğerde oksidatif stresin belirlenmesinin bulguları 79

4.4. İstatistiksel Bulgular 81

4.4.1. Vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi 81

4.4.2. Immunohistokimyasal bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi 82

4.5. 2 Boyutlu Mikroskopik Kesitlerin Değerlendirilmesinden Sonra Bunlardan 3 Boyutlu Modeller Oluşturulması 86

5. TARTIŞMA 91

6. SONUÇ 106

KAYNAKLAR 108

EKLER 128

EK-1. Etik Kurul Onayı 129

EK-2. Katılım Sertifikası 131

ÖZGEÇMİŞ 132

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.1. Gruplar ait biyokimyasal parametrelerin serum düzeylerine ait ortalama ± SS değerleri..... 75

Çizelge 4.2. Gruplar ait TAS ve TOS aktivitesinin düzeylerine ait ortalama ±SS değerleri..... 79

Çizelge 4.3. Gruplar ait ağırlık değişiminin analizine ait ortalama ±SS değerleri 81

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Karaciğerin yüzey anatomisi 8

Şekil 2.2. Karaciğerin önden görünümü 12

Şekil 4.1. Deney gruplarında elde edilen serum T-B değerleri grafiği 76

Şekil 4.2. Deney gruplarında elde edilen serum ALP değerleri grafiği 77

Şekil 4.3. Deney gruplarında elde edilen serum ALT değerleri grafiği 77

Şekil 4.4. Deney gruplarında elde edilen serum AST değerleri grafiği 78

Şekil 4.5. Deney gruplarında elde edilen ALB değerleri grafiği 78

Şekil 4.6. Deney gruplarında elde edilen TAS aktivitesinin değerlerin grafiği 80

Şekil 4.7. Deney gruplarında elde edilen TOS aktivitesinin değerlerin grafiği 80

Şekil 4.8. Gruplara ait vücut ağırlığının grafiği 82

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 3.1. (A,B,C) Ligasyon işlemi: Safra kanalı çıkarılıp sütür materyali ile biri proksimal diğeri distal bölgeden olmak üzere iki ligatür işlemi yapıldı. Daha sonra, karaciğer safra kanalı bu iki ligatür arasından kesildi..... 36

Resim 4.1. Sham grubu: Karaciğerleri koyu kırmızı-kahverenginde, normal boyutlarında ve 4 loblu bir görünüm göstermekte..... 44

Resim 4.2. Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grubu: Büyümüş karaciğer dokusu içinde yer yer nodüler yapılar (→), karaciğerlerin renkleri sarıya yakın kahverengi görünüm göstermekte, yer yer normal karaciğer dokusuna rastlanmakta (+)..... 44

Resim 4.3. Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş ve rengi kontrol grubuna göre daha koyu renkte izlenmekte (+). Nodüler görünüm kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte (→)..... 45

Resim 4.4. Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş ve rengi kontrol grubuna göre daha koyu renkte izlenmekte (+). Nodüler görünüm (→) neredeyse enginar grubundaki gibi olmakla birlikte, kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte..... 45

Resim 4.5. Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazone uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş olarak izlenmekte. Nodüler görünüm (→) neredeyse enginar grubundaki gibi olmakla birlikte, kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte. 46

Resim 4. 6. (A,B,C): Sham grubuna ait HE boyamasında sınırları net olarak ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde, vena centralis (VC) çevresinde ışınsal tarzda düzenlenme gösteren poligonal şekilli ve yuvarlak çekirdekli hepatositlerin (h) oluşturduğu kordonlar arasında uzanan sinüzoidler (*) görülmekte..... 47

Resim 4.7. (A,B,C,D,E,F): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol gruba ait HE boyamalarında, hepatosit düzenlenimleri ve sinüzoidal aralıklarda bozulma (S), perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), konjesyon (k), piknotik çekirdekli, eozinofilik boyanma özelliği gösteren hücrelerden oluşan psödolobül yapısı (PL), perivasküler alanda yağlı dejenerasyonu andıran vakuoler oluşumlar (→) dikkati çekmekte 49

Resim 4.8. (A,B,C,D): Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait HE boyamasında, inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), konjesyon (k), psödolobül yapısı (PL) yanı sıra normal yapıdaki alanlar (N) izlenmekte... 52

Resim **Sayfa**

Resim 4.9. (A,B,C,D): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulanan gruba ait HE boyamasında, boyanma özelliği değişkenlik gösteren hepatositler (h), konjesyon (k), perivasküler inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) ve piknotik çekirdekli (p), safra ligasyonu yapılan gruba göre daha küçük eozinofil boyanan hücrelerden oluşan psödolobül (PL) yapısı izlenmekte..... 54

Resim 4.10. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulanan gruba ait HE boyamasında, yer yer inflamatuar hücre infiltrasyonunun azaldığı alanlar (^) ile bazı alanlarda devam eden inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) ve psödolobül yapısı (PL) gözlenmekte..... 56

Resim 4.11. (A,B): Sham grubuna ait Gümüşleme boyamasında vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte..... 59

Resim 4.12. (A,B,C,D): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grubuna ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→), lobüller arasında, tüm karaciğer stromasında ağsı yapıda diffüz ve yoğun retikulum lifleri (rl) görülmekte..... 60

Resim 4.13. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasında diğer deney gruplarına göre retikulum lif (rl) yoğunluğunun azaldığı dikkati çekmekte..... 62

Resim 4.14. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte..... 64

Resim 4.15. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte..... 65

Resim 4.16. (A,B): Sham grubuna ait Masson trikrom boyamasında, karaciğer dokusunda vena centralis (VC) çevresinde ince sirküler düzenlenim gösteren mavi renkte boyanan kollajen lifler (ko) görülmekte..... 67

Resim 4.17. (A,B,C,D): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis çevresinde (VC), stromada, vasküler oluşumlar çevresinde ve safra kanalları çevresinde diffüz ve yoğun mavi renkte boyanan kolajen lif (ko) dağılımı gözlenmekte..... 68

Resim 4.18. (A,B,C,D): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra *Cynara scolymus* L. uygulanan grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis (VC) çevresinde ve karaciğer stromasında, vasküler oluşumlar çevresinde sham grubu dışındaki diğer deney gruplarına göre azalmış mavi renkli kollajen lif (ko) dağılımı izlenmekte..... 70

Resim **Sayfa**

Resim 4.19. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Kolşisin uygulanan grupta Masson trikrom boyaması ile, vena centralis çevresinde (VC) ve karaciğer stromasında mavi renkte boyanan kollajen lif (ko) dağılımı görülmekte .. 72

Resim 4.20. (A,B,C): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Pioglitazon uygulanan grupta Masson trikrom Boyaması ile, karaciğer stromasında, portal aralıkta, perivasküler alanda ve safra kanalları çevresinde mavi renkli kollagen lif (ko) dağılımı görülmekte 73

Resim 4.21. AFP immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol 83

Resim 4.22. Caspase-3 immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol 84

Resim 4.23. TNF-α immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol..... 85

Resim 4.24. p53 immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol 86

Resim 4.25. Normal bir karaciğere ait birkaç karaciğer lobülünün genel görünümü. Vena centralis'ten lobülün dış sınırlarına doğru uzanan poligonal görünümlü hepatositler ışınsal tarzda bir dizilim göstermekte. Perivasküler aralıkta v. porta, a. hepatica propria'dan gelen ince uç dallar ve safra yolları gözlenmekte 87

Resim 4.26. Ligasyon oluşturulmuş karaciğerde inflamasyona bağlı olarak karaciğer sinüzoidlerinde dilatasyona bağlı olarak düzensiz kıvrıntılı bir görünüm izlenmekte. Sinüzoidler arasındaki hepatositlerin düzgün ışınsal görünümlerinde bozulma izlenmekte. Karaciğer hücreleri poligonal görünümlerini kaybetmeye başlamış. Perivasküler sahada aşırı kollajen lif birikimi ve hasarlı sahada makrofaj infiltrasyonu gözlenmekte 87

Resim 4.27. Ligasyon oluşturulmuş karaciğerde enginar ekstraktı, Kolşisin ve Pioglitazon verimine bağlı olarak inflamasyona bağlı olarak karaciğer sinüzoidlerindeki düzensiz kıvrıntılı görünümün azaldığı izlenmekte. Sinüzoidler arasındaki hepatositlerin düzgün ışınsal görünümlerine kavuşmaya başladıkları izlenmekte. Karaciğer hücreleri poligonal görünümlerini yeniden kazanmaya başlamış. Perivasküler sahada kollajen lif birikimi ve hasarlı sahada makrofaj infiltrasyonu azalmaya başlamış..... 88

Resim 4.28. Normal ve safra yolu ligasyonu yapılarak hasar oluşturulmuş karaciğerde oluşan hasarların 3 boyutlu animasyonları 88

Resim **Sayfa**

Resim 4.29. A. Safra yolu ligasyonu yapılarak hasar oluşturulmuş olan Kontrol grubuna ait bir karaciğerin 3D yazıcı ile alınmış üç boyutlu çıktısı, B. Aynı modelin gerçeğe uygun şekilde maket boyası ile boyanmış hali, QR kod: Normal karaciğer ile hasarlı karaciğerin sanal Gerçeklik ortamında birbirleri ile karşılaştırılması, VC: vena centralis, S: sinüzoidal aralıklar 89

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µmol	Mikromol
cm	Santimetre
dl	Desilitre
gr	Gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
C^o	Santigrat
u	Ünite

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
a.	Arteria
A1AT	Alfa-1 Antitripsin
aa.	Arteriae
AFP	Alfa-Fetoprotein
ALB	Albümin
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	Alanine Aminotransferase
AMP	Adenosin Monophosphate

Kısaltmalar	Açıklamalar
AR	Augmented Reality
AST	Aspartate Aminotransferase
ATP	Adenosin Triphosphate
BCL2	B-Cell Lymphoma 2
BMP	Bone Morphogenic Protein
C.	Cynara
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CBMN	Sitokinez Blok Mikronükleus
CCK	Cholecystokinin
CCL4	Carbon Tetraklorür
Cl	Clor
DAB	Diaminobenzidine
DMN	Dimetilnitrozamine
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ER	Endoplazmk Retikulum
ESM	Ekstrasellüler Matriks
FAS	Fatty Acid Synthetase
FFA	Free Fatty Acid
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GLUT1/4/5	Glucose Transporter
GSH	Reduced Glutathion
GSH-px	Glutatione Peroksidaz
GÜBAP	Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
GÜET	Gazi Üniversitesi Deneyleri Yerel Etik Kurulu
H&E	Hematoxylin & Eosin
HBV/HCV	Hepatitis B Virus / Hepatitis C Virüs
HBx	Hepatitis B Virüs x Protein
Hco3	Bikarbonat
HDM	Hücre Dışı Matriks
H-MRS	Proton Manyetik Rezonans Spektroskopisi
HNF 3,4	Hepatocyte Nuclear Factor 3,4

Kısaltmalar	Açıklamalar
HSH	Hepatik Stellat Hücreleri
IL-8	İnterleukin -8
I/R	İskemi/Reperfüzyon
K	Potassium
KHK	Ketohekzokinaz
LDL	Low Density Lipoprotein
Lig.	Ligamentum
LSD	Least Significant Difference
LP	Lipit Peroksidasyon
LPS	Lipopolysaccharides
MCD	Methionine Choline Deficient Diet
MDA	Malondialdehit
MDH	Methanol dehydrogenase
Mn- TBAP	Mn(III) tetrakis (4-benzoic acid) Porphyrin chloride
MTX	Methotrexate
n.	Nervus
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NAFLD	Non Alcoholic Fatty Liver Disease
NAS NAFLD	Activity Score
NASH	Non Alcoholic Steatohepatitis
NDEA	N-nitrosodiethylamine
NF-KB	Nuclear Factor Kappa B
O2	Oksijen
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör
PGZ	Pioglitazone
PMNC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PPAR	Proliferator- Activated Receptors
r.	Ramus
ROS	Reactive Oxygen Species
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RZG	Roziglitazone

Kısaltmalar	Açıklamalar
SOD	Superoxide Dismutase
TAA	Thioacetamide
TAS	Total Antioxidant Status
T-B	Total Bilirubin
TG	Triglyceride
TGF-β	Transforming Growth Factor-β
TMCA	Trimethyl Colchicinic Acid
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α
TRAIL	TNF- Related Apoptosis Inducing Ligand
T- SH	Total- Free Sulfhydryl Groups
TOS	Total Oxidant Status
TZD	Tiazolidinedion
V.	Vena
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VR	Virtual Reality
vv.	Venae

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Farklı sebeplerle gelişen kronik karaciğer hastalıkları günümüzde oldukça yaygın olup, buna bağlı komplikasyonlar giderek artan bir sıklıkta önemli mortalite ve morbidite sebeplerinden biri haline gelmiştir. Günümüzde sirozlu bir karaciğer için tek etkili tedavi yöntemi karaciğer transplantasyonudur [1]. Ancak transplantasyon işleminin güçlükleri ve komplikasyonları nedeniyle anti-fibrotik tedavi arayışları sürmektedir. Son birkaç dekat içinde fibrozis mekanizmasını anlamaya ve bu mekanizmalar üzerine etkili ajanlar bulmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde fibrozisin ilerlemesini engelleyen çeşitli terapötik ajanlar tespit edilmiştir. Buna ek olarak, bilinenin aksine ilerlemiş fibrozisin kısmen de olsa geri dönüşlü olabileceği gösterilmiştir [2,3]. Diğer taraftan fibrozis oluşumunu veya ilerlemesini önlemeye yönelik arayışlar da hızla devam etmektedir.

Ana safra kanalı ligasyonuna bağlı olarak gelişen ekstrahepatik biliyer tıkanıklıkta, safra kanalında epitelyal hücre hiperplazisi, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve periportal fibrozis görülür [4]. Karaciğer fibrozisinin patogenezinde, serbest radikallerce oluşturulan oksidatif stres ve lipit peroksidasyonun'da (LP) etkili artış bulunmuştur [5, 6]. Oksidatif stres ve LP ürünleri hepatik stellat hücrelerini (HSH) uyararak kollajen sentezini arttırabilmektedir [7].

Sıçanlarda ana safra kanalı ligasyonu ile indüklenen karaciğer fibrozisi, insandaki birincil veya ikincil olarak gelişen karaciğer fibrozisine uygunluğu ve hızlı gelişmesi nedeniyle son zamanlardaki bilimsel çalışmalarda ilgi duyulan bir fibrozis modeli haline gelmiştir. Ana safra kanalı ligasyonu sıçanlara uygulandığında, karaciğerde başta kollajen olmak üzere hücre dışı matriks proteinlerinin arttığı bu modelin sıçanlarda sekonder olarak karaciğer fibrozisi gelişimi için uygun bir model olduğu bilinmektedir [8]. Bu nedenle birçok araştırmacı tarafından, karaciğer hasarı mekanizmalarını ortaya koymaya ve bu mekanizmaları önlemeye yönelik klinik ve deneysel çalışmalar yapılmaktadır [9]. Oluşan hepatotoksisitenin oksidatif stres ve LP'ye bağlı olduğu düşünüldüğünden, bu reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu engelleyecek bir madde üzerine tedavi yaklaşımları ortaya çıkmıştır. Bu amaçla kullanılabilecek maddelerden bazıları *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı, Kolşisin ve Pioglitazon'dır.

Cynara scolymus; Akdeniz ve Güney Avrupa bölgelerinde yetişen, Papatyagiller (Astracea ya da diğer adı Compositae) familyasının üyeleridir. *Cynara scolymus* mavi-mor renkli

çiçekleri olan ve yaklaşık 150 ila 200 cm boyunda çok senelik otsu bir bitkidir. Gövdeleri dik ve sert olup, boyuna oluklu yapıdadır. Yaprakları büyük, sapsız, oval ve parçalıdır. Çiçekler üst yaprakların koltuğundan çıkan, uzun sapların ucunda büyük başçıklar halinde bulunur. Çiçek tablası etlidir. Çiçekler tüp şeklinde ve tüylüdür [10]. Sebze olarak tüketilen enginarın çiçek ve yaprakları, halk arasında %23'lük infüzyonlar şeklinde iştah açıcı, idrar söktürücü, safra ve karaciğer rahatsızlığında kullanılmaktadır [11]. Bugüne kadarki geleneksel kullanımına ek olarak, son literatür araştırmalarında enginar yaprağı ekstresinin antidispeptik ve koleretik, kolesterol düşürücü ve hepatoprotektif etkinliğe sahip olduğu tanımlanmış ve bu amaçla kullanılmıştır. Deneysel ve klinik çalışmaların sonucunda, fitoterapide bir fenomen haline gelen enginar; gastrointestinal, metabolik ve kardiyovasküler pek çok hastalığın tedavisine uygun bir fitofarmasötiktir [12].

Kolşisin, (Colchicum automnale) adı verilen bitkiden elde edilen alkaloid bir maddedir. Gut artriti ve diğer romatizmal hastalıklara (Ailesel Akdeniz Ateşi, Romatoid Artrit, Behçet Hastalığı vb.) karşı etkin bir şekilde kullanılmaktadır [13]. Kolşisinin etkisi granülositlerin inflamasyonlu alana göç etmesini engelleme ve granülositlerin metabolik ve fagositik aktivitesini azaltma temeline dayanmaktadır. Ayrıca, Kolşisin antimitotik ve antifibrotik bir ajan olarak da bilinmektedir [14]. Kolşisinin, 129 farklı mikrotübül aracılı prokollagen taşınımını (microtubule-mediated transport of procollagen) yavaşlattığı ve kollagenaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir [15, 16]. Pek çok randomize klinik araştırmalarda, kolşisinin alkolik ve alkolik olmayan fibrozis ve siroz hastaları üzerinde bir etkiye sahip olup olmadığı sorusu irdelenmiştir. Randomize klinik araştırmalar Kolşisinin mortalitede azalmaya sebep olduğunu göstermiştir. Ancak bazı çalışmalar aksi yönde etkisinin varlığından da bahsetmektedir [17, 18, 19].

Pioglitazon; ilk olarak 1982 yılında Tiazolidinedion (TZD) grubu ilaçların ilk üyesi olan 'ciglitazon' olarak tanımlanmıştır. Ancak yeterli bir etkisi bulunmadığı ve çeşitli yan etkilere sahip olduğu için klinik kullanıma geçirilememiştir. Klinik olarak kullanıma giren ilk TZD ise 'troglitazon' dur. Ancak bu formun da şiddetli hepatotoksisite yapması nedeniyle, ilaç 2000 yılında kullanımdan çekilmiştir. Roziglitazon, Pioglitazon ile birlikte bugün için kullanımda olan iki TZD' dan birisidir [20].

Yakın zamanda Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR)'larının fibrozis mekanizmasında anahtar role sahip olduğu bilinen HSH aktivasyonunda rolleri olduğu

gösterilmiştir [21, 22]. PPAR-γ reseptörlerine bağlanarak etki gösteren TZD grubu bir antidiyabetik ilaç olan pioglitazonun (PGZ) fibrozisin ilerlemesini azalttığı şeklinde çalışmalar yayınlanmıştır [23-25]. Geçen yıllarda yapılan bir çalışmada TZD grubunun diğer üyesi olan Roziglitazon (RZG) isimli ilacın HSH aktivasyonunu engelleyerek kollajen sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir. Yine bu çalışmada HSH'lerin PPAR gama reseptörü taşıdığı ve aktive HSH'lerde ise bu reseptörlerin azaldığı belirtilmiştir [24].

Yukarıda belirtilen ve kısıtlı sayıdaki literatür bilgilerini temel alarak yapılması planlanan bu çalışmadaki amaç;

Sıçanlarda safra yolu ligasyonuna bağlı olarak engellenen safra drenajının karaciğerde oluşturduğu hasar ve bu hasarın önlenmesine yönelik yaklaşımlar tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, verilecek olan ajanların zamanla oluşacak olan hasarın seyrini gerileteceği amaçlanmıştır. Yapılmış çalışmanın sonucuna bağlı olarak, hepatik fibrozis ve dolayısıyla hasar gelişiminin gerilemesi durumunda, insanları etkileyen kronik hepatit B, hepatit C, otoimmün hepatit gibi pek çok hastalığın ileri aşamalarındaki tedavilerine, kullandığımız ajanları ekleyerek yaşam sürelerinin uzatılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Ayrıca Literatür bilgileri ışığı altında önerilen bu araştırmada, safra kanalı ligasyonu ile karaciğer hasarı indüklenen sıçanlarda ilk kez *Cynara scolymus* L.yaprak ekstraktı, Kolşisin ve Pioglitazon etkileri biyokimyasal, histopatolojik ve 3 boyutlu olarak karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen normal ve patolojik 3 boyutlu model, bu alandaki ilk 3D printer çıktısı olarak elde edilmiştir. Ayrıca elde edilen 3 boyutlu modelin VR ve AR gibi yeni teknolojilerle birleştirilerek, bu tür patolojilerin görsel amaçlı olarak Tıp ve Sağlık Bilimleri eğitiminde de kullanılması planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğerin gelişimi

Karaciğer, dördüncü haftanın başlarında ön bağırsağın distal kısmında diverticulum hepaticum olarak ortaya çıkar. Diverticulum hepaticum, kalp taslağı ve orta bağırsak arasında bir splanknik mezoderm'den oluşan olan septum transversum'a uzanır. Septum transversum bu bölgede ventral mezenteri oluşturur. Diverticulum hepaticum hızla genişler ve ventral mezogastriumun katmanları arasında büyüdükçe ikiye bölünür. Diverticulum hepaticum'un daha büyük kranial kısmı, primordium hepaticum adını alır. Çoğalan endodermal hücreler hepatosit kordonlarını oluşturur. Hepatosit kordonları, hepatik sinüzoidlerin primordiumu olan, içi endotel ile kaplı boşlukların etrafında anastomoz yapar. Karaciğerin fibröz ve hematopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri, septum transversum'daki mezenşimden köken alır. Karaciğer hızla büyür ve 5. haftadan 10. haftaya kadar üst karın boşluğunun büyük bir bölümünü doldurur. Başlangıçta, sağ ve sol loblar yaklaşık olarak aynı boyuttadır, ancak sağ lob kısa sürede daha büyük hale gelir. Hematopoez 6. haftada başlar ve karaciğere parlak kırmızımsı bir görünüm verir. Karaciğer dokuzuncu haftada, fetüsün toplam ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturur. Safra oluşumu ise hepatik hücreler tarafından 12. haftada başlar [26].

2.1.2. Karaciğerin makroskopik yapısı

Karaciğer vücuttaki en büyük bezdir ve deriden sonra en büyük tek organdır. Yaklaşık 1500 gr ağırlığındadır ve yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluşturur.

Yağ hariç, gastrointestinal sistemden emilen tüm besinler başlangıçta portal venöz sistem tarafından karaciğere iletilir. Birçok metabolik aktivitesine ek olarak, karaciğer glikojen depolar ve yağın emülsifikasyonuna yardımcı olan sarı-kahverengi veya yeşil bir sıvı olan safrayı salgılar [27].

Karaciğerin yüzey anatomisi, yüzleri ve periton yansımaları

Karaciğer esas olarak göğüs kafesi ve diaphragma tarafından korunur ve karın sağ üst kadranında yer alır. Karaciğer normalde sağ tarafta ve 7-11. kaburgaların derininde uzanır. Ancak sadece sağ tarafta olmayıp, orta çizgiyi geçerek sol meme başına doğru ilerler. Karaciğer regio hypochondriaca dextra'nın ve regio epigastrica'nın çoğunu kaplar ve regio hypochondriaca sinistra'ya kadar uzanır. Karaciğer diaphragma'nın hareketi ile hareket eder. Ağırlığı ve yerçekimi etkisi ile ayağa kalkıldığında biraz daha aşağıda yer alır.

Karaciğer dış bükey olan facies diaphragmatica (ön yüz, üst yüz ve arka yüzün bir bölümü) ve nispeten düz ve hatta içbükey olan facies visceralis'e (arka alt yüz) sahiptir ve bunlar önde diaphragma'nın altındaki sağ arcus costalis'i takip eden keskin bir alt sınırı (margo inferior) ile ayrılır (şekil 1.1).

Karaciğerin facies diaphragmatica'sı düzgün ve bir kubbe yapısı şeklindedir. Burası diaphragma'nın alt yüzünün içbükey olması ile ilişkilidir. Diaphragma; karaciğeri pleura'dan, akciğerlerden, pericardium'dan ve kalpten ayırır. Diaphragma ile karaciğerin facies diaphragmatica'sının ön ve üst kısımları arasında recessus subphrenicus adı verilen bir çıkmaz bulunur. Recessus subphrenicus, karaciğer ile karın ön duvarı arasında uzanan ligamentum falciforme ile sağ ve sol olmak üzere iki bölüme ayrılır. Periton boşluğuna ait olan suprakolik kompartmanının karaciğerin altında kalan bölümü recessus subhepaticus olarak adlandırılır.

Recessus hepatorenalis, karaciğerin visseral yüzünün sağ kısmı ile sağ böbrek ve glandula suprarenalis dextra arasında yer alan recessus subhepaticus'un arka-üst uzantısıdır. Recessus hepatorenalis; sağ recessus subphrenicus ile önde iletişim kurar [27].

Karaciğerin facies diaphragmatica'sı, arkadaki karaciğerin çıplak bölgesi (Area nuda) dışında, visseral periton ile kaplıdır. Area nuda; peritonun diaphragma'dan karaciğerin facies diaphramatica'sı üzerine atlayarak, lig. coronarium'un ön (alt) ve arka (üst) tabakalarını oluşturması ile sınırlandırılır. Bu tabakalar sağda birleşerek lig. triangulare dextrum'u oluşturur ve üçgen şekilli area nuda'yı çevrelemek için sola doğru uzaklaşır. Ligamentum coronarium'un ön yaprağı solda lig. falciforme'nin sağ tabakası ile devam ederken, arka tabaka ise omentum minus'un sağ yaprağı ile devam eder. Kama şeklinde bir yapı olan

karaciğerin üst bölümü yakınında, lig. coronarium'un sol kısmının ön ve arka yaprakları, lig. triangulare sinistrum'u oluşturmak için birleşir. Karaciğerin area nuda'nın içinde vena cava inferior'un yukarı doğru ilerlemesi için derin bir oluk (Sulcus venae cavae) bulunur [27] (şekil 1.2).

Karaciğerin facies visceralis'i, fossa vesicae biliaris ve porta hepatis hariç, visseral periton ile kaplıdır. Düzgün bir yüzeye sahip olan facies diaphragmatica'nın aksine, facies visceralis diğer organlarla temastan kaynaklanan çukurlar ve yarıklar içerir.

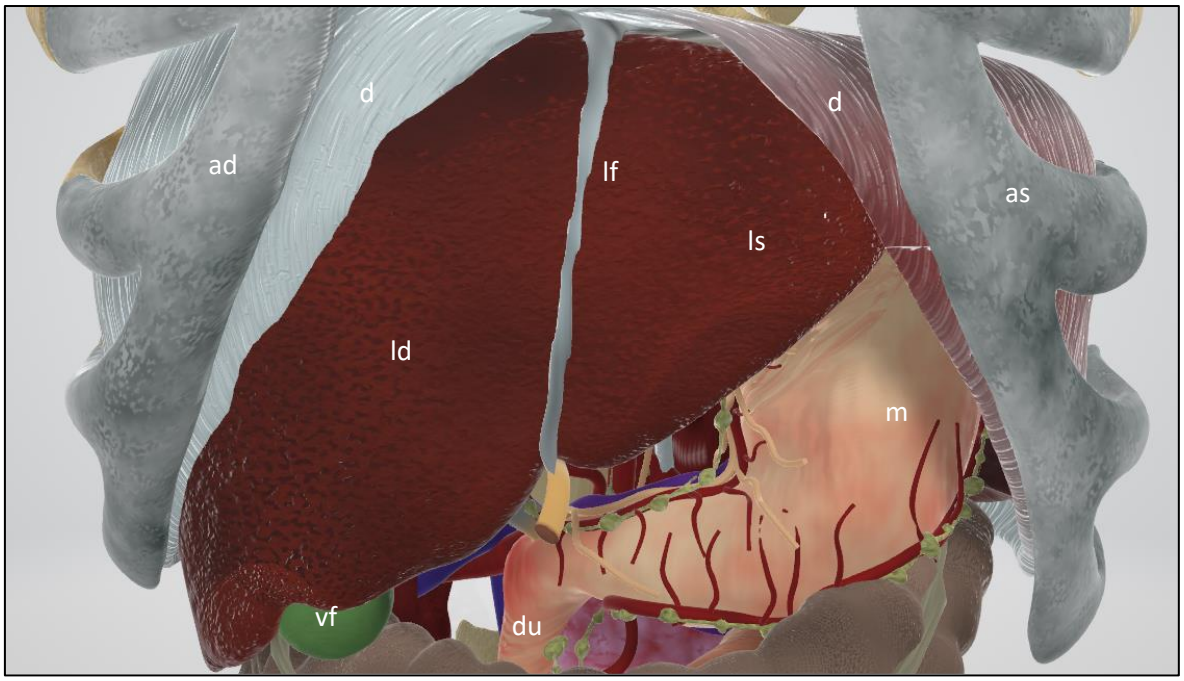
Transvers yönelimli porta hepatis ile merkezde birbirine bağlanan iki sagittal yönelimli olukla birlikte visseral yüzeyde bir 'H' harfi oluşturur. Sulcus sagittalis dextra, önde fossa vesicae biliaris tarafından ve arkada sulcus venae cavae tarafından oluşturulan oluktur. Fissura sagittalis sinistra ise, önde fissura ligamenti teretis tarafından ve arkada fissura ligamenti venosi tarafından oluşturulan bir oluktur. Ligamentum teres hepatis, plasentadan fetusa oksijenden ve besinden zengin kan taşıyan v. umbilicalis'in kalıntısıdır. Ligamentum teres hepatis ve vv. paraumbilicales, lig. falciforme'nin serbest kenarında ilerler. Ligamentum venosum ise, fetal ductus venosus'un fibröz kalıntısıdır.

Ductus biliaris, a. hepatica propria ve vena porta tarafından oluşturulan portal triadı çevreleyen omentum minus, karaciğerden midenin curvatura minor ve pars superior duodeni'nin ilk 2 cm'lik bölümüne doğru ilerler. Omentum minus'un kalın, serbest kenarı, porta hepatis ile duodenum arasında uzanır ve lig. hepatoduodenale adını alır. Ligamentum hepatoduodenale'de içinden geçen yapılar, porta hepatis'ten geçen yapıları çevreler. Omentum minus'un geri kalan kısmına lig. hepatogastricum denir. Ligamentum hepatogastricum ise fissura ligamenti venosi ile midenin curvatura minor'u arasında uzanır.

Yarıklara ek olarak, facies visceralis üzerindeki izler (impressiones) karaciğerin aşağıdaki organ ve yapılarla olan ilişkisini gösterir [27]:

- Midenin ön tarafının sağ tarafı (impressio gastrica).
- Pars superior duodeni (impressio duodenalis).
- Omentum minus (fissura ligamenti venosi).
- Safra kesesi (fossa vesicae biliaris).
- Flexura coli dextra ve colon transversum'un sağ parçası (impressio colica).

- Sağ böbrek ve sağ suprarenal bez (impressio renalis ve impressio suprarenalis)



Şekil 2.1. Karaciğerin yüzey anatomisi. ad: sağ arcus costalis, as: sol arcus costalis, d: diaphragma, ld: lobus dexter, ls: lobus sinister, lf: lig. falciforme, m: mide, d: duodenum, vf: vesica fellea (Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER tarafından çizilmiştir)

Karaciğerin anatomik lobları

Karaciğer, dışarıdan parietal peritonun ön yüzüne atlaması ile iki anatomik loba ve iki aksesuar loba ayrılır. Bu yüzeysel lob görünümü gerçek değildir, çünkü lob terimi genellikle bezlerle ilgili olarak kullanılır ve sadece ikincil olarak karaciğerin iç mimarisi ile ilgilidir. Ligamentum falciforme ve fissura sagittalis sinistra'nın bağlanmasıyla tanımlanan esasen orta hat düzlemi, büyük olan lobus hepatis dexter ve çok daha küçük olan lobus hepatis sinister'i birbirinden ayırır. Facies visceralis'de iki yardımcı lob daha bulunur: Bunlar önde ve hafif aşağıda olan lobus quadratus ve arkada ve hafif yukarıda olan lobus caudatus'tur. Lobus caudatus, kaudal pozisyonda olduğu için değil, genellikle uzamış bir processus papillaris şeklinde bir "kuyruk" oluşturduğu için böyle adlandırılmıştır. Lobus caudatus, v. cava inferior ile porta hepatis arasında uzanır [27].

Karaciğerin işlevsel alt bölümü

Parankimin sürekli bulunduğu ve dahili olarak belirgin bir şekilde sınırlandırılmamasına rağmen, karaciğer anatomik loblara göre çok daha eşit boyutta işlevsel olarak bağımsız sağ ve sol loblara sahiptir. Bununla birlikte, sağ lob sola göre işlevsel olarak hala biraz daha büyüktür. Her bölüm a. hepatica'nın ve v. porta'nın kendi birincil dalını alır ve kendi ductus hepaticus'u tarafından boşaltılır. Lobus caudatus aslında üçüncü bir lob olarak kabul edilebilir. Kanlanması portal triadın bifürkasyonundan bağımsızdır (yani her iki demetten damarlar alır) ve v. cava inferior distaline giren bir veya iki küçük vena hepatica tarafından boşaltılır. Karaciğer ayrıca dört bölüme ayrılabilir ve daha sonra her biri sırasıyla portal triadın sekonder veya tersiyer bir dalı tarafından bağımsız olarak kanlandırılan sekiz (cerrahi olarak rezekte edilebilen) hepatik bölüme ayrılabilir [27].

Karaciğerin cerrahi segmentleri

Lobus caudatus (segmentum I) hariç, karaciğer, portal triadın primer dallanmasına dayanarak sağ ve sol loblara ayrılır. Vena hepatica intermedia'nın bulunduğu fissura portalis principalis, sağ ve sol loblar arasındaki düzlemi oluşturur. Facies visceralis'de, bu düzlem sulcus sagittalis dextra ile sınırlandırılmıştır. Düzlem, hayali bir çizgidir (Cantlie çizgisi), fundus vesicae biliaris çentiğinden v. cava inferior'u birleştiren çizgiyi tahmin ederek facies diaphragmatica üzerinde sınırlandırılmıştır. Sağ ve sol loblar, v. hepatica dextra'nın bulunduğu fissura portalis dextra ve v. hepatica sinistra'nın bulunduğu fissura umbilicalis ile dikey olarak medial ve lateral bölümlere ayrılır. Dört bölümün her biri portal triadın sekonder dalları tarafından kanlandırılır. Portal triadin sağ ve sol dallarının yatay kısımları seviyesindeki enine bir hepatik düzlem; dört bölümden üçünü alt bölümlere ayırır ve her biri üçüncül dalları alan altı hepatik segment oluşturur. Sol lobun medial bölümü (divisio medialis sinistra) aynı zamanda hepatik bir segment olarak sayılır, böylece karaciğerin ana kısmı da tanımlayıcı bir isim verilmiş olan yedi segmente (saat yönünde numaralandırılmış II–VIII segmentler) sahiptir. Lobus caudatus (toplam segment sayısını sekize getiren segment I) her iki bölümün damarları tarafından beslenir ve kendi küçük hepatik venleri vardır [27].

Burada açıklanan segmentasyon modeli en yaygın model olmakla birlikte, segmentler hepatik ve portal damarların dallanmasındaki bireysel varyasyonun bir sonucu olarak boyut

ve şekil bakımından önemli ölçüde farklılık gösterir. Hepatik segmentler klinik olarak "Hepatik Lobektomi ve Segmentektomi" açısından önemlidir [27].

Karaciğerin kan damarları

Karaciğer, akciğerlerde olduğu gibi, baskın bir portal venöz sistem ve arteriyel bir kan kaynağına (afferent damarlar) sahiptir. Vena portae hepatis, kanın %75-80'ini karaciğere getirir. Sistemik dolaşımdan kalbe dönen kandan yaklaşık %40 daha fazla oksijen içeren portal kan, karaciğer parankimini (karaciğer hücreleri veya hepatositler) kanlandırır. Vena portae hepatis, sindirim sistemi tarafından emilen hemen hemen tüm besinleri (lipidler hariç) karaciğerin sinüzoidlerine taşır. Karaciğer tarafından alınan kanın sadece %20-25'ini a. hepatica propria oluşturur. Arteria hepatica propria'dan arteryel kan, başlangıçta parankimal olmayan yapılara, özellikle intrahepatik safra kanallarına dağıtılır.

Kısa ve geniş bir damar olan v. portae hepatis, collum pancreatis'in arkasında v. splenica (lienalis) ile v. mesenterica superior'un birleşmesi ile oluşur. Ligamentum hepatoduodenale'deki portal triad'ın bir parçası olarak v. cava inferior'un önüne çıkar. Truncus coeliacus'un bir dalı olan a. hepatica communis, truncus coeliacus'dan çıktıktan sonra a. gastroduodenalis'i verinceye kadar sağa doğru ilerler. Bu dalı verdikten sonra a. hepatica propria olarak karaciğere doğru devam eder. Arteria hepatica propria ve v. porta, porta hepatis veya yakınında, ramus dexter ve ramus sinister diye adlandırılan sağ ve sol dallarına ayrılarak sonlanır. Bu birincil dallar karaciğerin sağ ve sol loblarını kanlandırır. Karaciğerin sağ ve sol loblarında, v. porta ve a. hepatica propria'nın sekonder dallanmaları olan divisio medialis ve divisio lateralis kanlanmayı sağlar. Dört sekonder daldan üçü, sekiz hepatik segmentten yedisini bağımsız olarak beslemek için tersiyer dallanmalar gösterir [27].

Karaciğer bölümleri arasında bulunan ve segmentlerin parçalarını boşaltan v. hepatica dextra, v. hepatica intermedia ve v. hepatica sinistra bulunur. Hepatik parankimdeki v. centralis'leri boşaltan toplayıcı damarların birleşmesiyle oluşan v. hepatica'lar v. cava inferior'a açılır (şekil 1.2).

Karaciğerin limfatik drenajı

Karaciğer önemli bir limfa sıvısı üreten organdır. Ductus thoracicus'a giren lenfin dörtte biri ile yarısı arasındaki miktarı karaciğerden gelir.

Karaciğerin limfa damarları; dış yüzeyini oluşturan ve subperitoneal olan tunica fibrosa'da (Glisson kapsülü) yüzeysel limfatikler ile portal triad ve hepatik venlere eşlik eden bağ dokusundaki derin limfatikler olarak ortaya çıkar. Limfa damarlarının çoğu perisinüzoidal boşluklarda (Disse aralığı) oluşur ve çevredeki intralobüler portal triaddaki derin limfatiklere doğru akar.

Karaciğerin diyafragmatik ve visseral yüzeylerinin ön yüzlerinden yüzeyel limfatikler ve portal triada eşlik eden derin limfatik damarlar porta hepatise doğru birbirleri ile birleşir. Yüzeyel limfatikler, omentum minus'daki hepatik damarlar ve kanallar boyunca dağılmış nodi hepatici'ye drene olur. Nodi hepatici'den gelen efferent limfatik damarlar, nodi coeliaci'ye drene olur. Bunlar da cisterna chyli içine drene olur [27].

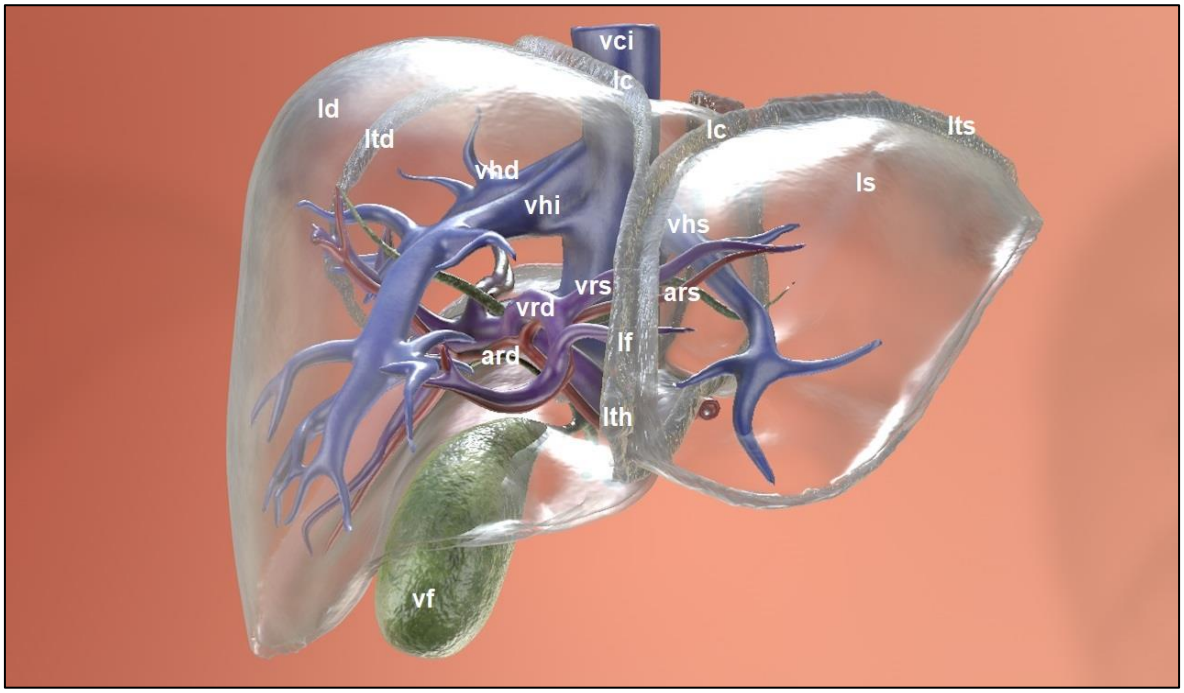
Karaciğerin diyafragmatik ve visseral yüzlerinin arka taraflarından gelen yüzeysel limfatikler, karaciğerin üst bölümündeki area nuda'ya doğru akar. Buradan da nodi phrenici'ye drene olur veya v. cava inferior ile birleşen hepatik venlere eşlik eden derin limfatiklere katılırlar. Bu büyük damarla birlikte diyafragma'dan geçerek mediastinum posterius'taki limfa düğümlerine drene olurlar. Bu düğümlerden gelen efferent limfatik damarlar, ductus lymphaticus dexter ve ductus thoracicus'a katılır.

Birkaç limfatik damar farklı yolları takip eder:

- Karaciğerin sol lobunun arka yüzeyinden diyafragmadaki hiatus oesophageus'a doğru gelen damarlar nodi gastrici sinistri'de sona erer.
- Ligamentum falciforme hepatis boyunca ilerleyen facies diaphragmatica'nın ön orta kısmının limfatikleri nodi parasternales'e drene olurlar.
- Ligamentum teres hepatis boyunca, ilerleyen limfa damarları ise karın ön duvarı ve umbilicus çevresindeki limfa damarlarına dökülür [27].

Karaciğerin innervasyonu

Karaciğerin sinirleri, plexus coeliacus'un en büyük ağı olan plexus hepaticus'tan gelir. Plexus hepaticus; v. porta hepatis ve a. hepatica propria'ya eşlik ederek, birlikte karaciğere gelir. Bu pleksus, plexus coeliacus'tan gelen simpatik liflerden ve truncus vagalis anterior ve truncus vagalis posterior'dan gelen parasimpatik liflerden oluşur. Portal triadın damarlarına ve safra kanallarına ulaşana kadar sinir lifleri damarlara eşlik eder. Bu sinirlerin, vazokonstriksiyon dışında işlevleri belirsizdir [27].



Şekil 2.2. Karaciğerin önden görünümü. Ld: lobus dexter, ls: lobus sinister, vci: vena cava inferior, lc: lig. coronarium-ön yaprağı, lts: ligamentum triangulare sinistrum, ltd: lig. triangulare dextrum, vhd: vena hepatica dextra, lf: lig. falciforme, lth: lig. teres hepatis, vhs: v. hepatica sinistra, vhi: v. hepatica intermedia, vrd: v. porta-r. dexter, vrs:v. porta-r. sinister, ars: a. hepatica propria'nın r. sinister'i, ard: a. hepatica propria'nın r. dexter'i, vf: vesica fellea (Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER tarafından çizilmiştir)

2.1.3. Karaciğerin mikroskopik yapısı

Karaciğer, birkaç farklı açıdan görülebilen karmaşık bir mikroskobik yapıya sahiptir. Karaciğer dokusu yaklaşık %80 oranında parankimal yapıdadır. Parankimal yapı, ışınsal tarzda ve kordonlar halinde düzenlenmiş hepatositlerden ve aralarındaki karaciğer sinüzoidlerin de oluşur. Kalan %20'si ise organı çevreleyen Glisson kapsülü ve parankimi destekleyen stromadır [28].

Karaciğer aşağıdaki ana histolojik bileşenlerden oluşur:

- Parankim, hepatositlerle temsil edilir.
- Stroma, Glisson'un çevreleyici kapsülünün bir devamıdır. Bağ dokusundan oluşur ve damarlar içerir.
- Sinüzoidler, hepatositler arasında dolaşan genişlemiş kan damarlar'dır.
- Disse boşlukları (perisinüsoidal boşluklar), hepatositler ve sinüsoid endotel hücreleri arasında bulunur.

Karaciğer, tüm organın genel olarak uygun aktivitesini sağlamak için uyum içinde çalışan çok sayıda mikroskobik işlevsel bişimlerden oluşur. Bunlar; Hepatik (klasik) lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü'dür.

Hepatik (klasik) lobül

Klasik lobül, geleneksel tanımdır. Köşelerde portal alanları ve merkezde terminal hepatik venül (santral ven) olan poligonal birimlere klasik hepatik lobül denir. Portal alanda v. porta'nın bir dalı, a.hepatica'nın bir dalı ve safra kanalı bulunur. Karaciğer parankimini oluşturan hepatositler, biri diğerinin üzerinde olacak şekilde kordonlar halinde görülürler. Hepatik sinüzoidler, hepatosit kordonları arasında v. centralis'den perifere akar. Sinüzoidler, endotel hücreleri ile çevrilidir. Sinuzoid endotel hücreleri ve hepatositler arasındaki aralık Disse Aralığı adını alır [28-30].

Portal lobül

Klasik lobül görünümü kan akışına ve hepatik kitle düzenine odaklanırken, portal lobül görünümü karaciğerin ekzokrin fonksiyonu (safra salgısını) göz önünde bulundurularak tasarlanmıştır. Bu durumda, her işlevsel birim bir üçgendir. Dış kenarları, üç klasik karaciğer lobülündeki v. centralis'leri birleştiren hayali çizgilerdir. Üçgenin kapsadığı alan da, üç lobül tarafından oluşturulan safra, ortadaki portal alandaki ortak safra kanalına akar [28-30].

Karaciğer asinüsü

Klasik hepatik lobülden daha küçük ve görülmesi daha zordur, ancak birçok hastalıkla ilişkili metabolik ve patolojik değişiklikleri tanımlamada en iyi olduğu için fonksiyonel ve klinik

olarak yararlıdır. Karaciğer asinus fonksiyonel birimi oval şekildedir. Kısa ekseni iki klasik hepatik lobülün sınırı boyunca uzanır. Uzun ekseni ise, kısa eksene en yakın iki v. centralis arasındaki hayali bir çizgidir. Asinustaki hepatositler, kısa eksen etrafında üç eş merkezli, eliptik bölgede düzenlenir. Böylece, karaciğer asinusunun her bir yarısı üç bölgeye ayrılabilir:

Zon I; En iç bölgesinde olan, portal ven ve hepatik arterin dağıtım dallarına en yakın olanıdır. Zon 1'deki hepatositler en yüksek miktarda oksijen alır.

Zon II; Bölge 1 ve 3 arasında yer alan bölgedir.

Zon III; Kısa eksenden en uzak, fakat santral vene en yakın olanıdır, bu nedenle hepatositler en az miktarda oksijen alır.

Üç bölgedeki birçok hepatik enzim için bir metabolik aktivite gradyanı mevcuttur. Zon 3 yetersiz oksijenlidir, metabolizma değişirse iskemik nekroz ve yağ birikimini gösteren ilk bölgedir ve çoğu ilaç ve alkol detoksifikasyonunun yapıldığı yerdir [28-30].

2.1.4. Karaciğerin işlevleri

Karaciğer hem endokrin hem de ekzokrin işlev gösteren, aşağıda özetlenen birçok işleve sahip bir organdır.

Metabolik işlevler

İlk olarak; Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında önemli bir rol oynar. Glikojen depolanması, galaktoz ve fruktozun glikoza dönüştürülmesi ve glukoneogenez gibi görevleri vardır. Karaciğer ayrıca yemek sonrası dönemde kan şekeri seviyelerinin stabilitesini korumada, fazla glikozu kandan uzaklaştırmada ve gerektiğinde geri vermede önemli bir rol oynar. Benzer şekilde karaciğer yağ metabolizmasına da katkıda bulunur. Karaciğerin kendisine ve diğer organlara enerji sağlanması için yüksek oranda yağ asidi oksidasyonunu destekler. Amino asitler ve karbonhidratlardan türetilen iki karbon parçası da karaciğerde depolanmak üzere yağlara dönüştürülür. Karaciğer ayrıca vücudun ihtiyaç duyduğu lipoproteinlerin çoğunu sentezler ve bu molekülü sentezleyerek kolesterol homeostazını korur ve ayrıca fazla kolesterolü safra asitlerine dönüştürür [31].

Detoksifikasyon işlevi

Karaciğer ayrıca bağırsaktan veya vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan maddeleri detoksifiye eder. Bu işlevin bir kısmı doğası gereği fizikseldir. Bakteri ve diğer parçacıklar stratejik olarak yerleştirilmiş Kupffer hücreleri tarafından tutulur ve parçalanır. Kalan reaksiyonlar biyokimyasaldır ve ilk aşamalarında hepatositlerde eksprese edilen çok sayıda sitokrom P450 enzimi aracılık eder. Bunlar, ksenobiyotikleri ve diğer toksinleri inaktif, daha az lipofilik metabolitlere dönüştürür. Sonuçta, metabolitler gastrointestinal sistem yoluyla eliminasyon için safraya salgılanır. Bu bağlamda, karaciğer, ilaçların atılmasının yanı sıra, esasen tüm steroid hormonların metabolizmasından da sorumludur [31].

Plazma proteinlerinin sentezi işlevi

Karaciğer tarafından sentezlenen proteinler albümin, pıhtılaşma faktörleri ve steroid bağlayıcı proteinlerdir. Albümin kantitatif olarak en önemli olanıdır ve plazma onkotik basıncını oluşturur. Karaciğer tarafından sentezlenmeyen tek ana plazma protein sınıfı immünoglobulinlerdir [31].

Amonyak metabolizması ve boşaltılması işlevi

Karaciğer vücutta amonyak kullanımı için kritik öneme sahiptir. Amonyak değerleri, merkezi sinir sistemi için toksik olduğu için dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Karaciğer, tam üre döngüsünün ifade edildiği tek organdır. Karaciğer, dolaşımdaki amonyağı daha sonra idrarla atılabilen üreye dönüştürür [31].

2.2. Safra Kesesi ve Safra Yolları

2.2.1. Safra kesesi ve safra yollarının gelişimi

Safra kesesi ve safra yolları 4. haftanın başlarında ön bağırsağın kaudal kısmındaki diverticulum hepaticum'dan ortaya çıkar. Diverticulum hepaticum'un küçük kaudal kısmı safra kesesini oluşturur. Divertikülün sapı ise safra kanalını oluşturur. Başlangıçta ekstrahepatik biliyer sistem epitel hücreleri ile tıkanır, ancak daha sonra bu hücrelerin dejenerasyonundan kaynaklanan vakuolizasyon nedeniyle tıkalı kanal açılır. Hepatik ve safra kanallarını duodenum'a bağlayan ductus choledochus'u oluşturur. Başlangıçta, bu

kanal duodenal halkanın ventral yönüne bağlanır; ancak duodenum büyüyüp döndükçe, safra kanalının girişi duodenum'un dorsal yüzüne taşınır. Onüçüncü haftadan sonra safra kanalından duodenum'a giren safra, mekonyuma koyu yeşil renk verir [26].

2.2.2. Safra kesesi ve safra yolların makroskopik yapısı

Safra kesesi (Vesica biliaris ya da vesica fellea)

Safra kesesi, sağ üst kadranda, karaciğerin facies visceralis'indeki fossa vesicae biliaris (fellea)'te yer alan armut şeklinde bir kesedir.

Safra kesesi 50 ml'ye kadar safra depolayabilir. Periton, safra kesesinin fundus vesica biliaris'ini tamamen çevreler ve corpus vesica biliaris'ini ve collum vesica biliaris'ini karaciğere bağlar. Safra kesesinin hepatik yüzeyi, karaciğerin fibröz kapsülünün bağ dokusu ile karaciğere bağlanır.

Safra kesesi üç bölümden oluşur

- Fundus vesicae biliaris (felleae): Linea medioclavicularis'in sağ 9. cartilago costalis ile kesiştiği yerde ve karaciğerin alt sınırından çıkıntı yapan geniş künt olarak sonlanan bölümüdür.
- Corpus vesicae biliaris (fellea): Karaciğerin facies visceralis'i, colon transversum ve pars superior duodeni ile temas eden ana kısımdır.
- Collum vesicae biliaris (felleae): Fundus'un karşısında, porta hepatis'e doğru yönelen ve ductus cysticus ile birleşen dar, sivrilen kısımdır [27].

Boyun ve corpus arasındaki bölüme infundibulum vesicae biliaris (felleae) denir. Bu bölüm safra taşlarının en sık yerleştikleri yerdir. Safra kesesi boynundaki ve ductus cysticus'un duvarındaki spiral şeklinde müköz membran katlantılarına Heister plikaları adı verilir [28,29].

Safra kesesinin kan damarları

Safra kesesi, arteria hepatica propria'nın ramus dexter'inin bir dalı olan arteria cystica tarafından kanlandırılır. Arteria cystica safra kesesi boynu hizasında iki dala ayrılır. Ön dal

kesenin alt yüzünde, arka dal ise kesenin karaciğere yapışık olan üst yüzünde dağılır. Bu arter terminal dal olduğundan dolayı herhangi bir nedenden bağlanırsa, safra kesesinin beslenmesi bozulur [27].

Safra kesenin boynunun venöz drenajı, v. cystica'lar aracılığı ile olur ve devamında v. porta'ya ya da doğrudan karaciğerdeki hepatik venöz sinüzoidlere dökülür [32]. Safra kesesinin fundus ve gövdesinden gelen damarlar doğrudan karaciğerin visseral yüzeyine geçer ve hepatik sinüzoidlere akar.

Safra kesesinin limfatik drenajı

Safra kesesinin limfatik drenajı, genellikle safra kesesi boynu yakınında bulunan nodus cysticus yoluyla nodi hepatici'ye dökülür. Bu düğümlerden efferent limfatik damarlar nodi coeliaci'ye geçer.

Safra kesesinin innervasyonu

Safra kesesinin innervasyonu, plexus coelicus'tan gelen liflerle innerve olur. Bu lifler nervus vagus ve n. splanchnicus major ve minor'dan gelen parasimpatik ve simpatik liflerden oluşur [33, 34]. Duyusal lifler n. phrenicus aracılığıyla taşınır ve n. supraclavicularis'te bu sinirle birlikte medulla spinalis'in aynı segmentinden çıktığından karaciğer ağrısı sağ omuz veya iki scapula arasında hissedilebilir. Ağrı duyusu plexus coeliacus ve n. splanchnicus major içindeki afferent sinir lifleri ile medulla spinalis'in torakal segmentlerine gelir. Böylece vuran ağrı sağ üst kadran ve regio epigastrica'da hissedilir [35-37].

Safra yolları

Safra kanalları safrayı karaciğerden duodenum'a iletir. Safra karaciğer tarafından sürekli olarak üretilir, safra kesesinde depolanır ve konsantre edilir. Ağızdan alınan gıdalardaki yağ duodenum'a girdiğinde aralıklı olarak serbest bırakılarak duodenum'a akıtılır.

Hepatositler, aralarında bulunan safra kanalcıklarına doğru safra salgılar. Kanaliküller interlobüler safra kanallarına ve daha sonra intrahepatik portal triadın büyük toplayıcı safra kanallarına drene olur. Bunlar da birleşerek ductus hepaticus dexter ve sinister'i oluşturur. Ductus hepaticus dexter ve ductus hepaticus sinister karaciğerin sağ ve sol loblarından gelen

safrayı direne eder. Porta hepatis'ten ayrıldıktan kısa bir süre sonra bu hepatik kanallar birleşerek ductus hepaticus communis'i oluştururlar. Ductus hepaticus communis, sağ tarafta ductus cysticus ile birleşerek, safrayı duodenuma taşıyan ductus choledochus (biliaris)'u oluşturur [27].

Ductus cysticus

Ductus cysticus, 3-4 cm uzunluğundadır. Safra kesesinin boynunu ductus hepaticus communis'e bağlar ve omentum minus'un ligamentum hepatoduodenale adlı parçasının iki yaprağı arasında uzanır. Collum vesicae biliaris'in mukozası spiral bir şekide kıvrılarak plica spiralis'i oluşturur. Plica spiralis, ductus choledochus'u açık tutmaya yarar. Plica spiralis ayrıca ductus choledochus'un sfinkteri kapandığında ve hapşırma veya öksürme sırasında olduğu gibi intraabdominal basınç aniden arttığında safranın ani boşalmasına karşı ek bir direnç sağlar [27].

Ductus biliaris (Ductus choledochus)

Ductus choledochus, ductus cysticus ve ductus hepaticus communis'in birleşmesiyle omentum minus'un serbest kenarında oluşur. Ductus choledochus'un uzunluğu, ductus cysticus'un ductus hepaticus communis ile nerede birleştiğine bağlı olarak 5 ile 15 cm arasındadır.

Ductus choledochus pars superior duodeni'nin arkasında aşağıya iner ve caput pancreatis'in arka yüzeyinde bir oluk içinde yer alır. Ductus choledochus, pars descendens duodeni'nin sol tarafında ductus pancreaticus ile temas halindedir. Bu kanallar duodenum'un bu bölümünde duvardan oblik bir şekilde geçerler ve burada birleşerek bir genişleme (ampulla hepatopancreatica) oluştururlar. Ampullanın distal ucu, papilla duodeni major yoluyla duodenuma açılır. Ductus choledochus'un distal ucunun etrafındaki sirküler kas, m. sphincter ductus choledochi'yi oluşturmak üzere kalınlaşır. Ductus choledochus dört bölümde incelenmektedir:

1) Supraduodenal bölüm (pars supraduodenalis).
2) Retroduodenal bölüm (pars retroduodenalis).
3) Retroopankreatik bölüm (pars pancreatica).

4) İntramural bölüm (pars intraduodenalis/intramuralis) [27].

Ekstrahepatik safra yollarının kanlanması

Proksimalde a. hepatica propria'nın r. dexter'i ve a. cystica'dan, distalde a. gastroduodenalis ve onun dalları olan aa. retroduodenales ve a. pancreaticodudenalis superior posterior'dan gelir. Bu arterler saat 3 ve 9 hizasında dallar vererek ductus hepaticus communis ve ductus choledochus'u kanlandırmaktadır (38,39).

Ekstrahepatik safra yollarının innervasyonu

Ekstrahepatik safra yolları otonom sinir sistemi tarafından innerve edilir. Simpatiklerini n. splanchnicus major (T8-9); parasimpatikleri ise n. vagus ile gelir. Önce plexus coeliacus'u oluşturan bu lifler, daha sonra a. hepatica communis ve devamında a. hepatica propria üzerinde ilerleyerek, plexus hepaticus'u oluştururlar. Plexus hepaticus'un ön bölümü ductus cysticus ve ductus hepaticus dexter, ductus hepaticus sinister ve ductus hepaticus communis'e; arka bölümü ise ductus choledochus'a lifler gönderir. Bu pleksus içinde ilerleyen afferent lifler ekstrahepatik safra yollarının duyusunu taşır. Simpatik lifler Oddi sfinkterinin kasılmasını sağlayarak, safranın birikmesine neden olur. Parasimpatik lifler ise safra kesesi ve safra kanallarındaki kaslarda kasılma yapar. Böylece safranın duodenum'a boşaltılmasını sağlarlar [40-44].

2.2.3. Safra kesesi ve safra yolların mikroskopik anatomisi

Safra kesesinin mikroskopik anatomisi

Safra kesesi duvarı 4 tabakadan oluşmaktadır.

1) Tunica mucosa: Tek katlı prizmatik epitel hücrelerinden ve gevşek bağ dokusu yapısındaki lamina propria'dan meydana gelmiştir. Safra kesesinin boş olduğu durumda Heister plikaları görülürken, kese gerilince kaybolurlar. Kese lümenindeki su ve klorür ince apikal mikrovillüsler tarafından alınıp, epitel altındaki kan damarına yollanır ve böylelikle safra yoğunlaştırılır. Epitel altındaki lamina propria, sadece boyun kısmına yakın bulunur ve safradaki mukusun kaynağını oluşturur. Ayrıca, safra kesesinde lamina muskularis mukosa ve submukosa katmanları bulunmaz.

2) Tunica muscularis: İki katlı düz kas lifleri olmak üzere, her yönde seyreden, ağ şeklinde bir yapı oluşturur. Bu kas dokusu organın kontraksiyonunu sağlar.
3) Lamina perimuskularis: Muskuler tabakayı sarar.
4) Tunica serosa: Kasların dış kısmında adipoz doku ve kan damarları içeren bir seröz tabaka bulunmaktadır [45]. Safra kesesinin karaciğere temas eden üst yüzü hariç her tarafını örter [46].

Safra yolların mikroskopik anatomisi

Safra yolu duvarı 3 tabakadan oluşur:

1) Tunica mucosa: Tek katlı prizmatik epitel yapısındadır. Epitel hücreleri, esas olarak apikal kısımlarında yoğunlaşan lizozomlar ve mitokondri bakımından zengindir. İşlevsel olarak salgılama ve emilim yaparlar.
2) Tunica muscularis: Genellikle kas tabakası dış ve iç olmak üzere iki tabaka ile ifade edilir ve aralarında sinir hücreleri içeren otonom sinir dokusu (plexus myentericus) bulunur.
3) Seroza: Tek katlı yassı epitel ve bunun altında yer alan az miktarda bağ dokusundan oluşan seröz bir membrandır [28-30].

2.2.4. Safra ve safra yollarının işlevleri

Safra kesesinin işlevleri

Safra kesesi, yaklaşık 50 ml depolama kapasitesine sahip, ince duvarlı kese benzeri bir yapıdır.

Safra kesesinin işlevleri şunlardır:

1) Safranın depolanması; Sindirim arası dönemde salgılanan safra, safra kesesinde depolanır. Safra kesesi tipik olarak 30-50 ml safra depolar. Yemek sırasında safra kesesi kasılır ve içeriğini duodenum'a bırakır.
2) Safra konsantrasyonu; Safra kesesinin mukozası geniş ve katlantılı bir yüzeye sahiptir. Sıvı ve elektrolitleri aktif olarak emebilir. Bu sayede safra kesesi safrası, karaciğer safrasına göre:

- Daha visköz ve daha koyu bir renk alır.
- Su içeriği azalır (%97'den 87.5'e düşer).
- Emilmeyen tüm organik bileşenler 5-6 kat konsantre hale gelir.
- Cl^{-1} ve HCO_3^{-2} iyonları 5-6 kat azalır
- Emilmeyen Ca^{+2} ve K^{+1} 2 kat artar.

3) Safranın pH'ı üzerindeki etkisi; Safra kesesinde HCO_3^{-2}'ün (esas olarak), Na^{+1} ve Cl^{-1}'un hızlı emilimine bağlı olarak Safra pH'ı 8-8.6'dan 7-7.6'ya düşürülür.
4) Mukus salgılanması; Safra kesesi, içinde depolanan safraya eklenen müsini salgılar. Müsin, chyme için bağırsakta bir kayganlaştırıcı görevi görür [31].

Safranın işlevleri

Duodenum'a dökülen safranın gerçekleştirdiği işlevler, esas olarak içerdiği safra tuzlarından kaynaklanmaktadır. Bu işlevler aşağıda özetlenmiştir:

1) Sindirim işlevi: Safra tuzları, yağı emülsifiye ederek yağların sindirimine yardımcı olur.
2) Emilim işlevleri: Safra tuzları yağların (misel oluşumu ile) ve yağda çözünen vitaminlerin emilimine yardımcı olur.
3) Boşaltım işlevi: Safra pigmentleri safranın ana boşaltım ürünleridir.
4) Müshil etkisi: Safra tuzları gastrointestinal motiliteyi arttırır ve müshil görevi görür.
5) Koruyucu eylem: Safra doğal bir deterjandır. Böylece, bağırsağın lümenindeki bazı bakterilerin büyümesini engeller.
6) Choleretic etki: Safra tuzları karaciğeri safra salgılaması için uyarır.
7) Safra taşı oluşumunun önlenmesi: Safra tuzları kolesterolü ve lesitini çözelti içinde tutar ve böylece safra taşı oluşumunu önler [31].

Bilirubin oluşumu

İki ana safra pigmenti olan bilirubin ve biliverdin, sindirim işlevi olmayan safranın ana bileşenleridir.

Safra pigmentleri, karaciğerde oluşan hemoglobin metabolitleridir. Karaciğer hücreleri kandan bilirubin ve biliverdin çıkarır ve onları glukuronik asit ile konjuge eder. Aktif bir taşıma mekanizması ile safra kanalcıklarına aktarır ve safranın altın sarısı renginden

sorumludurlar. Daha sonra bağırsak bakterileri, bilirubini, dışkının kahverengi renginden sorumlu olan ürobilinojene metabolize eder.

Bilirubin pasajlarının başarısızlığına yol açan hepatosellüler disfonksiyon, kanda hepatik veya posthepatik sarılık oluşturan safra pigmentlerinin birikmesine neden olur [31].

2.3. Ekstrahepatik Kolestazis

2.3.1. Kolestazis

Kolestazis, duodenum'a safra akışının azalması veya yokluğu olarak tanımlanır. Morfolojik olarak, kolestaz, karaciğer hücrelerinde ve safra yollarında safra birikimi anlamına gelir. İntrahepatik ve ekstrahepatik kolestazis olarak sınıflandırılabilir. İntrahepatik kolestazis; intrahepatik safra kanallarının tıkanması (primer biliyer siroz), primer veya sekonder karaciğer tümörlerinin invazyonu, granülomlar, lenfoma ve diğer kitlesel yerleşimli lezyonlar, ikincisi ise kanaliküller içerisindeki safra akımında deforme hepatit ve kalıtsal hastalıklara bağlı kolestazis'e bağlı olarak ortaya çıkar. Ekstrahepatik kolestazis ise; karaciğer dışındaki safra yollarının herhangi bir bölümündeki tıkanıklığa (tümör, taş, parazit gibi) bağlı olarak ortaya çıkar [47].

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında safranın bağırsaklara akamaması nedeniyle dokularda bilirubin ve safra tuzları birikir. Bunun sonucunda çeşitli sistemik ve hepatik değişimler meydana gelir [48]. Tıkanma sarılığında, yüksek serum bilirubin ve alkalen fosfataz (ALP) karaciğer hasarını gösteren spesifik belirteçlerdir [49]. Safra kanallarındaki tıkanıklık sonucunda biliyer basınç yükselir ve karaciğerde histopatolojik değişikliklere neden olur. Akut tıkanıklıklarda en erken bulgu kanaliküler kolestazdır ve duktuler proliferasyon daha sonraki aşamada gerçekleşir. Kronik tıkanıklıklarda periduktal bağ dokusu artar ve fibröz tabakalar ortaya çıkar. Kronik kolestazis, siroz gelişimine yol açan bir durumdur [50].

Tıkanma sarılığında meydana gelen patolojik değişikliklerin nedenlerinden biri de serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumu sonucu hücresel koruma ve savunma mekanizmalarında olan değişikliklerdir. Safra yollarının tıkanması hepatik yapı ve işlevlerde birçok bozukluğa neden olur. Kollajen miktarı arttıkça glikojen azalır. Düz endoplazmik

retikulumda sayıca azalma gözlenir [51]. Mitokondriyal antioksidanlar (glutatyon) azalır. Lipid peroksidasyon ürünlerindeki artışla birlikte mitokondriyal elektron taşıma zincirinde işlev bozukluğu meydana gelir [52, 53].

2.3.2. Ekstrahepatik kolestazis modeli

Sıçanlarda en uygun sarılık modeli ana safra kanalı bağlanarak elde edilebilir. Ana safra kanalının ligasyonu, mikrovillus kaybına, safra kanalının genişlemesine ve hücreler arası değişikliklere neden olur. Böylece kanaliküler permeabilitede artışa yol açar. Sonuç olarak, safranın limfa damarlarına ve kan dolaşımına girer [54]. Kanaliküllerin tıkanması ile hepatositlerde de patolojik değişiklikler meydana gelir. Safra asitlerinin salgılanmaması nedeniyle, hepatositlerde toksik safra asitleri ve organik anyonlar birikir. ALP ve kolesterolün artmasıyla birlikte hepatosit metabolizmasında değişiklikler meydana gelir. Biliyer obstrüksiyon süresinin uzaması nedeniyle insanlarda ve sıçanlarda duktuler proliferasyon, fibrozis ve sekonder biliyer sirozu indükleyebilir [55]. Duktuler proliferasyon ve fibrozisin kesin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Sekonder biliyer siroz; portal hipertansiyon ve hiperdinamik dolaşıma sekonder olarak ortaya çıkar [56]. Kolestazis nedeniyle oluşan karaciğer hasarı, safra drenajı tekrar düzeldiğinde geri dönüşümlü olarak geriler [57]. Aynı klinik durum insanlar için de geçerlidir [58].

2.3.3. Karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler

Kolestazisin morfolojik özellikleri şiddetine, süresine ve altta yatan nedene bağlıdır. Hem obstrüktif hem de obstrüktif olmayan kolestazda ortak olan, hepatik parankimde safra pigmentinin birikmesidir ve genişlemiş safra kanaliküllerinde uzun yeşil-kahverengi safra tıkaçları görülebilir. Kanaliküllerin rüptürü safranın ekstravazasyonuna yol açar, fakat Kupffer hücreleri tarafından hızla fagosite edilir [59].

Akut biliyer obstrüksiyon, yukarı akış safra kanallarının şişmesine neden olur ve bu genellikle daha sonra genişler. Ek olarak, safra kanalları portal parankimal arayüzde çoğalır, buna stromal ödem ve infiltre nötrofiller eşlik eder. Bu labirent kanalları salgılanan safra tuzlarını yeniden emerek, aşağı akıştaki tıkanmış safra kanallarını toksik deterjan etkilerinden korumaya yarar.

Kronik biliyer obstrüksiyon ve duktuler reaksiyonlardan kaynaklanan düzeltilmemiş sekonder inflamasyon, periportal fibrozisi başlatır ve sonuçta hepatik skar ve nodül oluşumuna yol açarak sekonder veya obstrüktif biliyer siroz oluşturur. Parankimdeki kolestatik özellikler, periportal hepatositlerin tüylü dejenerasyonu, genellikle Mallory-Denk cisimleriyle sitoplazmik şişme ve ekstravaze safranın deterjan etkilerinden safra enfarktüsü oluşumu ile şiddetli olabilir. Yine de rejeneratif nodüller oluştuktan sonra, safra stazı daha az belirgin hale gelebilir [59].

2.3.4. Karaciğer fibrozisi

Hepatik fibrozis mekanizmasının aydınlatılmasındaki önemli ilerlemeler nedeniyle karaciğer biyolojisinin oldukça ilişkili bir yönü olarak ortaya çıkmıştır. Etkili antifibrotik tedaviler, kronik karaciğer hastalığının doğal seyrini değiştirebilir.

Hepatik fibrozis, akut veya kronik karaciğer hasarına yanıt olarak ekstrasellüler matriks (ESM) birikimi ve skar oluşumudur. Fibrojenez, yaralanmaya karşı yara iyileşmesi tepkisini temsil eder ve sonucunda siroza yol açar.

Siroz, hepatik parankim fibrozisinin son dönem sonucudur ve nodül oluşumuna neden olur. Böylece, karaciğer fonksiyonunda ve kan akışında değişikliğe neden olabilir.

Hem fibrozis hem de siroz, kronik karaciğer hasarına karşı sürekli bir yara iyileşmesi yanıtının sonuçlarıdır. Viral, otoimmün, ilaca bağlı, kolestatik ve metabolik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli nedenlerden kaynaklanır.

Karaciğer hasarından sonra çok sayıda hücrede değişiklikler meydana gelir; örneğin, stellat ve Kupffer hücreleri aktive olur, hepatositler mikrovilluslarını kaybeder ve endotel hücreleri karakteristik fenestralarını kaybederler. Bu özelliklerin tümü, hücre aktivasyonunun ve yaralanmasının yanı sıra tüm organ düzeyinde işlev bozukluğuna katkıda bulunur [60].

Hepatik stellat hücrelerinin (HSH) aktivasyonu, hepatik fibrozisde önemli bir olaydır. Stellat hücre aktivasyonunun en önemli sonuçlarından biri, ekstrasellüler matriks sentezidir. Ayrıca, membran tipi matriks metalloproteinaz 1 (MT1-MMP), matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve metalloproteinazların doku inhibitörlerinin artan üretimine bağlı patolojik matriks bozulması ile ilişkilidir. TIMP'ler, interstisyel kollajen veya skar matriksi ile yer

değiştirmeye yol açar. Fibrozis ilerledikçe, TIMP'lerin sürekli ekspresyonu, aktive edilmiş stellat hücrenin matriks bozulmasını ve apoptozunu önler.

HSH'lerden kaynaklanan reaktif oksijen maddeleri, oksidatif strese yol açan lipid peroksidleri ve sinüzoidal endotel hücre kaynaklı fibronektin gibi ürünlerle diğer karaciğer hücreleri arasındaki etkileşimlerden kaynaklanır [60].

2.4. Oksidatif Stres

2.4.1. Oksidatif stresin genel bilgileri

Oksidatif stres, oksidan-antioksidan dengesinde meydana gelen ve hücre hasarına yol açan bir bozukluktır. Çoğu hücre hafif derecelerdeki oksidatif strese dayanıklı olabilir. Çünkü yeterli antioksidan savunma kapasitesine sahiptir. Bu hücrelerde oksidasyondan zarar gören molekülleri tanıyan ve onları yok eden onarım sistemleri vardır. Üretimde ve dağıtımda meydana gelen dengesizlik ve bozukluklardan veya diğer faktörlerden gelen reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı bolluğundan kaynaklanan antioksidan kapasite eksikliğinden kaynaklanabilir. ROT, mutajenez, tümörün büyümesi ve ilerleme rollerinden dolayı potansiyel kanserojenlerdir [61]. Farklı sinyal yollarındaki ROT değişiklikleri gen ifadesini, hücre tutulumunu, hücre metabolizmasını, hücre döngüsünü ve hücre ölümünü değiştirebilir. Bu olaylar oksidatif DNA hasarına yol açabilir. Bu da hücre dönüşümüyle ilişkili kromozomal sapmaları arttırır [62].

Oksidatif stres, hücre hasarı, kanser, yaşlanma ve Alzheimer hastalığı gibi bazı dejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere çok çeşitli patolojik süreçlerde rol oynamıştır.

2.4.2. Kolestazis ve oksidatif stres

Kolestazis, çoğu kez tek ve kesin bir mekanizmanın ürünü olan bir sendrom değildir. Kolestazis ister ekstrahepatik, isterse intrahepatik kaynaklı olsun, en belirgin bulgularından biri lipitlerdeki (kolesterol ve fosfolipit) yükselmedir. Lipoprotein sentez ve metabolizmasında karaciğerin temel rol oynayan bir organ olduğunun anlaşılmasından sonra, lipit metabolizması bozuklukları daha kolay açıklanabilmektedir.

Safra kanalı tıkanıklığı sonucu oluşan kolestazis, bağırsak duvarında oksidatif hasara neden olur. Bunun sonucunda ksantin oksidaz aktivitesinde artış olur. Ksantin oksidaz bilinen ilk süperoksit radikal kaynağıdır ve hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır. Pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak, moleküler oksijenden (O_2) çok NAD+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla, hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda, hipoksantin ksantine, ksantin de ürik aside dönüşürken, moleküler oksijen kullanılmakta ve moleküler oksijen hidrojen perokside indirgenmektedir. Tüm bu olayların sonucunda membranda lipid peroksidasyonu artar [59].

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerindeki oksidasyonu içeren kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu; organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalin, zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirinin alfa-metilen gruplarında bulunan hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Malondialdehit (MDA); oksidatif stres sonucu gelişen lipid peroksidasyon hasarının son ürünü olarak, lipid hasarı göstergesi, luminal, oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyi göstergesi, lusigenin ise oksidatif stresin hücre mitokondriyal düzey hasar göstergesi olarak kullanılmaktadır [63].

Deneysel çalışmalarda antioksidanlarla yapılan tedavinin mukozal oksidatif hasarı önlediğini gösterilmiştir. Organizmada sürekli oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyen antioksidan koruyucu bileşikler olduğu gibi, alınan besinlerle de önlenebilmektedir [64].

2.4.3. Kronik karaciğer hastalığında oksidatif stres etkisi

Bazı in vivo ve in vitro gözlemler, oksidatif stresin ve buna bağlı hasarın, farklı kronik karaciğer hasarı ve hepatik fibrozis şekilleri arasında ortak bir bağlantıyı temsil edebileceğini göstermektedir. Örneğin, lipid peroksidasyonuna katkıda bulunan oksidatif stres, alkolsüz steatohepatit ve karaciğer kanserinin oluşumunda ve ilerlemesinde rol oynayan kritik faktörlerden biridir [65, 66]. Viral enfeksiyon veya alkolün aşırı kullanımı, lipid peroksidasyonunu tetikleyerek epsilondA [1, N(6)-eteno-2'-deoksiadenozin] seviyeleri gibi

oldukça değişken kodlayıcı eteno- modifiye DNA'yı büyük ölçüde arttırmaktadır. Kronik hepatit, karaciğer sirozu ve hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonuna bağlı hepatosellüler karsinom'lu (HCC) hastalar enfekte karaciğer hastalığı olmayan bireylere oranla 20 kattan fazla idrar epsilondA seviyesine sahiptir [66]. ROT karaciğer fibrozis sürecine aracılık etmede önemli bir rol oynamaktadır [67]. Karaciğer hasarının ilerlerken, hepatik stellat hücreleri aktive olur ve Tip-I kollajen gibi hücre dışı matriks üretilir [68]. Tip-I Kollajen regülasyonu, ROT'u önemli bir arabulucu yapan karmaşık bir süreci ortaya çıkarmıştır [69, 70].

ROT'a duyarlı sitokinler, immün hücrelerden salınan parakrin sinyaller yoluyla iltihaplanma sırasında HSH aktivasyonuna katkıda bulunur [71]. Aktive edilmiş HSH'ler trombosit kaynaklı büyüme faktörüne (PDGF) ve transforme edici büyüme faktörü-B'ne (TGF-β) duyarlı hale gelir. PDGF, insan kronik karaciğer hastalıklarında (KKH) hepatik fibrozisin ilerlemesini kolaylaştırır. HSH'lerde hidrojen peroksit birikimi artar. Özellikle PDGF'nin neden olduğu kollajen birikimi ve karaciğer fibrozisindeki artışlar, anti-oksidan ilaç olan Mn-TBAP ile tedavi sonucunda belirgin şekilde azalır [72,73]. TGF-β, ROT üretimini arttırır ve glutatyon (GSH) konsantrasyonunu azaltır [74].

Bu bağlamda, hepatit B virus X protein (HBx) trans-aktivasyon aktivitesinin ROT tarafından uyarıldığına dikkat etmek önemlidir. Hbx'in hem insan taşıyıcılarında hem de transgenik farelerde HCC gelişimi ile ilişkilidir. Böylece, HCC'nin kronik inflamasyon ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, bu, kronik HBV enfeksiyonu bağlamında inflamasyonun hepatokarsinogenez için önemini vurgulamaktadır.

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

2.5.1. Genel bilgiler

Serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemek amacıyla vücutta antioksidan denilen savunma sistemleri devreye girer. Antioksidanlar; düşük konsantrasyonda substratın oksidasyonunu yavaşlatan veya engelleyen maddelere verilen isimdir [75]. Antioksidanlar ayrıca, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek ve/veya reaktif oksijen radikallerini ortadan uzaklaştıran, lipid peroksidasyonunu inhibe eden maddeler olarak da tanımlanabilir [76].

Serbest oksijen radikalleri normal aerobik metabolizma sırasında sürekli olarak üretilir ve çeşitli biyolojik antioksidanlar tarafından ortamdan kaldırılır. Bununla birlikte antioksidanlarla korunmanın etkinliği hiçbir zaman %100 değildir, bu nedenle hayatta kalmak için çeşitli onarım mekanizmalarının varlığı esastır. Artan pro-oksidanlar veya antioksidan tükenmesi, oksidatif stres koşulları oluşturarak moleküler ve doku hasarına neden olur.

Hücre membranlarında meydana gelen serbest radikal hasarı, antioksidanların mekanizmalarını bir süreçte birkaç farklı aşamada etki edebilirler ve şu başlıklar altında toplanabilir [77]:

(a) Oksijenin uzaklaştırılması veya lokal oksijen konsantrasyonlarının azaltılması.
(b) Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılması.
(c) Süperoksit ve hidrojen peroksit gibi temel reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılması.
(d) Hidroksil, alkoksil ve peroksil türleri gibi başlatıcı serbest radikallerin temizlenmesi.
(e) Zincir reaksiyonlarını kırması.
(f) Singlet oksijenin söndürülmesi veya temizlenmesi

2.5.2. Reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan sistemler

Hücrelerde ve hücre dışı sıvılarda, reaktif oksijen radikallerini zararsız bir duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Antioksidan enzim sistemleri ROT'yi daha az toksik ürünlere dönüştürür. Bu enzim sistemleri Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatione redoks döngü enzimleri (glutatione peroksidaz (GSH-PX), glutatione redüktaz vb.)'dir. SOD enzimi, süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür. Hidrojen peroksit, iki önemli hücre içi enzim olan katalaz ve glutathione peroksidaz ile su ve oksijen tarafından azaltılır [78, 79].

Radikaller yakalayan ve nötralize eden antioksidanlar: Alfa Tokoferol (E vitamini) ve askorbik asit (C vitamin) antioksidanlar olarak işlev görür. E vitamini hücre zarında lipid peroksidasyonunu önler. Askorbik asit, sitoplazmada ve hücre dışı sıvılarda antioksidan aktivite gösterir ve antiproteazların oksidanlarla inaktivasyonunu inhibe eder.

Ek olarak, glutatyon çok fonksiyonlu bir hücre içi antioksidandır, N-asetil-L-sistein, oksidatif stres koşullarını azaltmak için kullanılan bir antioksidan içeren bir tiyoldür. Flavonoidlerin en belirgin aktivitesi oksidatif strese karşı koruma yapmasıdır. Flavonoidler lipid peroksidasyonunun etkili inhibitörleri olup, ROT'u temizlemeye yardımcı olabilirler [80].

2.6. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

Yukarıda da belirtildiği gibi, oksidatif stres karaciğer hasarında merkezi bir rol oynar. Bu stresi önlemek için birkaç olası strateji vardır [74].

2.6.1. *Cynara scolymus* L.

Kimyasal ve genel özellikleri

Cynara scolymus L. (küre enginar) bitkisi, Asteraceae familyasına ait farmakolojik açıdan önemli tıbbi bitkidir [81, 82]. Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir [83]. *Cynara scolymus* 'un yaprağı yüzyıllardır antimikrobiyal, antiinflamatuar, koleretik, hepatoprotektif, kolesterol düşürücü, lipid düşürücü ve glukoz düşürücü olarak Türkiye, Güney Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde kullanılmaktadır [81, 84].

*Cynara scolymus'*un besinsel ve farmasötik özellikleri, yüksek düzeyde polifenolik bileşikler ve inulin içeren özel kimyasal bileşimlerine bağlıdır. Kafeik asit türevleri enginardaki ana fenolik bileşiklerdir. *Cynara scolymus* dokularında flavonoidler, apigenin ve luteolin gibi diğer fenoliklerin yanı sıra farklı siyanidin kafeoilglukozit türevleri ve klorojenik asit tanımlanırken, son zamanlarda apigenin-7-rutinosid ve narirutin, enginar kafalarına özgü bulunmuştur. Ayrıca *Cynara scolymus'*un cynarin içerdiği ve lif bakımından zengin ve yağ bakımından düşük olduğu bildirilmektedir [85]. Bu nedenle, sağlık açısından sağladığı faydalar yüksek lif içeriğine sahiptir [86].

Cynara scolymus'un antioksidan etkisi

Bu bitkinin fenolik bileşikleri HPLC kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, *Cynara scolymus* ekstraktının biyoaktif işlevsel bir gıda olarak kabul edilebileceği tespit edilmiştir.

Ayrıca, aynı zamanda umut verici bir antioksidan fenolik bileşik kaynağı olarak görülebileceği belirtilmiştir [87].

Cynara scolymus L. EMS'nin mutajenitesini modüle etme kabiliyeti, üç antijenotoksik protokolde, pre- post- ve eşzamanlı tedavilerde sitokinez blok mikronükleus sitom (CBMN) tahlili kullanılarak incelenmiştir ve *C. scolymus* L.'nin koruyucu aktivitesinin kurucu antioksidan bileşikleriyle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [88].

Cynara scolymus L. yaprak ekstraktının kültürdeki sıçan hepatositlerinde hidroperoksit ile indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu ve antioksidatif etki gösterdiği bildirilmiştir [89].

Benzer şekilde CCl_4 ile indüklenmiş karaciğer hasarı öncesi *C. scolymus* L. ekstraktı kullanımının, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu üzerine olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir [90, 91].

Wang ve arkadaşlarının *Cynara scolymus* L. yaprağı üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda, bitki yaprak ekstraktının fenolik bileşikler ve antioksidanlar için iyi bir kaynak olduğu belirtilmiştir [84]. Perez-Garcia ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kafeik asit, klorojenik asit, sinarin ve lutein bulunan *C. scolymus* L. ektraktının insan lökosit kültürü üzerine antioksidatif etkisi olduğu bildirilmiştir [83, 90].

Cynara scolymus'un karaciğeri tedavi edici etkileri

Cynara scolymus'tan elde edilen polifenolik ekstraktların hepatoprotektif özellikleri değerlendirilmiş, *Cynara scolymus*'un insan karaciğer kanserinde hücre canlılığını azalttığı ve hücre hattı üzerinde apoptotik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [92].

Cynara scolymus L. yaprağı ekstresinin, sıçanlarda CCl_4 ile indüklenen oksidatif stres ve karaciğer hasarı üzerindeki hepatoterapötik etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, *C. scolymus* yaprağı ekstresinin CCl_4 kaynaklı oksidatif stres ve lipidi azaltarak karaciğer hasarı üzerinde hepatoterapötik etkilere sahip olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca CCl_4'ün neden olduğu hepatotoksisite üzerindeki DNA hasarının onarılmasına izin veren düzenleyici mekanizmanın yolu üzerinde de olumlu etkileri olmuştur [93].

2.6.2. Kolşisin (Colchicine)

Kimyasal ve genel özellikleri

Kolşisin, çeşitli Colchicum türlerinden elde edilen alkaloidir, genellikle Colchicum autumnale türünden izole edilir. Güney ve Batı Avrupa'da yaygın olarak yetiştirilen bu bitki, 20'den fazla alkaloid içerir. Kolşisin ilk olarak eski Yunanlılar tarafından kullanılmıştır. Kolşisin ağızdan verildikten sonra hızla emilir. Ayrıca Kolşisin, mikrotübül proteinlerine (tubulin) bağlanma yeteneğinden dolayı toksisitesi nedeniyle çok düşük dozlarda uygulanmalıdır. Sistematik adı N-[(7S)-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxo-5,6,7,9-tetrahydrobenzo [a] heptalen7-y1] acetamid (kimyasal formülü: C_{22} H_{25} NO_6) olan Kolşisin hafif alkali özellikte bir alkaloiddir. Tuzları çok dengesiz ve sulu çözeltiler içinde kuvvetlice hidrolize olmaktadır [94].

Kolşisin ve antioksidan etkisi

Oksidatif stresin hem akut hem de kronik karaciğer hasarının patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği hipotezini desteklemek için son yıllarda önemli miktarda kanıt birikmiştir. İn vitro deneyler, malondialdehitin (lipid peroksidasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin bir ürünü) sitopatik değişikliklere neden olabileceğini ve kollajen gen transkripsiyonunu tetikleyebileceğini göstermiştir [95]. Böylece, antioksidan özelliklere sahip olan ilaçlar, akut hepatosellüler hasarı ve fibrozu azaltabilir. Ön çalışmalar, Kolşisinin bu tür özelliklere sahip olabileceğini düşündürmektedir [96]. Yapılan bir çalışmada, akut karbon tetraklorür hasarında, kolşisin ön tedavisinin doza bağlı bir şekilde hepatik malondialdehit konsantrasyonundaki artışı ve zararı azaltmıştır [97, 98].

Kolşisin ve karaciğer hastalığı

Kolşisinin anti-tübülin etkisine sahip olduğu ve mitozu engellediği bilinmektedir. Karaciğer hastalığındaki olası yararlı etkileri çok çeşitli özelliklere bağlıdır. Bunlar, bir anti-inflamatuar etki, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu [99], membran stabilizasyonu [100] ve sitokrom P-450 seviyelerinde azalma [101] içerir. Hayvan deneylerinde, kolşisinin birlikte uygulanmasının CCl_4 ile tedavi edilen sıçanlarda hem akut [102] hem de kronik karaciğer hasarını [103, 104] iyileştirdiği kaydedilmiştir. Ayrıca ön tedavi olarak uygulanan

kolşisin, galaktozamin hasarını hafifletmiştir [105] ve safra kanalı ligasyonundan sonra fibrozisi azaltmıştır [106]. Bu çalışmalar, kronik karaciğer hastalığında terapötik bir ajan olarak kolşisine olan büyük ilgiyle sonuçlanmıştır [107].

2.6.3. Pioglitazone

Kimyasal ve genel özellikleri

Pioglitzaone, periferik dokuları insüline duyarlı hale getiren tiazolidinedion (TZD) ailesinin bir üyesidir. Böylece, sistematik adı, (+/-)-5-[4-[2-(5-ethyl-2-pyridyl) ethoxy] benzyl] thiazolidine-2,4-dione monohydrochloride (kimyasal formülü: C_{19} H_{20} N_2 O_3 SHCL) olan pioglitazone, hiperglisemi ve hiperinsülinemiyi iyileştirir. Ek olarak, Pioglitazon insülin direnci olan sağlıklı insanlarda endotel disfonksiyonunu iyileştirebilir, antiinflamatuar sitokinleri azaltabilir ve hücresel antioksidan sistemleri iyileştirebilir [108-112].

Tiazolidinedionlar, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARγ)'ye yüksek afiniteye sahip sentetik bileşiklerdir. PPARγ, adiposit farklılaşmasında ve glikoz ve yağ asidi metabolizmasında çok önemli bir rol oynar [113]. Bazı çalışmalar, PPARγ'nin çeşitli insan malign hücrelerinin farklılaşmasını veya apoptozunu indüklemede rol oynadığını göstermiştir [114]. Yakın zamanda Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR)'larının fibrozis mekanizmasında anahtar role sahip olduğu bilinen hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunda rolleri olduğu gösterilmiştir [115, 116].

Tiazolidinedionların sadece önemli hipoglisemik etkileri değil, aynı zamanda lipid metabolizması, oksidatif stres ve vasküler inflamasyon üzerinde potansiyel olumlu etkileri sahiptir [117].

Pioglitazon ve antioksidan etkisi

Tiazolidinedionlar intrasellüler antioksidan etkiye sahiptir [118]. Bu özelliği koruyucu antioksidan özelliklerini yansıtır. Ayrıca, PPARγ'nın reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyen Cu21, Zn21- süperoksit dismutaz (CuZn-SOD) ekspresyonu ile ilişkili olduğunu bulunmuştur [119].

Tiazolidinedionların; özellikle Pioglitazonun güçlü bir antioksidan olduğu görülmüştür [120]. Somi ve arkadaşları (2009) yaptıkları bir çalışmada, Pioglitazon uygulamasından sonra, deneysel bir hepatik iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı modelinde önemli ölçüde azalmış MDA, GPx ve SOD seviyeleri gözlemlenmiştir [121].

Pioglitazon'un karaciğeri tedavi edici etkileri

Tiazolidinedion'un bir üyesi olan pioglitazon, PPARc'nin ligandı olarak Tip II diabetes mellitus'ta insülin direncini iyileştirmek için kullanılır [122]. PPARc ligandının yakın zamanda NASH'li hastalarda hepatik steatoz, alanin aminotransferaz yükselmesi ve insülin duyarlılığını iyileştirdiği bildirilmiştir [123, 124]. Daha sonra, hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunu inhibe ederek, karaciğer fibrozisinin bazı hayvan modellerinde hepatik fibrojenezi önlediği bildirilmiştir [21].

Son zamanlarda, pioglitazonun 72 saat boyunca CCl_4 tarafından indüklenen erken faz hepatik fibrojenezi önleyebildiği bildirilmiştir [125]. Galli ve arkadaşları ayrıca TZD'nin (Rosiglitazon ve Pioglitazon) oral uygulamasının, karaciğer fibozisinin hem toksik hem de kolestatik modellerinde HDM birikimini azaltabileceğini göstermiştir [21].

Pioglitazon ve Rosiglitazonun, hepatik fibrozis sırasında hücre dışı matriks birikiminden sorumlu hücreler olan hepatik stellat hücrelerin in vitro aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir [124, 125].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Bu deneysel çalışma Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı (G.Ü.ET-19.067 numaralı kararı) alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesinde gerçekleştirildi.

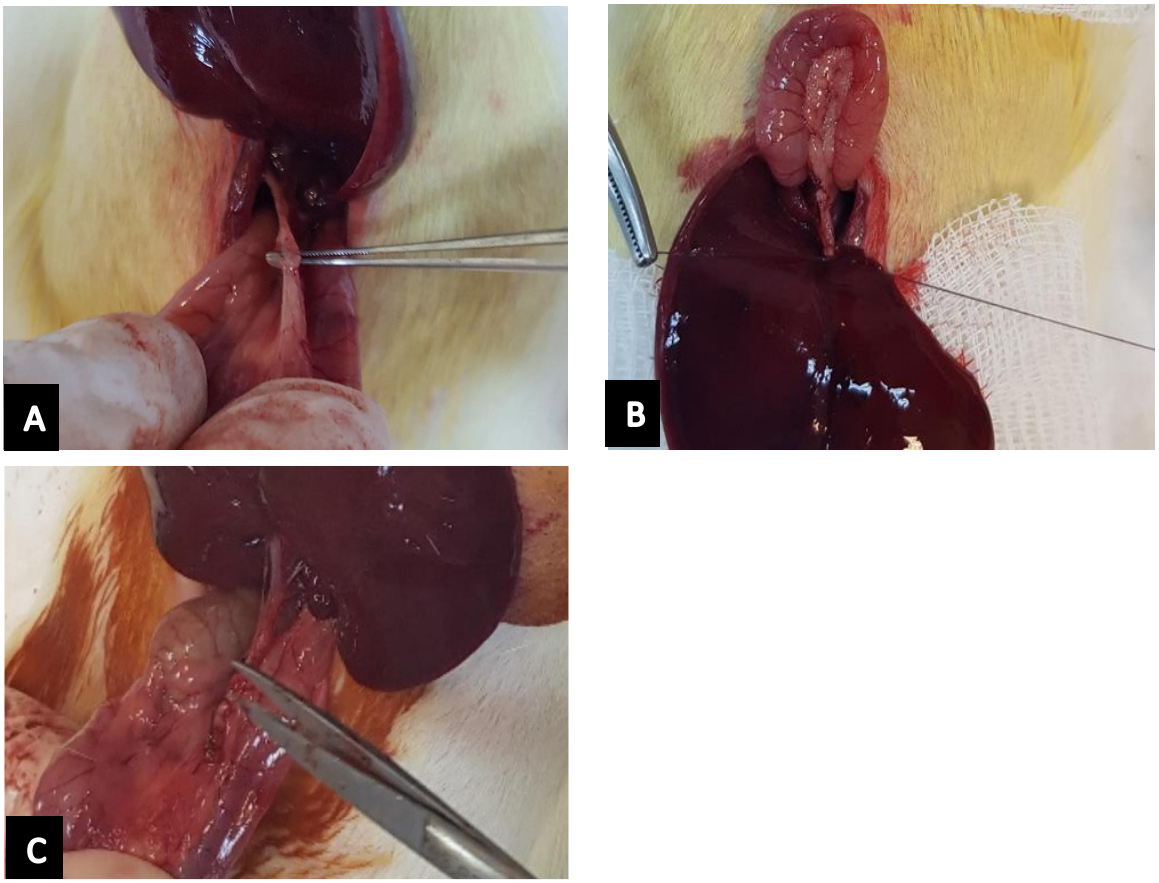
Bu proje Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (GÜBAP) tarafından 01/020-14 proje kodu ile desteklenmiştir. Çalışma kapsamında, 6-8 haftalık 200-250 gr ağırlığında sağlıklı Wistar Albino cinsi 35 adet erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat gece/gündüz periyodunda, 21-24 °C sıcaklık ve % 45-55 nem oranına sahip hayvan barınma yerlerinde, standart sıçan yemi ve musluk suyuyla (*ad libitum)* beslendi. Deneysel uygulamalar ve deneklerin izlenmesi Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesinde yapıldı. Bu çalışmaya dâhil edilen tüm hayvanlar deney modeli öncesi her grupta 7 sıçan olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi rastgele 5 gruba gruplandırıldı.

Grup 1 (n=7): Sham Grubu
Grup 2 (n=7): Kontrol Grubu
Grup 3 (n=7): *Cynara scolymus* Grubu
Grup 4 (n=7): Kolşisin Grubu
Grup 5 (n=7): Pioglitazon Grubu

Deneysel karaciğer fibrozis modelinin oluşturulması

Deney gruplarından Grup 1-Sham Grubu harici sıçanlara aşağıda belirtilen yöntem ile karaciğer fibrozis modeli oluşturuldu. Sıçanlar 10 mg/kg/i.p. ksilazin ve 50 mg/kg/i.p. ketamin anestezisi altında supin pozisyonunda yatırıldı, abdomen tüyleri tıraş edildikten sonra povidon iyot ile bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Abdomene üst median hat üzerinden vertikal bir insizyon yapılarak, karaciğer safra kanalı açığa çıkarıldı ve 3/0 poliglaktin sütür materyali ile biri proksimal diğeri distal bölgeden olmak üzere iki ligatür işlemi yapıldı. Daha sonra, karaciğer safra kanalı bu iki ligatür arasından kesildi (Resim 3.1 A,B,C). Sham Grubuna dahil edilen sıçanlara ise ligasyonu yapılmadan safra kanalı manipule edildi. Bu işlemlerin ardından, kas ve deri 3/0 poliglaktin sütür materyali ile

usulüne uygun olarak dikildi ve günlük olarak insizyon bölgesinin yara bakımı povidon iyot ile yapıldı. Deneysel prosedür boyunca, hayvanların beden ağırlıkları, tükettikleri yem ve su miktarları haftalık olarak ölçüldü.



Resim 3.1. (A,B,C) Ligasyon işlemi: Safra kanalı çıkarılıp sütür materyali ile biri proksimal diğeri distal bölgeden olmak üzere iki ligatür işlemi yapıldı. Daha sonra, karaciğer safra kanalı bu iki ligatür arasından kesildi.

Tedavi protokolü

Cerrahi işlemlerin ardından gruplandırılan hayvanların tedavileri 7 gün boyunca devam edildi. Tedavi amacıyla verilecek maddeler tüm gruplara aynı volümde ve oral olarak uygulandı. Grup 1-Sham Grubu ve Grup 2-Kontrol Grubu hayvanlarına çözücü olan distile su gavaj yoluyla ile verildi. Grup 3-*Cynara scolymus* Grubu ratlara 1,5 gr/kg/*per os* dozunda *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktı (4%cynarin) powder, (Cod No: E032104, Nativital doğal yaşam ve sağlık ürünleri, İstanbul, Türkiye) distile suda çözüldükten sonra gavaj yardımıyla verildi [93,126]. Grup 4-Kolşisin Grubuna indüksiyonu takiben 50 µg/kg/*per os* dozunda distile suda çözülen kolşisin ≥95% (HPLC) powder (Cat:9754, Sigma Aldrich, Germany), gavaj ile uygulandı [127]. Grup 5-Pioglitazon Grubuna dahil edilen ratlara ise

1mg/kg/*per os* dozunda pioglitazon ≥98% (HPLC) powder (Cat:6910, Sigma Aldrich, Germany), distile suda çözüldükten sonra gavaj yoluyla ile verildi [128].

Deneysel prosedürün sonlandırılması

On günlük tedavinin ardından ratlar aynı anestezi protokolü altında intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Gruplara göre her hayvanın makroskobik bulguları fotoğraflandı ve kaydedildi. Daha sonra, histopatolojik ve biyokimyasal analizlerin yapılması amacıyla karaciğer dokusu dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Eksplorasyonda ana safra kanalı bağlanan ratların tümünde bağlanılan yerin proksimalindeki safra yollarının ileri derecede dilate olduğu gözlendi. Karaciğerin bir parçası % 4' lük paraformaldehit içerisine alınırken, diğer parçası oksidasyon parametrelerinin belirlenmesi amacıyla boş tüplere konularak -80°C'de analizler yapılana kadar saklandı.

3.2. Işık Mikroskopik İncelemeler

Deney prosedürünün sonunda karaciğer dokuları ışık mikroskopik inceleme amacıyla %4' lük paraformaldehit solüsyonuna alınarak tespit edildi. Histolojik takip işlemleri sonrasında karaciğer dokuları parafine gömülerek bloklama işlemi tamamlandı. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom cihazı kullanılarak (RM 2245, Germany) 4 Mm kalınlığında rodajlı ve polilizinli lamlara kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eosin (HE), Masson'un üçlü boyaması (Masson's Trichrome) boyamaları, gümüşleme tekniği ve immunohistokimyasal analizler için hazır hale getirildi.

3.2.1. Hematoksilen-Eozin (HE) boyama yöntemi

Deney gruplarına ait karaciğer kesitleri deparafinizasyon işleminden sonra, azalan etil alkol serilerinde (%100, %90, %80 ve %70) 10'ar dakika süreyle tutuldu. Akan musluk suyu altında 10 dk yıkanan kesitler yıkama işleminin ardından 10 dakika Harris Hematoksilen solüsyonunda boyandı. Boyanma sonrası 10 dakika akar suda yıkama işlemi yapıldı. Hematoksilen ile boyanan kesitler asit- alkol solüsyonunda tutularak sonrasında akan musluk suyu altında tekrar 10 dakika yıkandı. Yıkama işlemi sonrası Eosin boya solüsyonunda 10 dk boyanan kesitler, akan musluk suyu ile tekrar yıkandı. Kesitler yıkama işlemi sonrasında dehidratasyon amacıyla sırasıyla artan (%70, %80, %90 ve %100'lük) etil alkol serilerinden geçirildi. Ksilolde bir süre bekletilen

kesitler entellan kapama mediumu kullanılarak kapatıldı. Boyama işleminin tamamlanması sonrası kesitler Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda Leica LAS V 4.9 programı kulllanılarak görüntülendi.

3.2.2. Gümüş impregnasyon boyama yöntemi

Deparafinizasyon işleminin ardından kesitler boyamaya hazır hale getirildi. Kesitlere Retikulin Silver kiti uygulandı (Hedef Tıbbi Ürünler, Türkiye). Distile sudan geçirilen karaciğer kesitlerine Permanganate solüsyonu damlatılarak 5 dakika bekletildi. Preparatlar distile sudan geçirildikten sonra Oxalik asit solüsyonu damlatılarak 1-2 dk bekletildi. Tekrar distile su ile yıkanan kesitler, Ferric Ammonical solüsyonuna 10 dk etkin bırakıldı. Distile su ile yıkanan kesitlere Silver solüsyonu damlatılarak karanlıkta 5 dk bekletildi. Distile su ile yıkamanın ardından Reducin solüsyonuna 3 dk etkin bırakılan kesitler tekrar yıkandı. Gold Chloride solüsyonuna 3 dk etkin bırakılan kesitler distile su ile yıkandı. Sodium thiosulfate solüsyonu ile 5 dk muamele edilen kesitler çeşme suyu ile 5 dk yıkandıktan sonra alkol serilerinden geçirilerek ksilole alındı. Kapama mediumu ile kapatılarak incelemeye hazır hale getirildi.

3.2.3. Masson Trikrom boyama yöntemi

Karaciğer kesitleri deparafinizasyon sonrası boyamaya hazır hale getirildi. Weigert Iron Hematoxylin A ve B solüsyonlarının karışımında yaklaşık 20 dk bekletilen kesitler distile sudan geçirildi. Pikrik asit alkolik solüsyonunda 5 dk tutulduktan sonra kesitler tekrar distile su ile yıkandı. Ponceau asit Fuksin solüsyonu kullanılarak 15 dk boyanan kesitlerin tekrar distile su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Phosphomolybdic asit solüsyonunda yaklaşık 5 dk tutulan kesitler yıkama işlemi yapılmadan Masson Anilin Blue solüsyonuna etkin bırakıldı. Kesitler distile su ile yıkama sonrasında alkol serilerinden geçirilerek kapama mediumu entellan ile kapatıldı ve Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda Leica LAS V 4.9 programı kulllanılarak görüntülemeye geçildi. Boyama sonrasında mavi renkte izlenen kollajen liflerin preparattaki alan yüzdeleri ImageJ (National Institutes of Health, USA) programı kullanılarak hesaplandı [129].

3.2.4. İmmünohistokimyasal analiz

İmmünohistokimyasal analizler için karaciğer dokularına ait parafin bloklardan alınan 4 μm kalınlığında kesitler deparafinizasyon işleminin ardından azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80 ve %70) geçirildi. Dehidrate edilen dokular alkolden uzaklaştırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirildi ve sitrat tamponu (HDF, Türkiye) (pH 6.0) ile yüksek ısıda antijen retrival işlemi uygulandı. Kesitler 3 kez 5'er dakika distile sudan geçirildi. Ardından dokuların çevresi doku sınırlayıcı kalem ile Pap pen (Patolab) ile sınırlandırıldı. Dokular 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline), (Thermo, AP-9009-10, UK) (pH:7.4) ile yıkandı. Daha sonra, 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit (Thermo, TA-125-HP, UK) uygulandı. PBS ile yıkanan kesitler 5 dakika UltraV block (Ultra Vision Detection System Large Volume Anti-Polyvalent, HRP, Thermo, TP-125-HP, UK) ile muamele edildi. Kesitler uygun dilüsyonda AFP (Santa Cruz, 1:100), Caspase-3 (Bioss, 1:100), TNF-α (Bioss, 1:100) ve p53 (Bioss, 1:100) primer antikorları ile bir gece boyunca + 4' °C' de inkübe edildi. Daha sonra kesitler 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Yıkama sonrasında 10 dakika biotinli sekonder antikor uygulandı ve PBS ile tekrar yıkama yapıldı. Yıkama ardından 10 dk streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakılan kesitler 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanarak, diaminobenzidin (DAB) substratı içeren kromojen DAB (Thermo, TA-125-HD, UK) kullanılarak immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. Zemin boyasında Mayer'in Hematoksilen'i (Thermo, TA-125-MH, UK) kullanıldı. Yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirilerek, 20 dakika ksilolde bekletildi. Sonrasında entallan kapama mediumu ile kapatılarak Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda Leica LAS V4.9 (Germany) programı kullanılarak görüntülenmesi gerçekleştirildi. AFP, Caspase-3, TNF-α ve p53 primer antikorlarına ait immunopozitif alan yüzdesi ImageJ (National Institutes of Health, USA) programı kullanılarak, x200 büyültmede her kesitte randomize seçilen beş farklı alanda değerlendirildi [130].

3.3. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

3.3.1. Serum analizi

Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüje edildikten sonra serumları çıkarılarak, analizler yapılana kadar -80°C'de saklandı. Serum örneklerinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuarlarında total bilirubin (T-B), alkalen

fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve albümin (ALB) düzeyleri değerlendirildi.

3.3.2. Karaciğerde oksidatif stresin belirlenmesi

Karaciğer hasarı sonrası ortaya çıkan oksidatif stres durumu iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle tedavi edilen dokulardaki oksidatif stres indeksi önemli bir parametredir. Bu amaçla, doku TAS ve TOS düzeyleri ticari kitler kullanılarak (Relassay, Türkiye) değerlendirildi. TAS düzeyi için doku antioksidanlarının ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu üzerindeki süpürücü etkileri değerlendirildi. TOS düzeyi ise, numunelerde bulunan doku oksidanlarının ferroz iyon-O-dianizidin'i ferrik iyona okside etme kapasiteleri ölçüldü.

3.4. İstatistiksel Analizler

Her gruba ait sıçanların vücut ağırlığı, biyokimyasal parametrelerin serum düzeylerinden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma olarak belirlendi. İstatiksel analizin yapılmasında SPSS 24 programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmaların yapılması için ANOVA testi ve Duncan testi ile yapıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Least Significant Difference testi (LSD) kullanıldı. Histoloji sonuçlarının gruplar arasındaki karşılaştırılmaları Kruskal-Wallis testi, fark bulunduğunda ise Bonferroni dezeltmeli Mann-Whitney testi ile post-hoc ikili karşılaştırılmaları analizi ile gerçekleştirildi. Analizlerde $p<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. Üç Boyutlu Modelleme ve 3 Boyutlu Printer Çıktılarının Alınması

Kontrol ve deney gruplarındaki histomorfometrik değişikler göz önüne alınarak, önce normal karaciğer dokusunun 3 boyutlu bilgisayar modellemesi yapıldı. Daha sonra ise deney gruplarındaki histopatolojik ve histomorfometrik değişiklikler göz önüne alınarak, bu gruplara ait 3 boyutlu bilgisayar modellemeleri yapıldı. Modellemeler Cinema 4D R24 (Maxon Computer, Friedrichsdorf Germany) adlı 3 boyutlu modelleme ve animasyon programı kullanılarak yapıldı. Üç boyutlu modellerden alınan gerçeğe yakın render görüntüleri 1920X1280 300 dpi çözünürlükte .jpeg ve .tiff görüntüleri olarak kaydedildi. Ayrıca Cinema 4D programında elde edilen kontrol ve deney gruplarına ait olan modeller

STL formatında dışarı çıkarılarak kaydedildi ve bunlardan 3 boyutlu printer (Ultimaker 3) ile 3 boyutlu, elle tutulur çıktılar alındı. Elde edilen çıktıların gerçeğe yakın bir şekilde model boyaları ile boyamaları yapıldı. En sonunda elde edilen dijital modellerin ROT adlı Sanal Gerçeklik programı kullanılarak VR ve AR teknolojilerine uygulanması ve etkileşimli hale getirilmesi sağlandı.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Safra yollarında kalıcı ligasyon yapılan sıçanlar sakrifiye edilip derileri açıldığında, deri altında yoğun billirübin pigmenti birikimine bağlı olarak ikterik alanlar izlendi. Sham grubu dışındaki tüm deney gruplarında kanlar alınıp santrifüj edildiğinde serumlarının lipidemik ve ikterik görünümde olduğu dikkati çekti. Ayrıca Sham grubu dışındaki ligasyon ve ilaç gruplarındaki sıçanlarda karaciğer hasarına bağlı olarak belirgin asit görünümü izlendi. Deneysel prosedürün sonlandırılmasından sonra gruplara göre sıçanların karaciğerleri fotoğraflandı ve kaydedildi.

Sham grubundaki sıçanların karaciğerleri koyu kırmızı-kahverenginde, normal boyutlarında ve 4 loblu bir görünüm sergilemektedir (Resim 4.1).

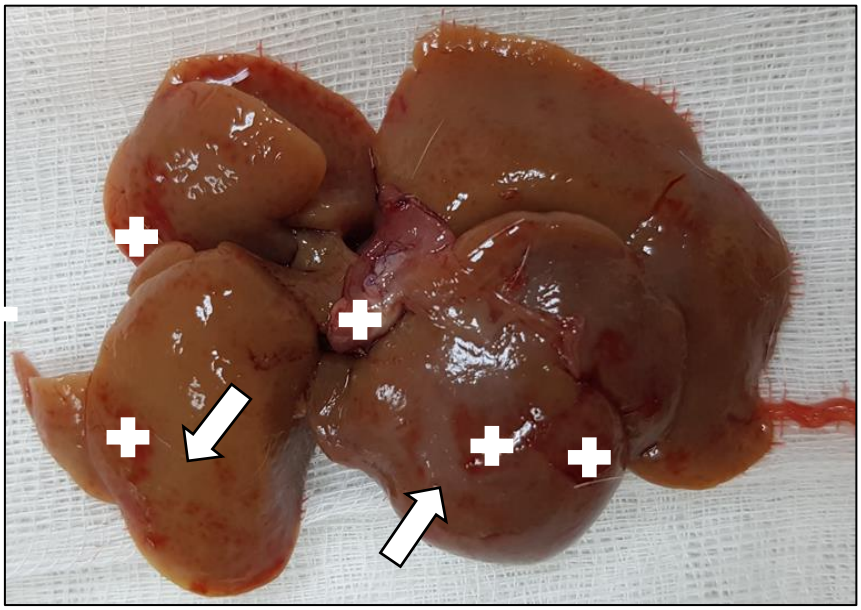
Safra yoluna kalıcı ligasyon yapılan Kontrol grubu sıçanların karaciğerleri Sham grubuna göre belirgin bir şekilde büyük olarak izlenmektedir (hepatomegali). Büyümüş karaciğer dokusu içinde yer yer nodüler yapılar gözlenmektedir. Karaciğerlerin renkleri sarıya yakın kahverengi görünüm sergilemektedir. Diffüz yağlanma ve yaygın fibrozis'e rağmen yer yer normal karaciğer dokusuna rastlanmaktadır (Resim 4.2).

Safra yoluna kalıcı ligasyon yapıldıktan sonra enginar yaprak ekstraktı (*Cynara scolymus* L.) ile tedavi edilen sıçanların karaciğer genel görünümü ve 4 lobu ligasyon grubuna göre daha küçülmüş ve neredeyse normal karaciğer boyutlarına yaklaşmış olarak izlenmektedir. Karaciğerin rengi ligasyon yapılan gruba daha koyu renkte izlenirken, nodüler görünüm ligasyon grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmektedir (Resim 4.3).

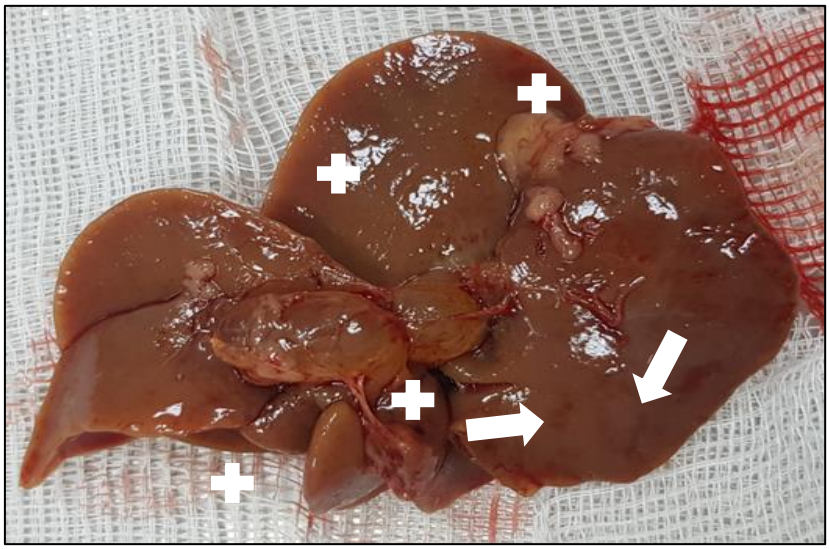
Safra yoluna kalıcı ligasyon yapıldıktan sonra Kolşisin ile tedavi edilen sıçanların karaciğerinde ligasyon grubuna göre daha küçük bir görünüm izlenirken, büyümüş karaciğerin tedaviye bağlı olarak küçülmesi enginar grubuna göre daha az olarak izlendi. *Cynara scolymus* L. verilen grupta olduğu gibi, karaciğerin rengi ligasyon yapılan kontrol gruba göre daha koyu renkte izlenmektedir. Nodüler görünüm neredeyse *Cynara scolymus* grubundaki gibi olmakla birlikte, Kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmektedir (Resim 4.4).

Safra yoluna kalıcı ligasyon yapıldıktan sonra Pioglitazon ile tedavi edilen sıçanların karaciğerinde ligasyon grubuna göre daha küçülmüş bir görünüm gösterdi. Büyümüş karaciğerin tedaviye bağlı olarak küçülmesi *Cynara scolymus* grubuna göre daha az iken Kolşisin grubuna göre daha fazla olarak izlendi. Nodüler görünüm neredeyse *Cynara scolymus* grubundaki gibi olmakla birlikte, Kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlendi (Resim 4.5).

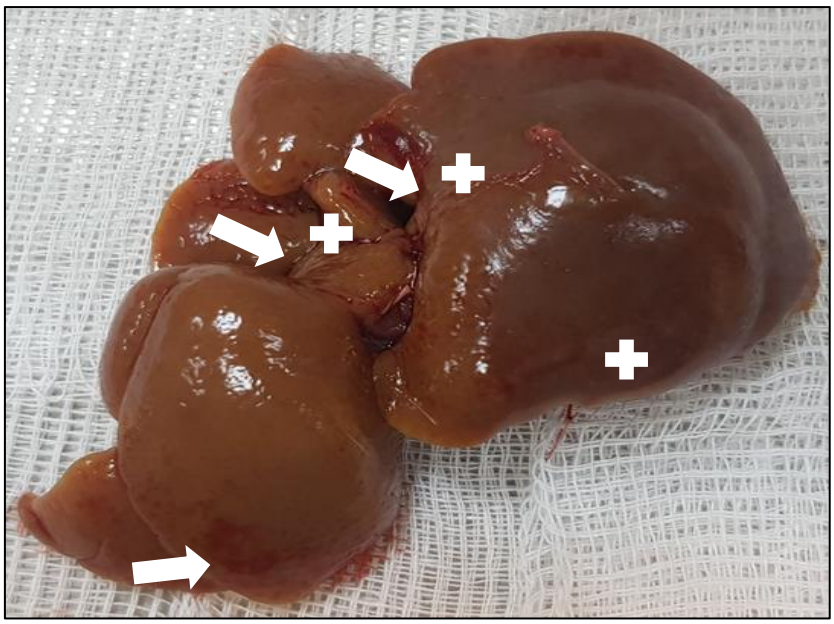
Resim 4.1. Sham grubu: Karaciğerleri koyu kırmızı-kahverenginde, normal boyutlarında ve 4 loblu bir görünüm göstermekte



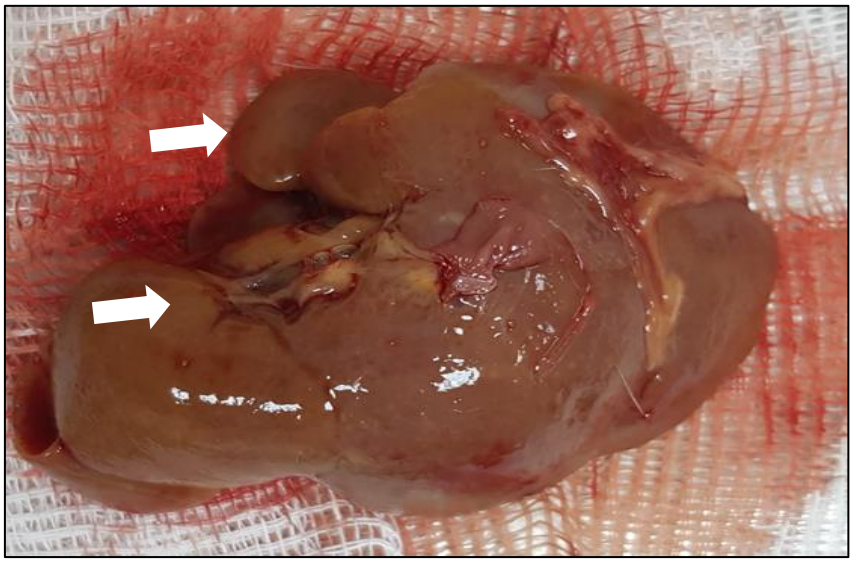
Resim 4.2. Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grubu: Büyümüş karaciğer dokusu içinde yer yer nodüler yapılar (→), karaciğerlerin renkleri sarıya yakın kahverengi görünüm göstermekte, yer yer normal karaciğer dokusuna rastlanmakta (+)



Resim 4.3. Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş ve rengi Kontrol grubuna göre daha koyu renkte izlenmekte (+). Nodüler görünüm kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte (→)



Resim 4.4. Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş ve rengi Kontrol grubuna göre daha koyu renkte izlenmekte (+). Nodüler görünüm (→) neredeyse enginar grubundaki gibi olmakla birlikte, Kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte



Resim 4.5. Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazone uygulanan grup: Karaciğerin küçülmüş olarak izlenmekte. Nodüler görünüm (→) neredeyse *Cynara scolymus* grubundaki gibi olmakla birlikte, Kontrol grubuna göre daha az ve küçük olarak gözlenmekte

4.2. Işık Mikroskop Bulguları

4.2.1. Hematoksilen- Eozin (HE) bulguları

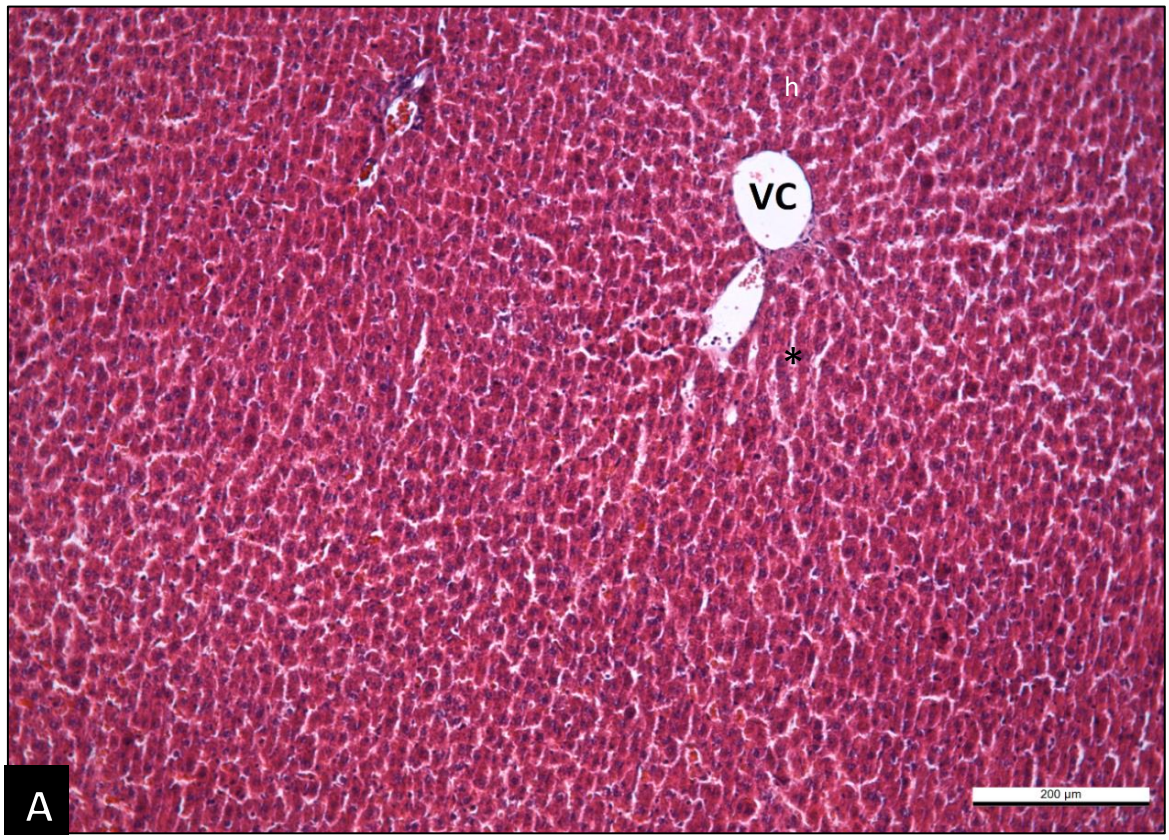
Sham grubuna ait HE ile boyanmış kesitlerde, sınırları ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde küçük ve büyük büyültmelerde, vena centralis çevresinde ışınsal tarzda düzenlenim gösteren, poligonal şekilli ve yuvarlak çekirdekli karaciğer parankim hücreleri (hepatositler) ile aralarında uzanan sinüzoidlerin normal yapıda olduğu gözlendi (Resim 4.6).

Safra yollarında ligasyon yapılan grubun H.E ile boyanmış kesitlerinde, sınırları birbirinden ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde, ışınsal tarzda düzenlenmesi gereken görünümlerde sinüzoidal aralıklarda bozulmalar izlendi (Resim 4.7A-C). Özellikle perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu (Resim 4.7C), konjesyon (Resim 4.7 D) gözlenirken, bazı perivasküler alanlarda yağlı dejenerasyonu andıran vakuoler oluşumlar saptandı (Resim 4.7 E,F). Bazı alanlarda ise karaciğer parankiminden sınırları net olarak ayırt edilebilen, piknotik çekirdekli, eozinofilik boyanma özelliği gösteren hücreler içeren psödolobül yapıları dikkati çekmekteydi (Resim 4.7 A,B).

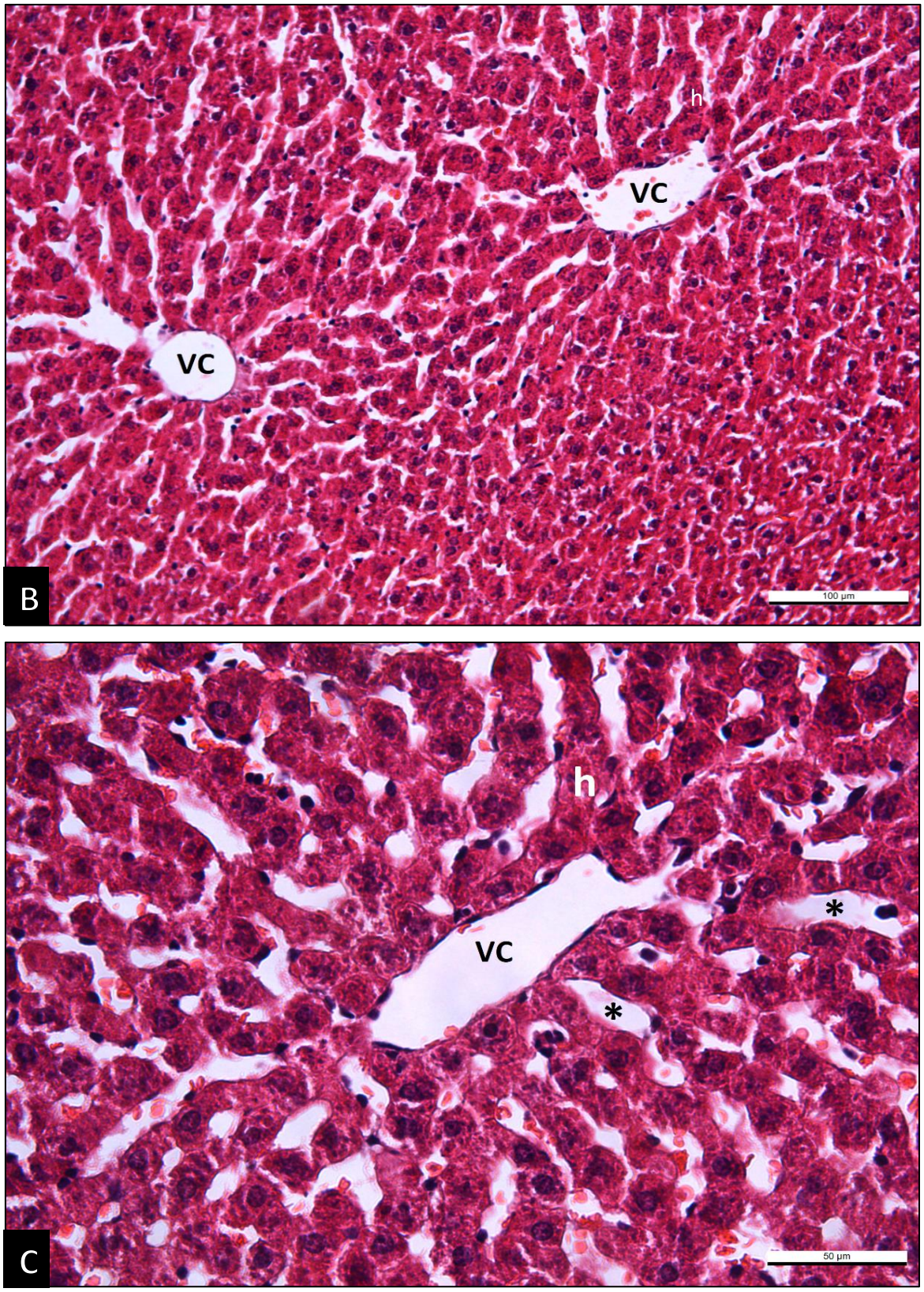
Safra yollarında ligasyon sonrasında *Cynara scolymus* L**.** ekstraktı uygulanan grupta yer yer karaciğer parankim hücrelerinin düzenleniminde, sinüzoidal aralıklarda bozulma, konjesyon, inflamatuar hücre infiltrasyonu devam ederken, bazı alanlarda normal yapının korunduğu dikkati çekmekteydi (Resim 4.8).

Safra yollarında ligasyon sonrasında Kolşisin uygulanan grubun H.E ile boyanmış kesitlerinde, sınırları ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde, boyanma özellikleri değişkenlik gösteren hepatositlerin varlığı saptandı. Bazı hepatositlerin çekirdeklerinin piknotik olduğu ve poligonal şekillerini kaybettikleri görüldü (Resim 4.9A-C). Ancak perivasküler alanlardaki inflamatuar hücre infiltrasyonunun safra yolu ligasyonu yapılan gruba göre azalmış olduğu dikkati çekti (Resim 4.9A-C). Karaciğer parankiminden sınırları net olarak ayırt edilebilen psödolobül yapılarının ise yer yer devam etmekle birlikte, ligasyon yapılan gruba göre yoğunluğunun azaldığı saptandı (Resim 4.9D).

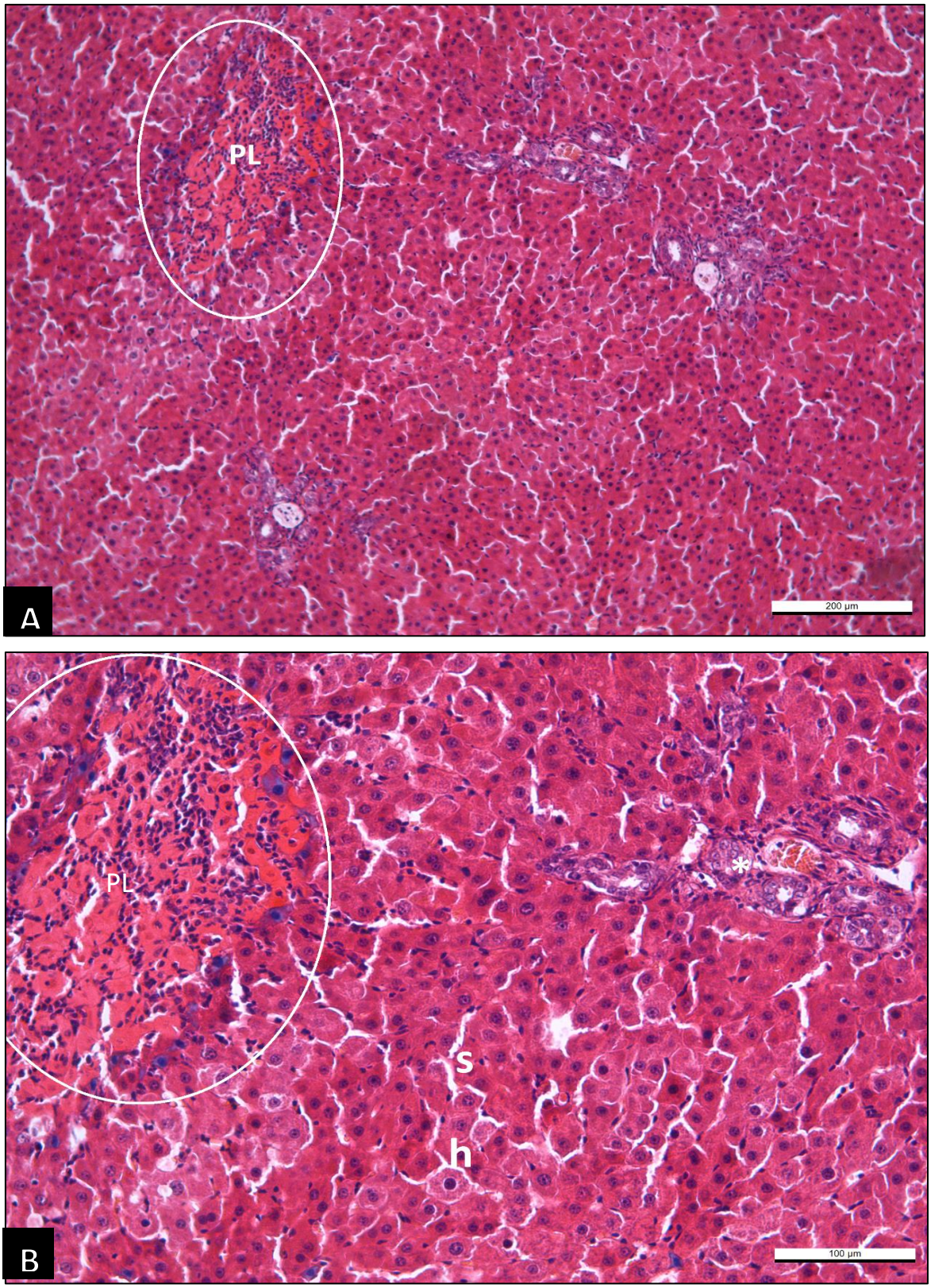
Pioglitazon verilen deney grubunun H.E ile boyanan kesitlerinde, inflamatuar hücre infiltrasyonunun yer yer azaldığı alanlar söz konusu iken (Resim 4.10A), bazı alanlarda ise inflamatuar hücre infiltrasyonunun devam ettiği dikkati çekti (Resim 4.10B). Karaciğer parankim hücrelerinin şekilleri ve düzenlenimleri, sinüzoidal aralıklarda bozulma, piknotik çekirdekli ve boyanma özellikleri farklılık gösteren hücrelerden oluşan psödolobül yapılarının varlığı bu grupta da safra ligasyonu yapılan gruba göre daha az olarak izlendi (Resim 4.10C).



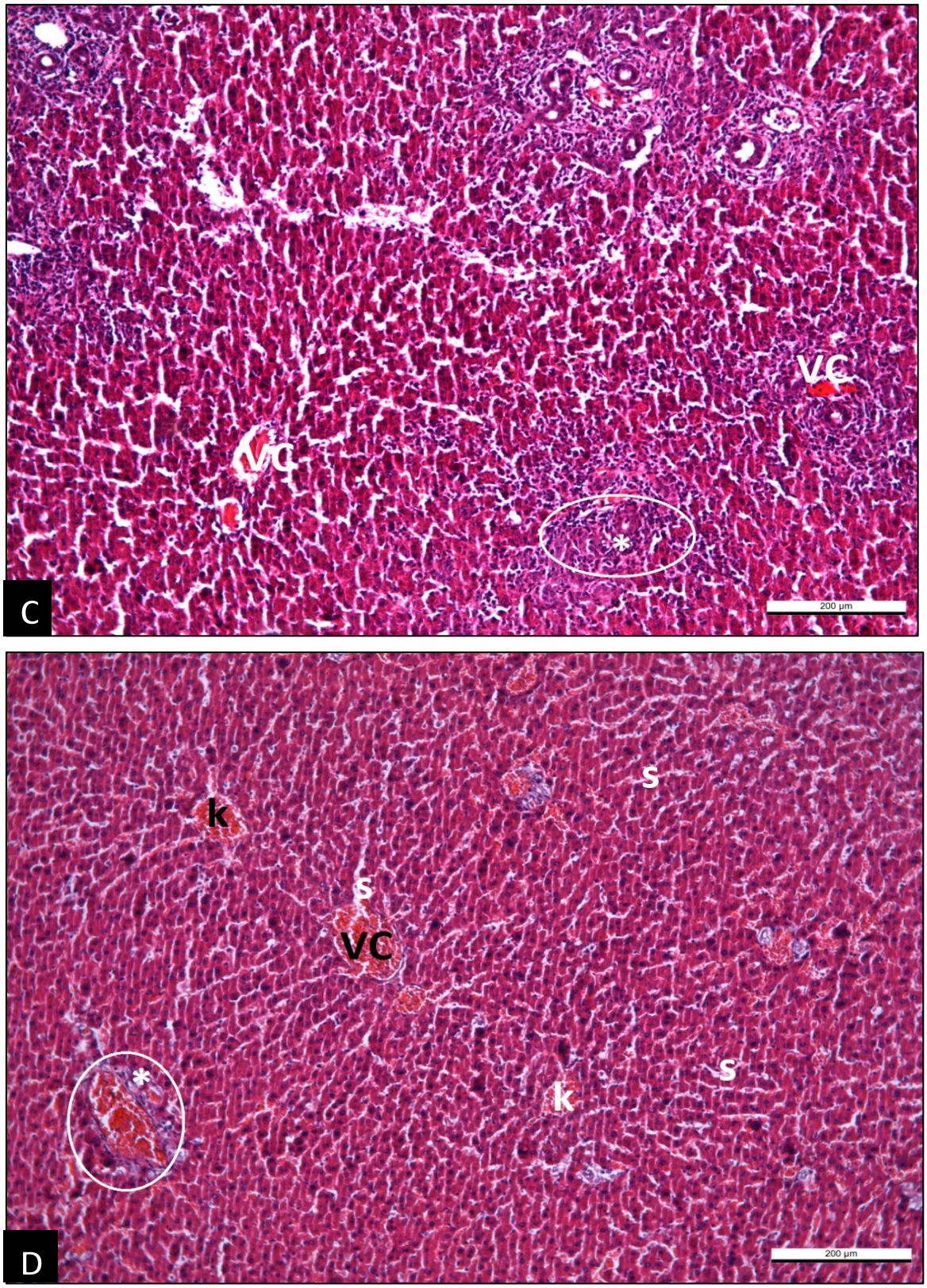
Resim 4. 6. (A): Sham grubuna ait HE boyamasında sınırları net olarak ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde, vena centralis (VC) çevresinde ışınsal tarzda düzenlenme gösteren poligonal şekilli ve yuvarlak çekirdekli hepatositlerin (h) oluşturduğu kordonlar arasında uzanan sinüzoidler (*) görülmekte



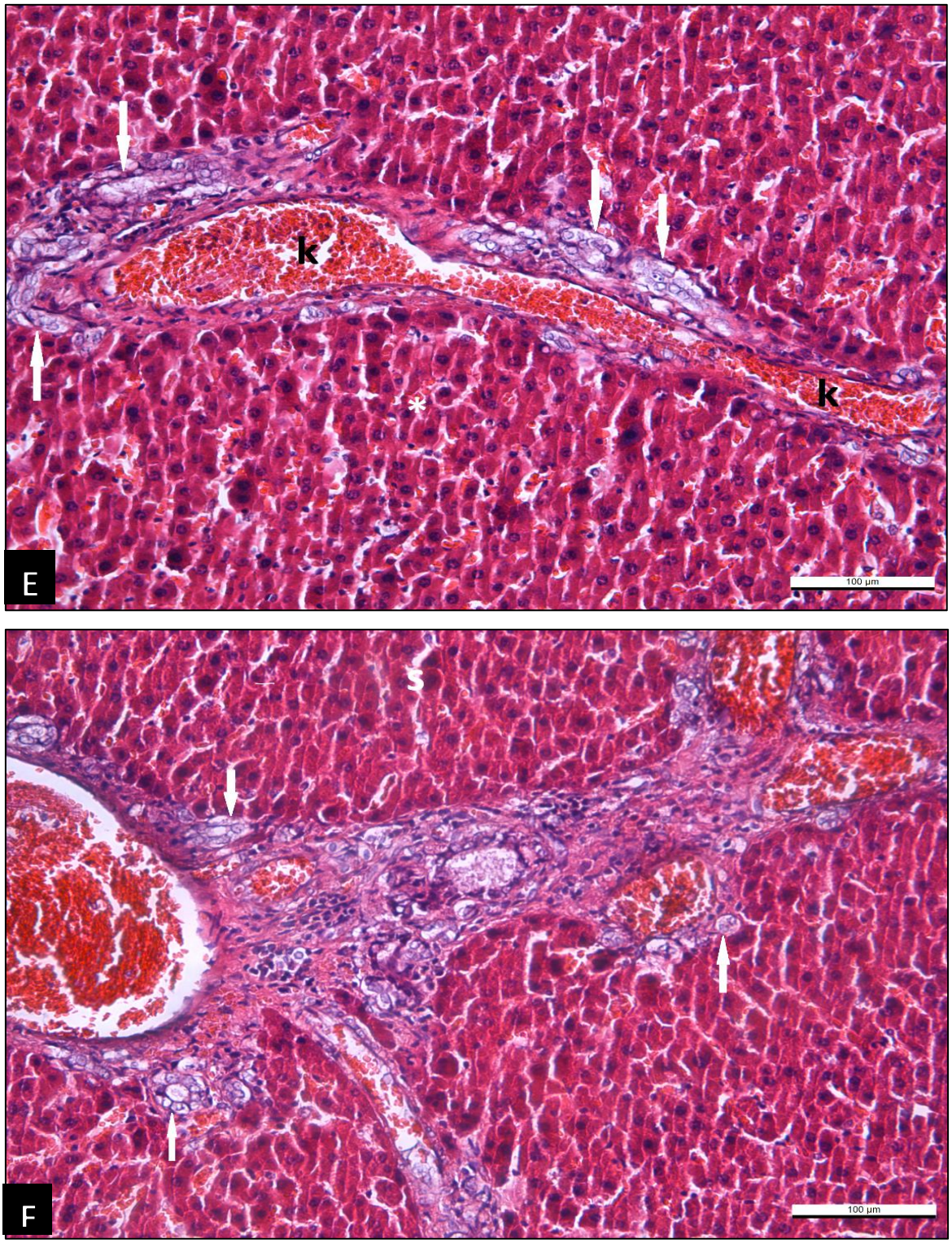
Resim 4.6. (devam). (B,C): Sham grubuna ait HE boyamasında sınırları net olarak ayırt edilemeyen karaciğer lobülleri içinde, vena centralis (VC) çevresinde ışınsal tarzda düzenlenme gösteren poligonal şekilli ve yuvarlak çekirdekli hepatositlerin (h) oluşturduğu kordonlar arasında uzanan sinüzoidler (*) görülmekte



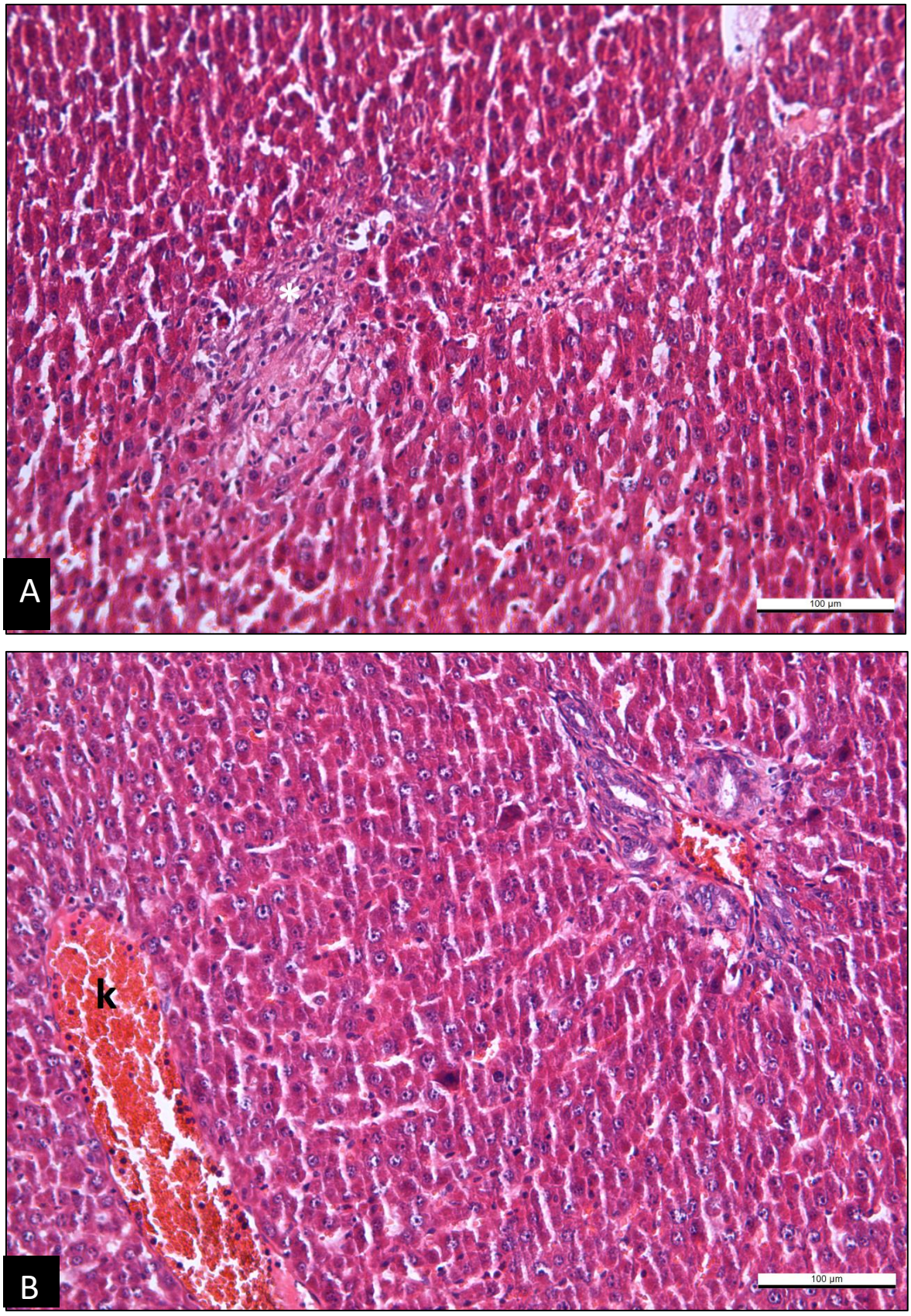
Resim 4.7. (A,B): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol gruba ait H.E boyamalarında, hepatosit düzenlenimleri ve sinüzoidal aralıklarda bozulma (S), perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), piknotik çekirdekli, eozinofilik boyanma özelliği gösteren hücrelerden oluşan psödolobül yapısı (PL) dikkati çekmekte



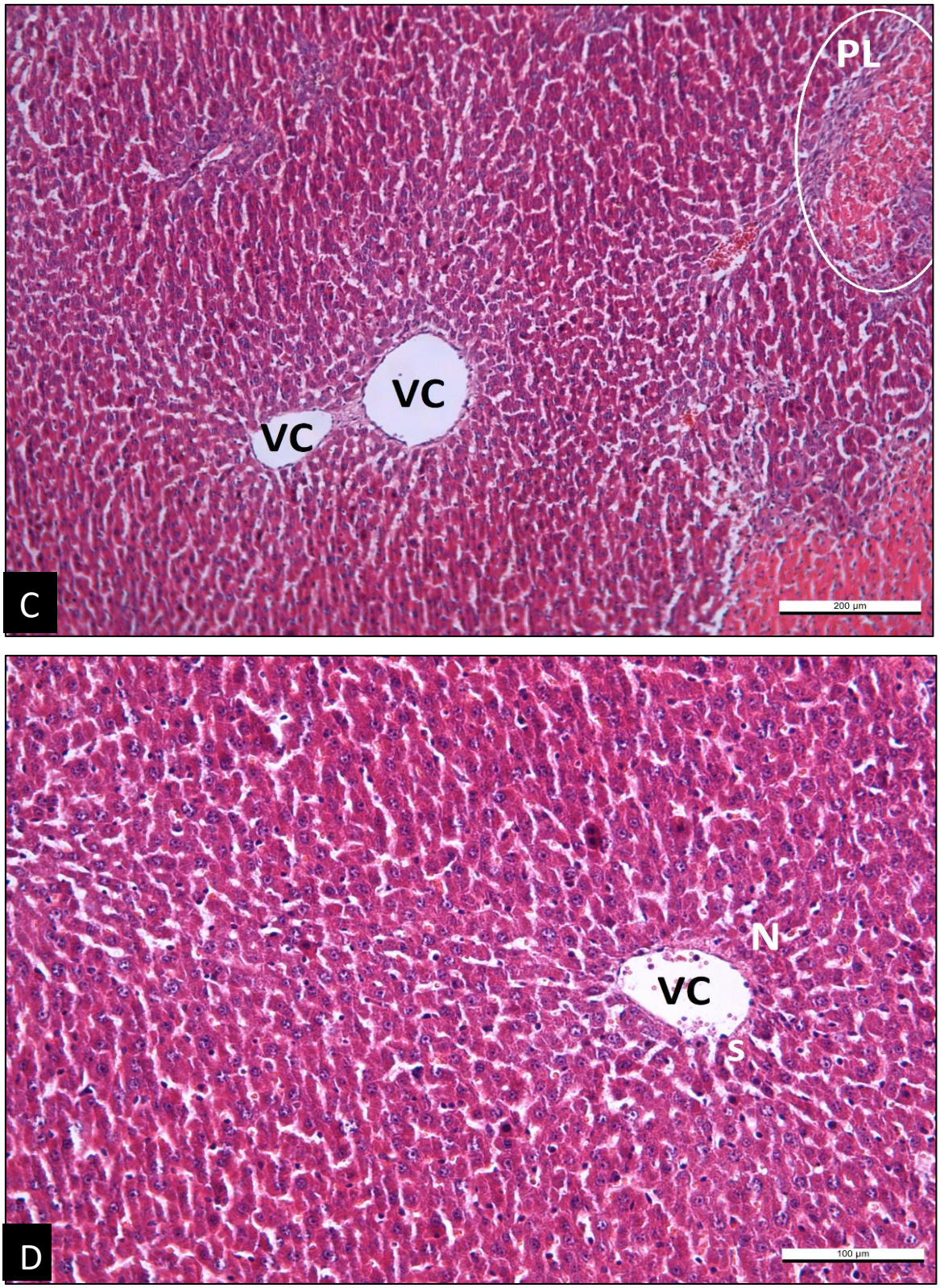
Resim 4.7. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol gruba ait H.E boyamalarında, hepatosit düzenlenimleri ve sinüzoidal aralıklarda bozulma (S), perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), konjesyon (k) dikkati çekmekte



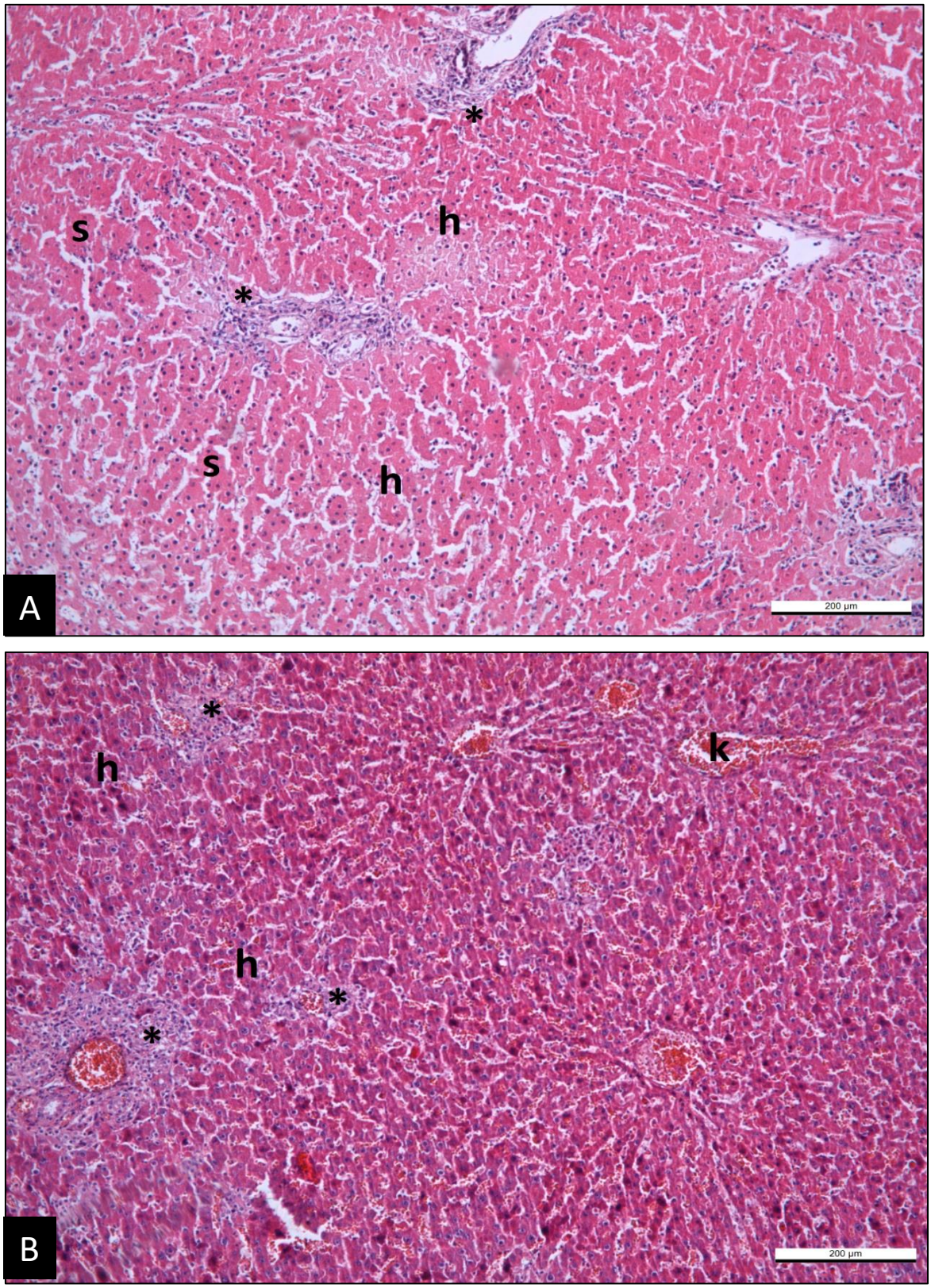
Resim 4.7. (devam). (E,F): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol gruba ait H.E boyamalarında, hepatosit düzenlenimleri ve perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), konjesyon (k), perivasküler alanda yağlı dejenerasyonu andıran vakuoler oluşumlar (→) dikkati çekmekte



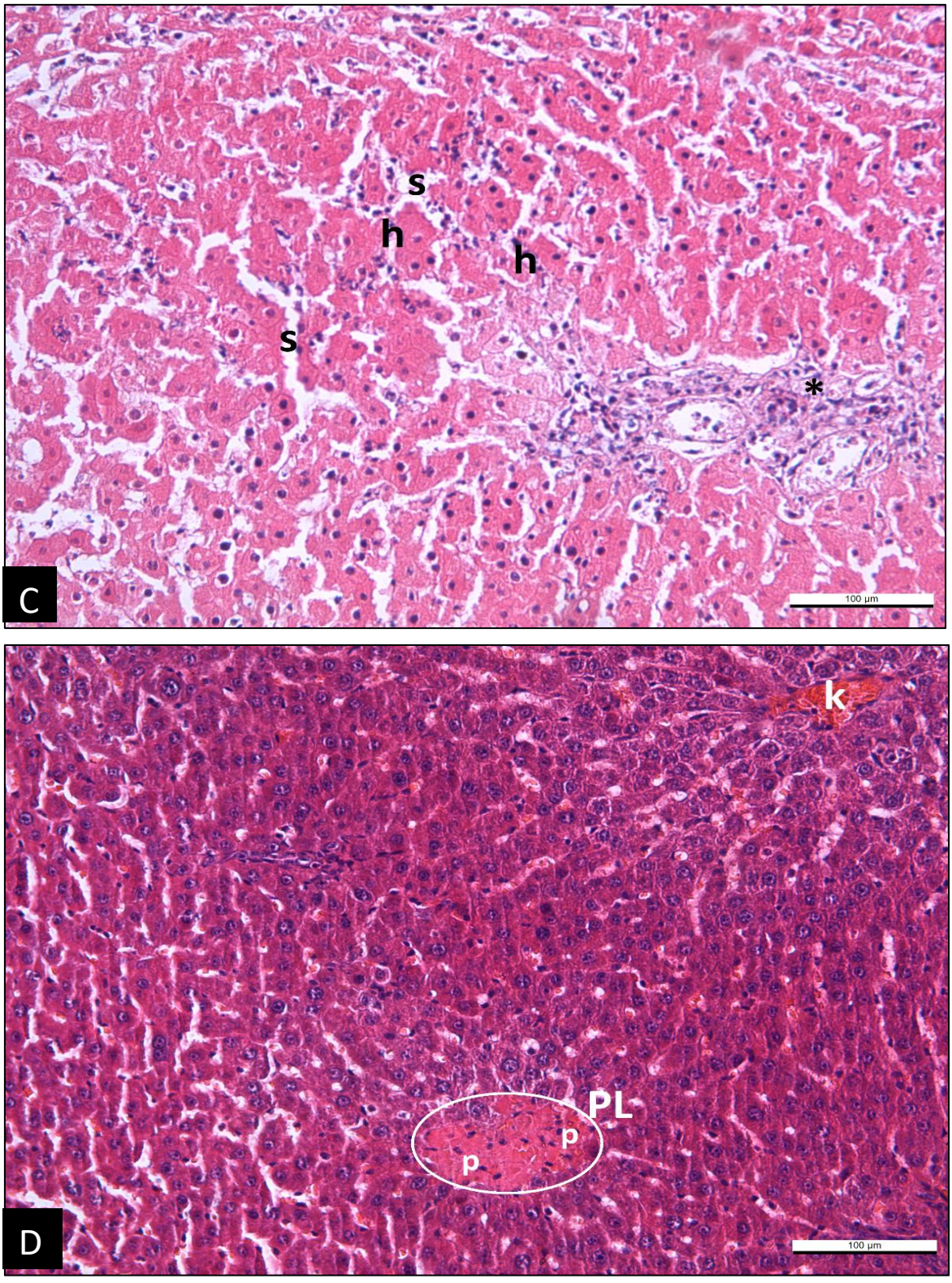
Resim 4.8. (A,B): Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait H.E boyamasında, inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), konjesyon (k) izlenmekte



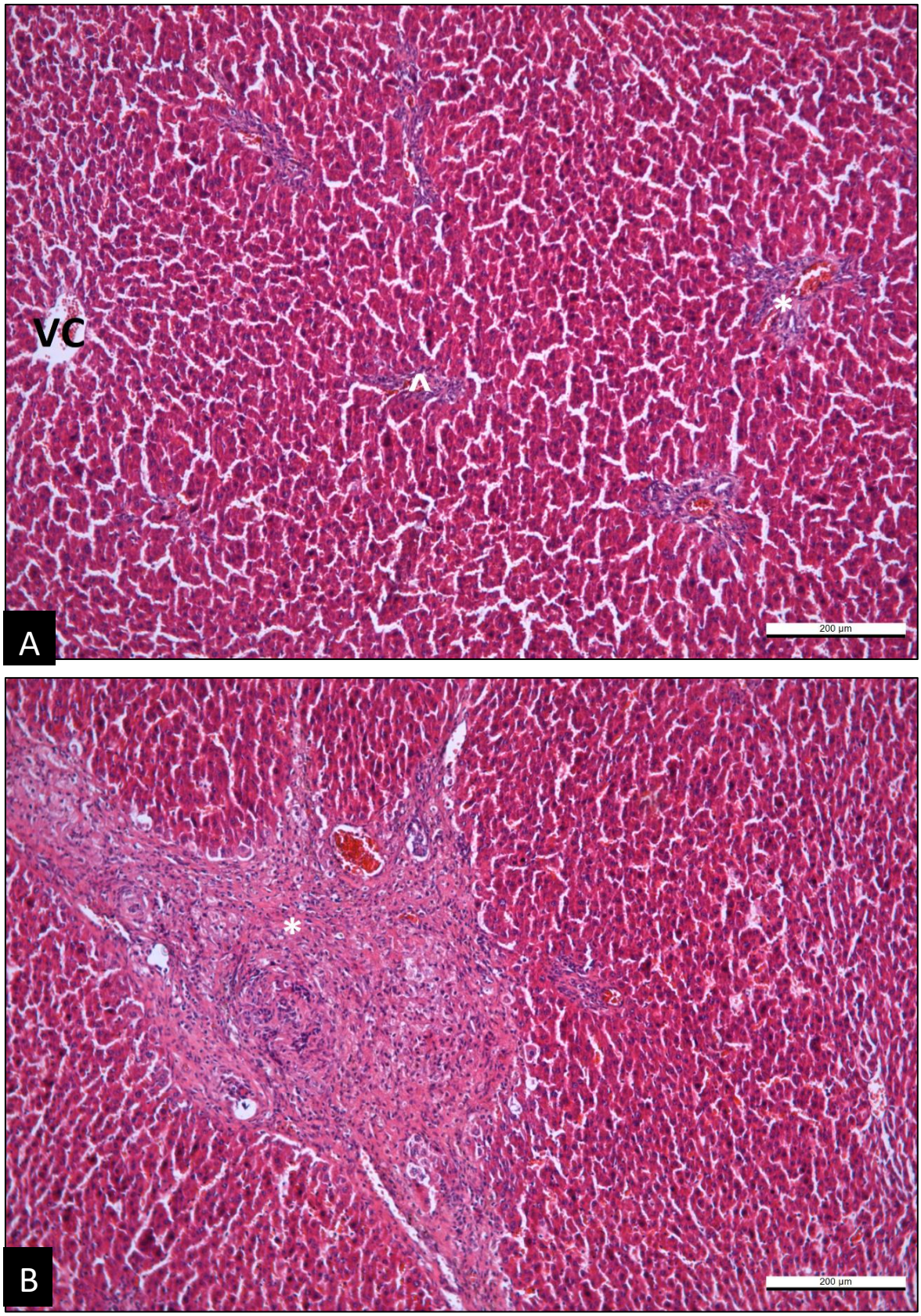
Resim 4.8. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait H.E boyamasında, hepatosit düzenlenimleri ve sinüzoidal aralıklarda bozulma (S), inflamatuar hücre infiltrasyonu (*), psödolobül yapısı (PL) yanı sıra normal yapıdaki alanlar (N) izlenmekte



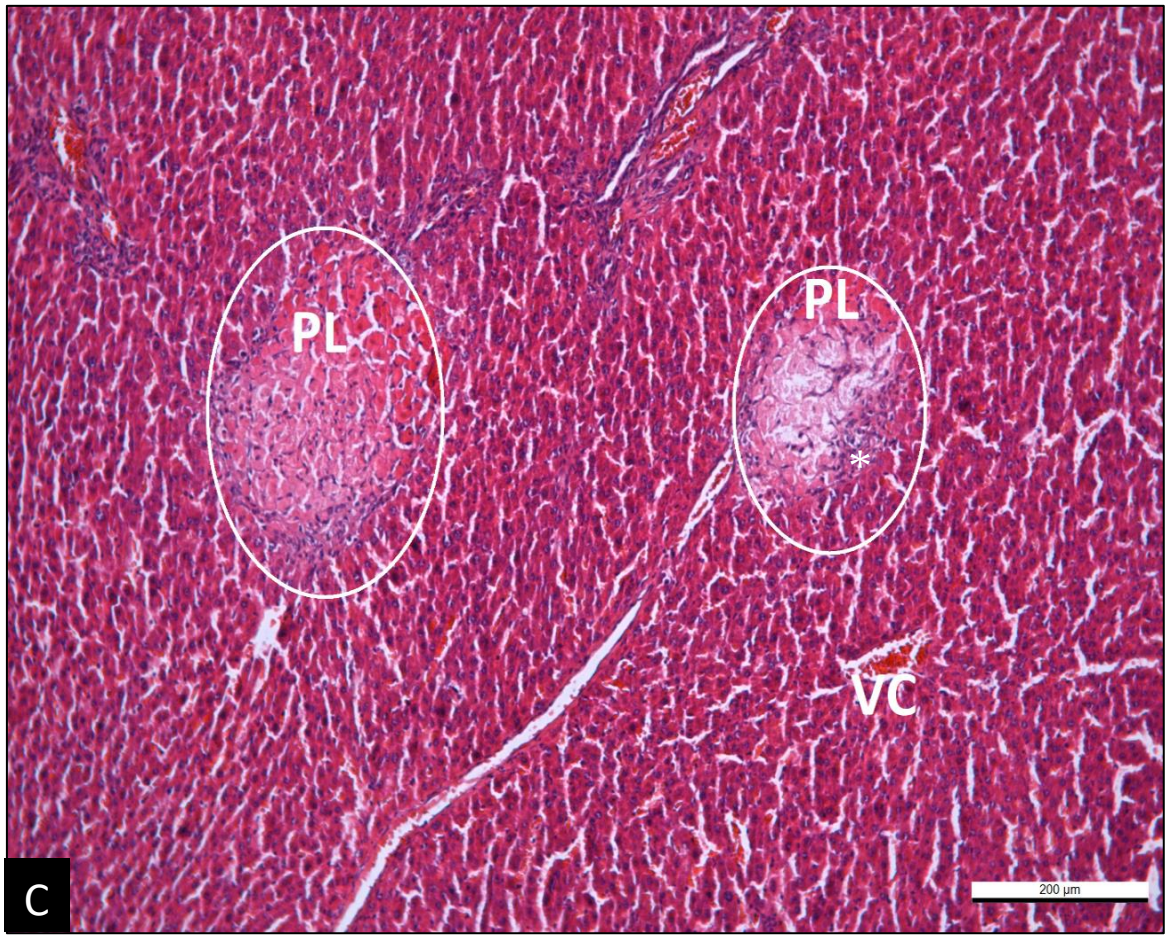
Resim 4.9. (A,B): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulanan gruba ait H.E boyamasında, boyanma özelliği değişkenlik gösteren hepatositler (h), konjesyon (k), perivasküler inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) ve sinüzoidal aralıklarda bozulma (S) izlenmekte



Resim 4.9. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulanan gruba ait H.E boyamasında, boyanma özelliği değişkenlik gösteren hepatositler (h), konjesyon (k), perivasküler inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) ve piknotik çekirdekli (p), safra ligasyonu yapılan gruba göre daha küçük eozinofil boyanan hücrelerden oluşan psödolobül (PL) yapısı izlenmekte



Resim 4.10. (A,B): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulanan gruba ait H.E boyamasında, yer yer inflamatuar hücre infiltrasyonunun azaldığı alanlar (^) ile bazı alanlarda devam eden inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) gözlenmekte



Resim 4.10. (devam). (C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulanan gruba ait H.E boyamasında, bazı alanlarda devam eden inflamatuar hücre infiltrasyonu (*) ve psödolobül yapısı (PL) gözlenmekte

4.2.2. Gümüşleme ve Masson Trikrom boyama yöntemi bulguları

Karaciğer hasarları ya da karaciğerin inflamatuar olgularında, karaciğerdeki ito hücrelerinin miyofibroblastlara dönüşerek Tip 1 ve Tip 3 (=retikulum) kollajen liflerini (retikulum lifleri) sentezleyerek karaciğer fibrozisine giden süreci başlattıkları düşünülmektedir [131].

Bu çalışmada da safra yolları ligasyonu yapılan grup ile diğer deney gruplarında fibrotik sürece giden değişiklikleri göstermek amacıyla; bağ dokusunun kollajen liflerini görüntülemek amacıyla Masson trikrom ile Tip 3 kollajen (retikulum) liflerini görüntülemek amacıyla gümüşleme yöntemi uygulanmıştır.

Gümüşleme yöntemi bulguları

Sham grubunda, karaciğer dokusunda vena centralis çevresinde ve stromal normal yoğunlukta retikulum lifleri saptanırken (Resim 4.11), safra yolları ligasyonu yapılan

Kontrol grupta vena centralis çevresinde, lobüller arasında ve tüm karaciğer stromasında diğer gruplara göre daha yoğun ve diffüz retikulum lifi görünümü gözlendi (Resm 4.12).

Safra yolları ligasyonu sonrasında Enginar ekstraktı (*Cynara scolymus* L.) uygulanan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis çevresinde ve tüm karaciğer stromasında sham grubu dışında diğer deney gruplarına göre azalmış retikulum lif yoğunluğu dikkati çekti (Resim 4.13).

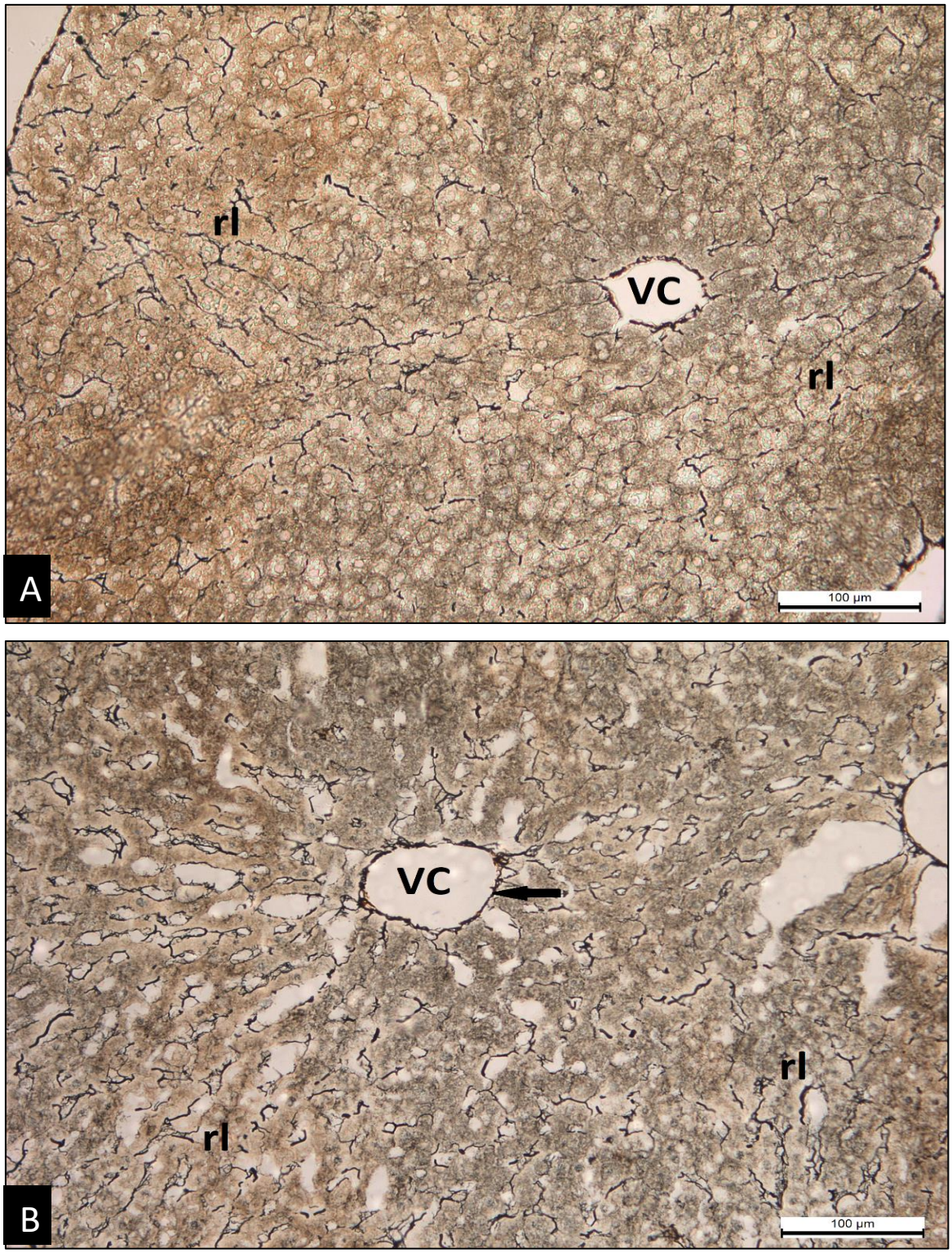
Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis ve tüm karaciğer stromasında retikulum lif yoğunluğunun devam ettiği görüldü (Resim 4.14) ve (Resim 4.15).

Masson trikrom Boyama yöntemi bulguları

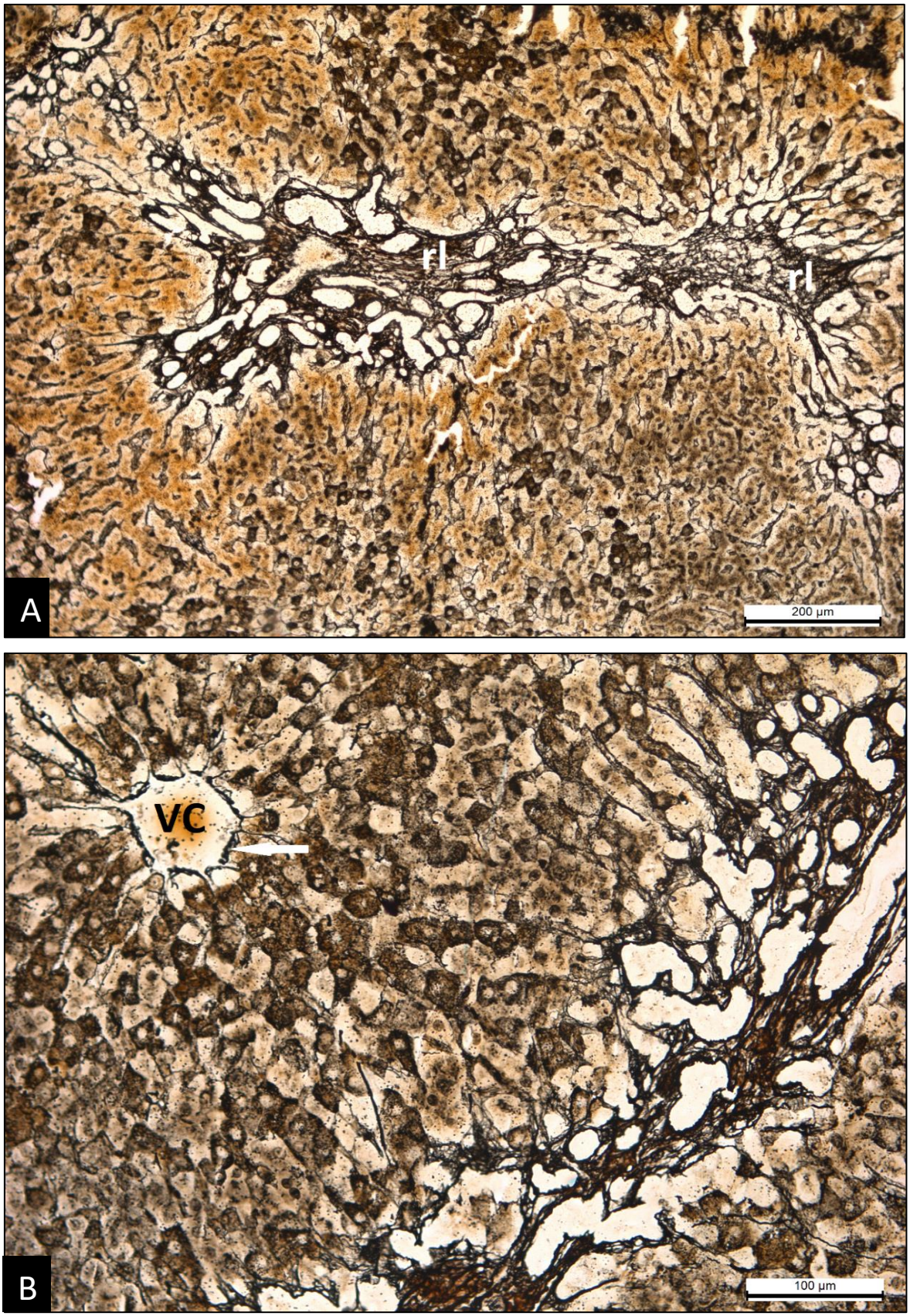
Sham grubunda, vena centralis çevresinde kollagen liflerin ince ve sirküler bir düzenlenim gösterdiği görüldü (Resim 4.16). Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grupta vena centralis çevresinde, karaciğer stromasında, perivasküler alanda, portal alandaki safra kanalları ve vasküler oluşumların çevresinde, diğer deney gruplarına göre diffüz ve yoğun kollajen lif yapılanması dikkati çekti (Resim 4.17).

Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan grupta, Sham grubu dışında, diğer deney gruplarına göre vena centralis çevresinde, karaciğer stromasındaki kollajen lif yoğunluğunun azaldığı görüldü (Resim 4.18).

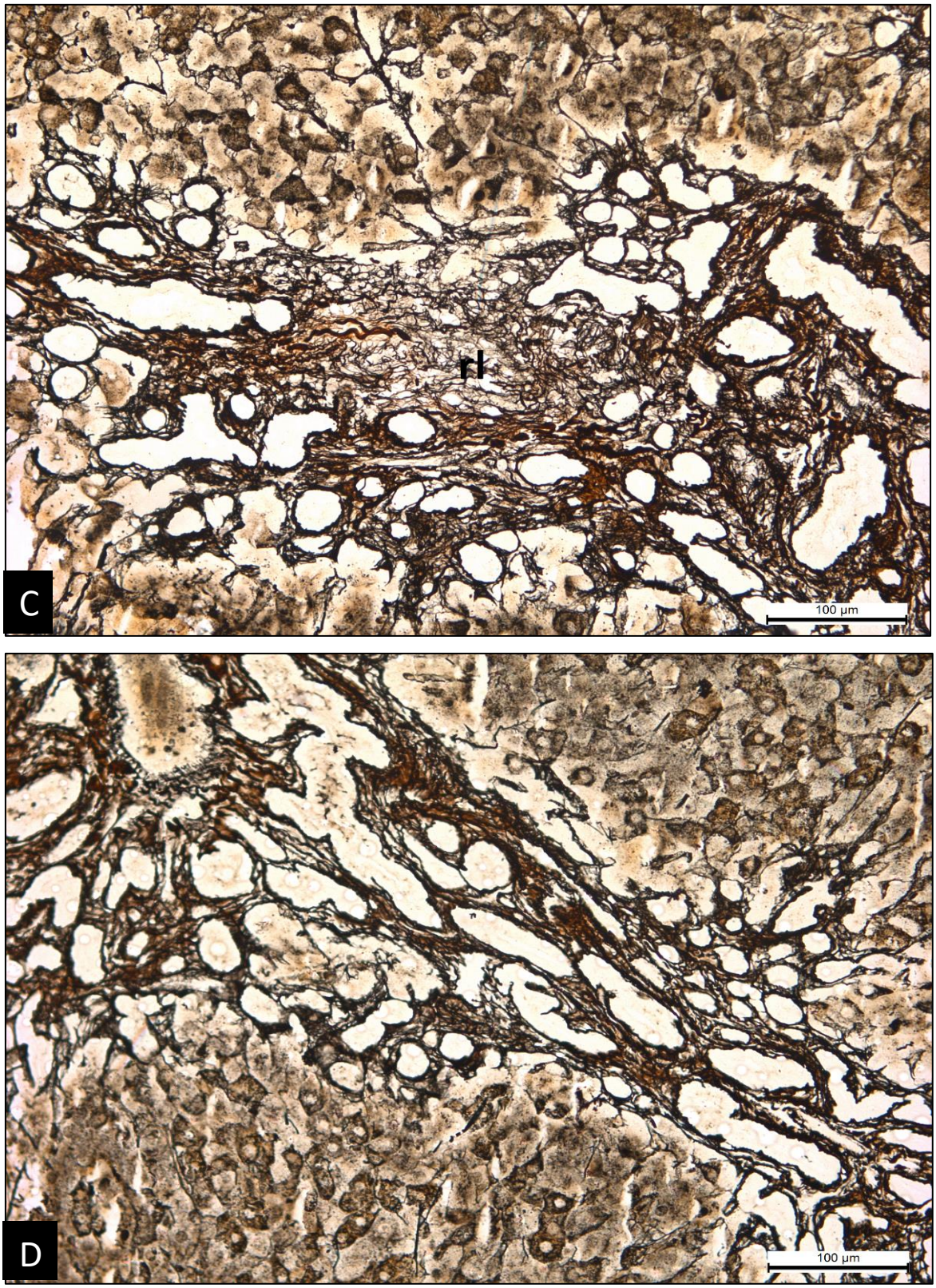
Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin ve Pioglitazon uygulanan gruba ait Masson trikrom boyamasında, vena centralis çevresinde, karaciğer stromasında, safra kanalları ve vasküler oluşumlar çevresinde kollajen liflere rastlandı (Resim 4.19) ve (Resim 4.20).



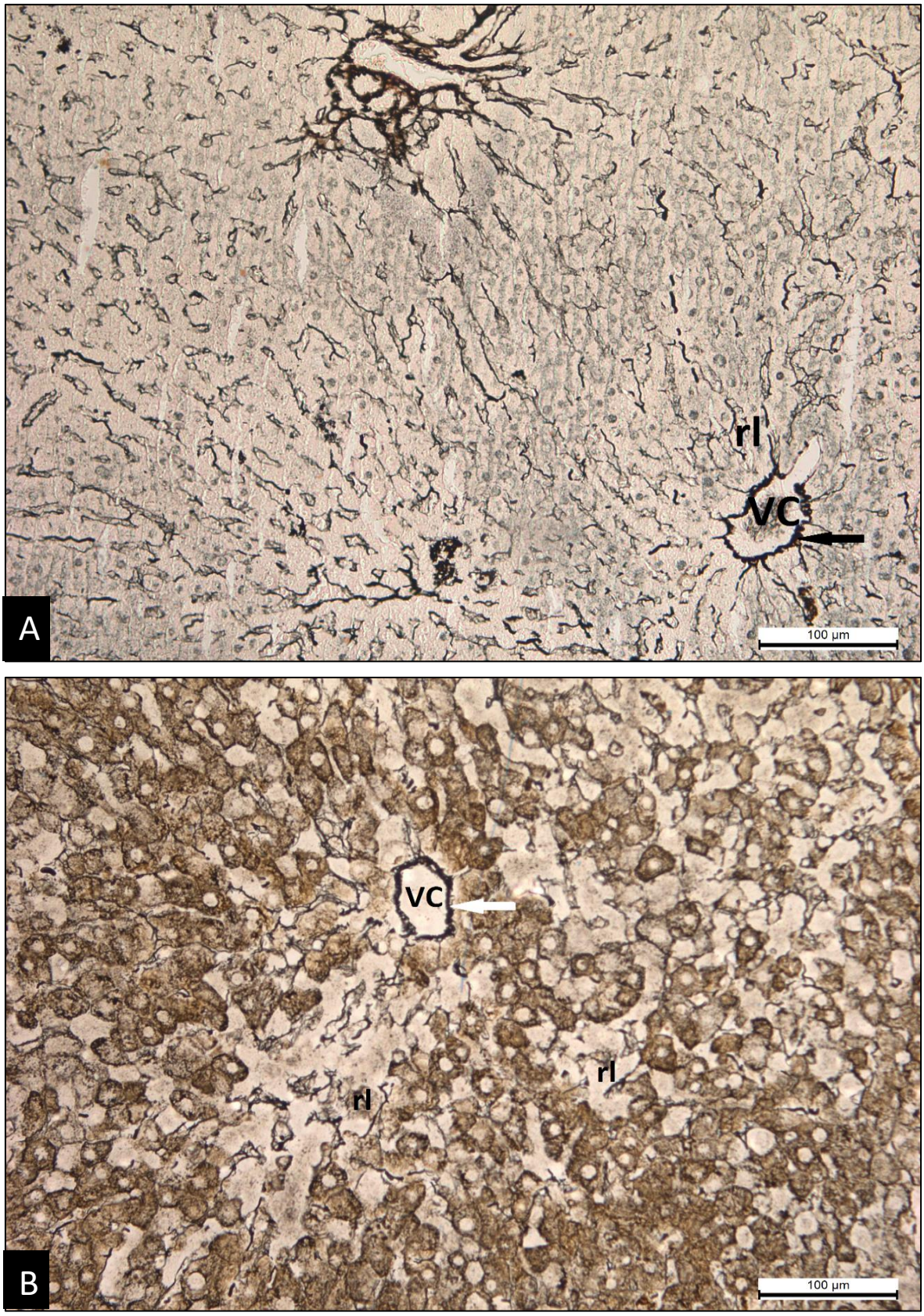
Resim 4.11. (A,B): Sham grubuna ait Gümüşleme boyamasında vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte



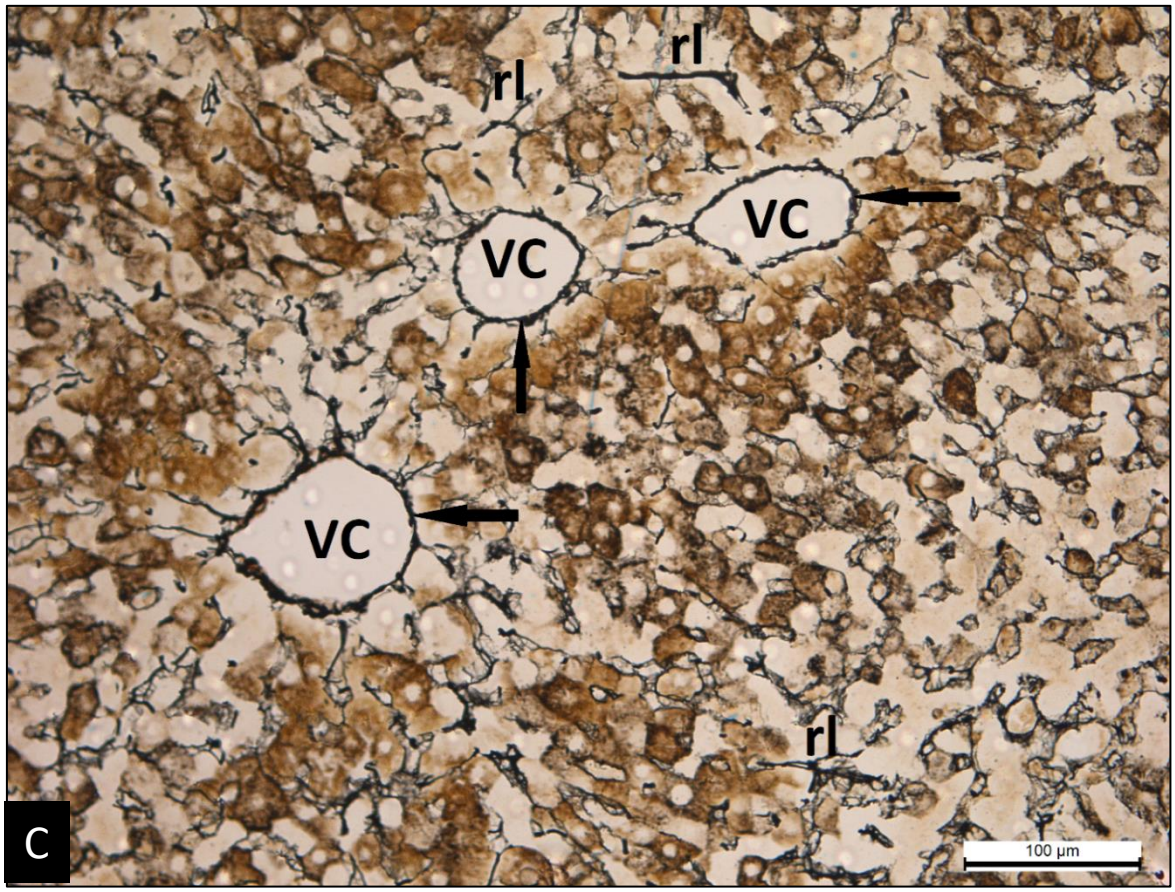
Resim 4.12. (A,B): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grubuna ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→), lobüller arasında, tüm karaciğer stromasında ağsı yapıda diffüz ve yoğun retikulum lifleri (rl) görülmekte



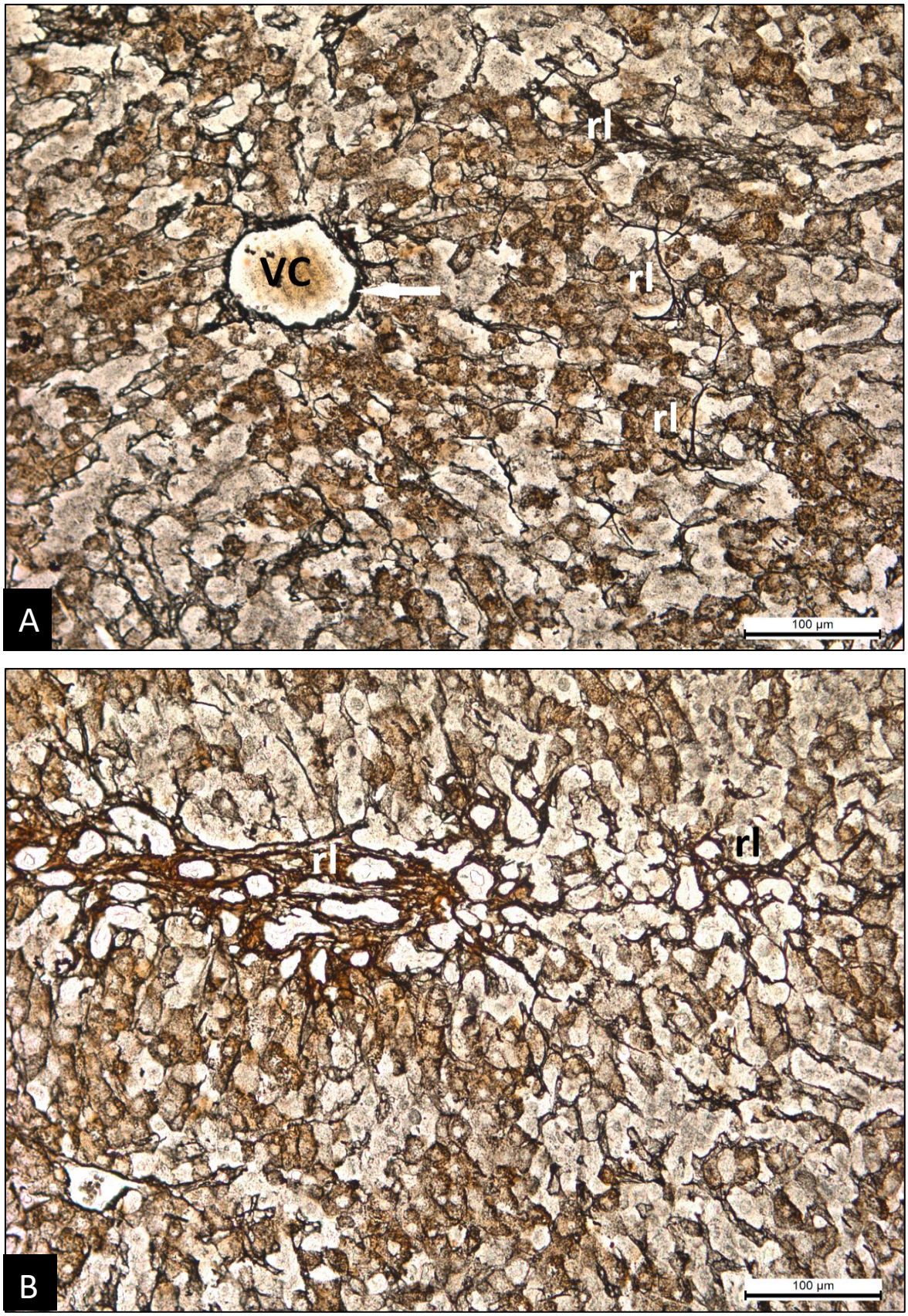
Resim 4.12. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grubuna ait Gümüşleme boyamasında, tüm karaciğer stromasında ağsı yapıda diffüz ve yoğun retikulum lifleri (rl) görülmekte



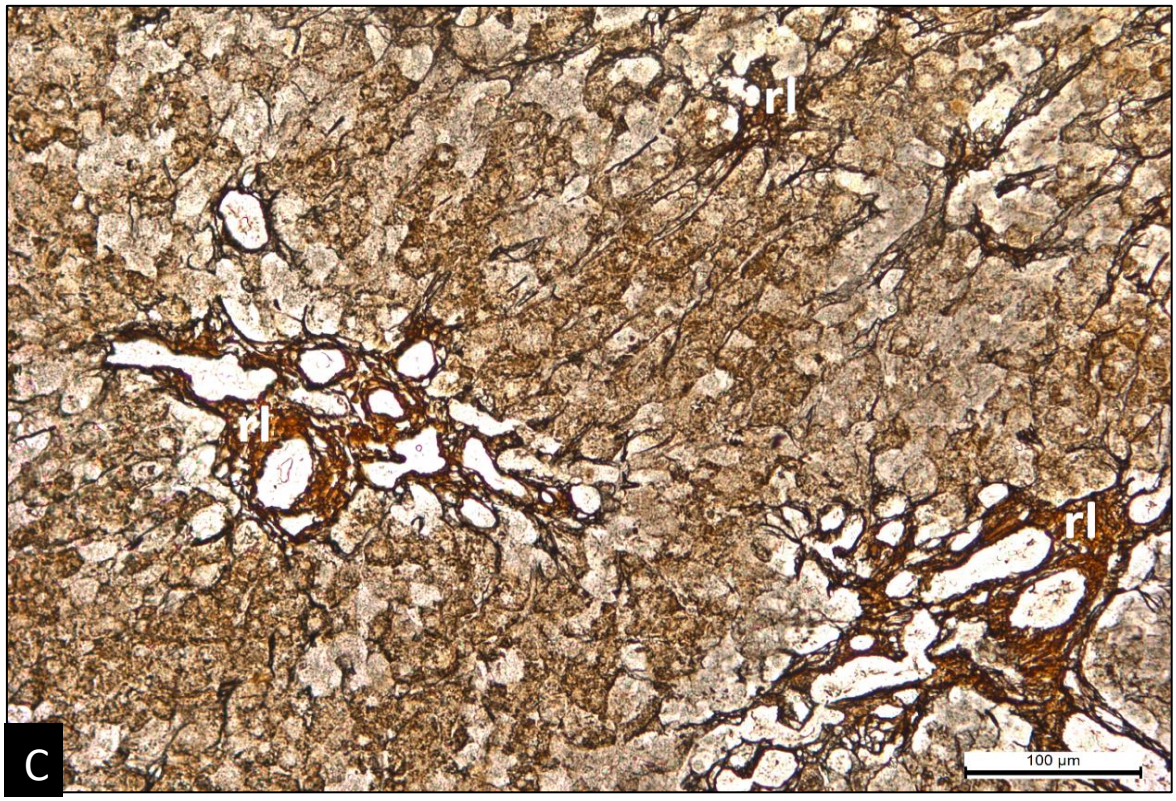
Resim 4.13. (A,B): Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasında diğer deney gruplarına göre retikulum lif (rl) yoğunluğunun azaldığı dikkati çekmekte.



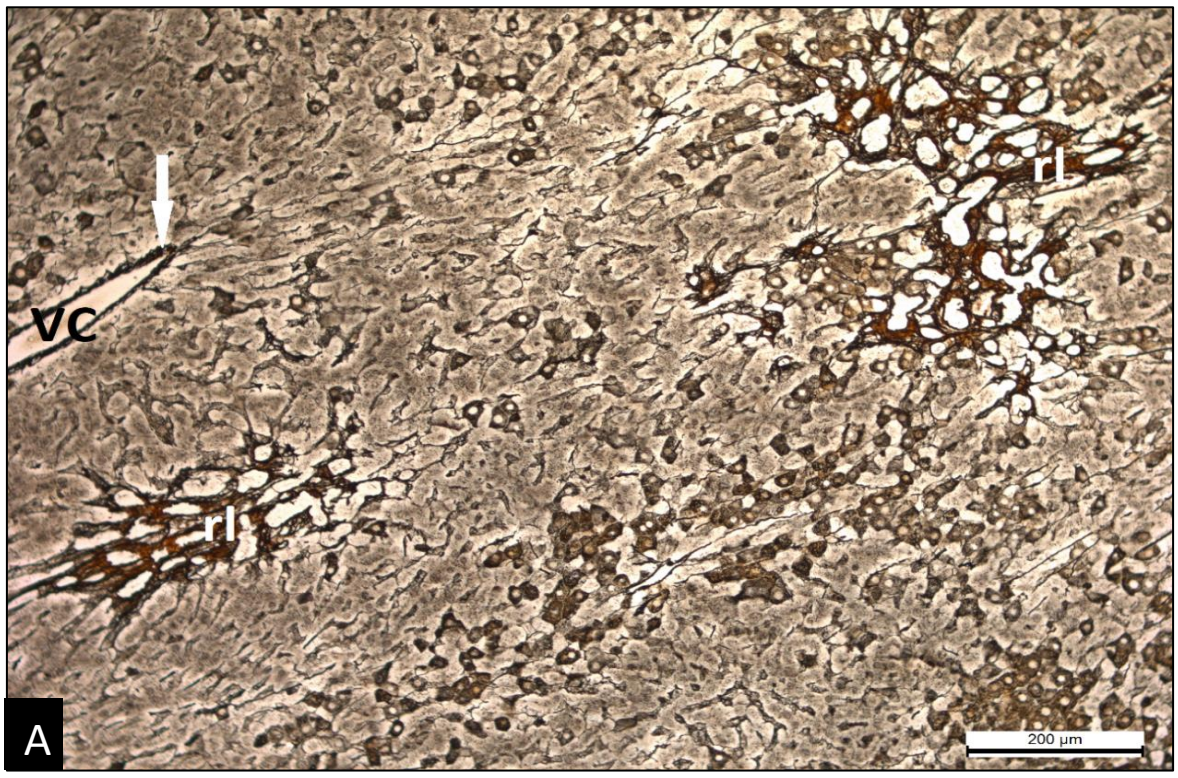
Resim 4.13. (devam). (C): Safra yolları ligasyonu sonrasında enginar *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasında diğer deney gruplarına göre retikulum lif (rl) yoğunluğunun azaldığı dikkati çekmekte



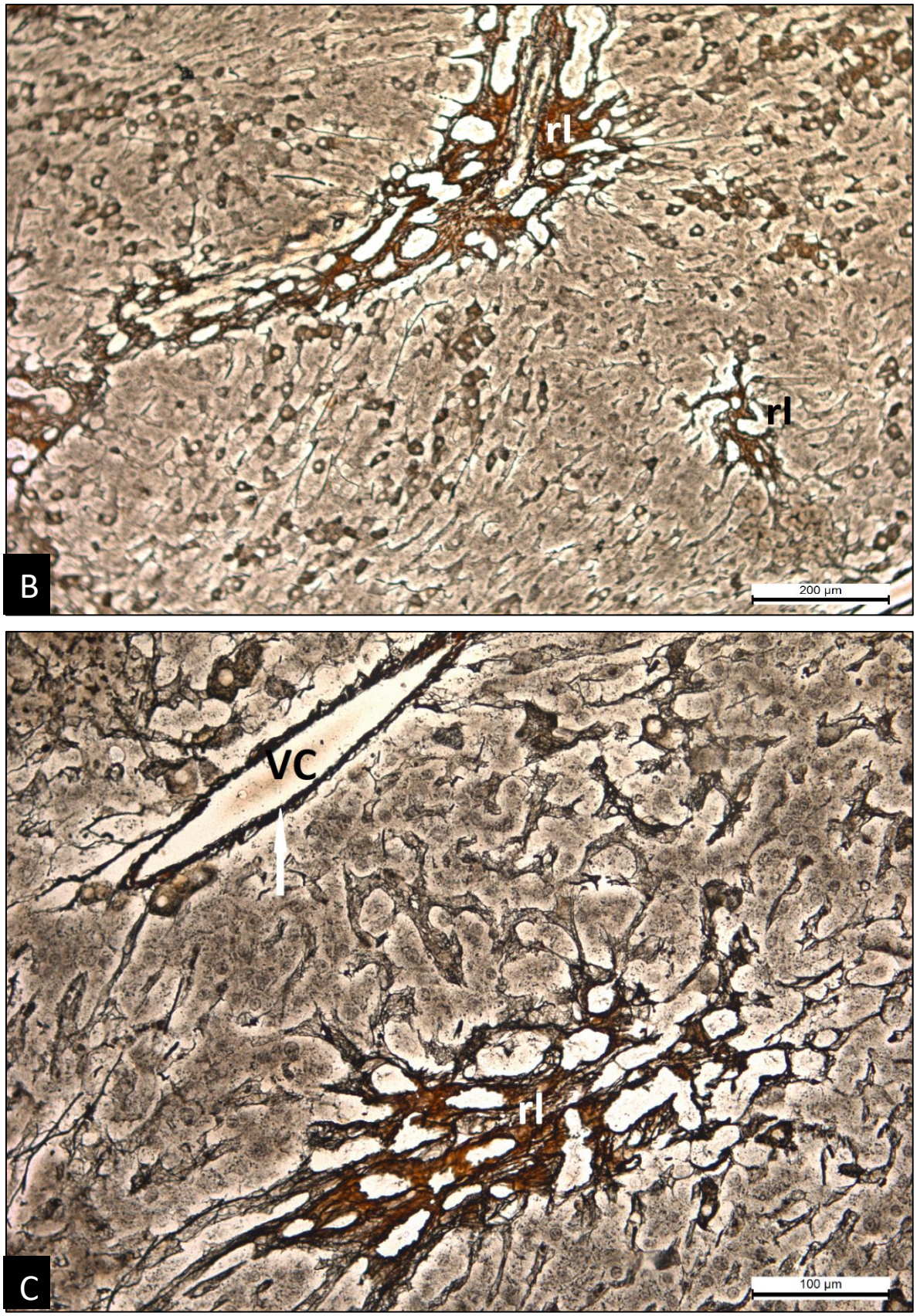
Resim 4.14. (A,B): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte



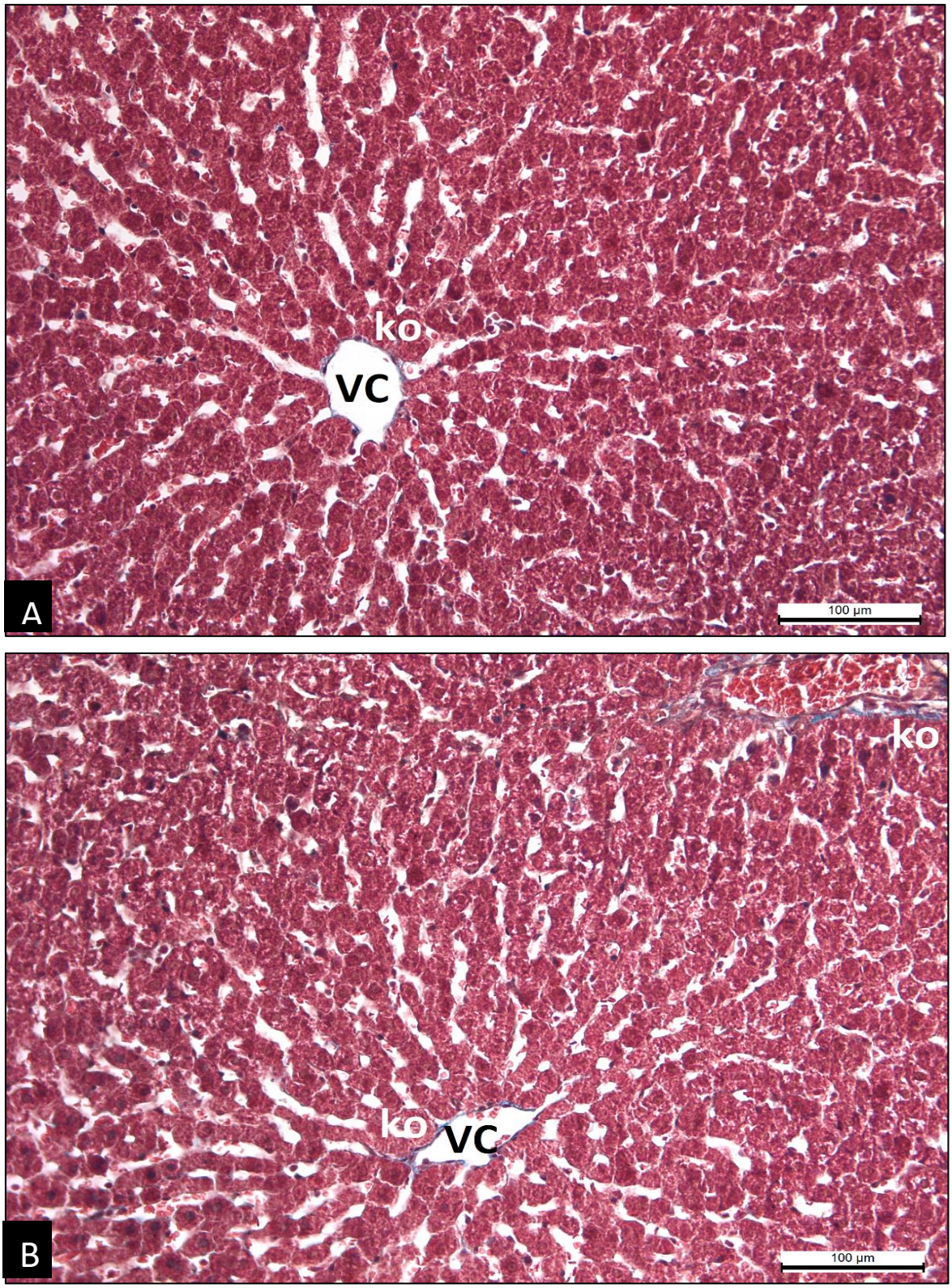
Resim 4.14. (devam). (C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Kolşisin uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte



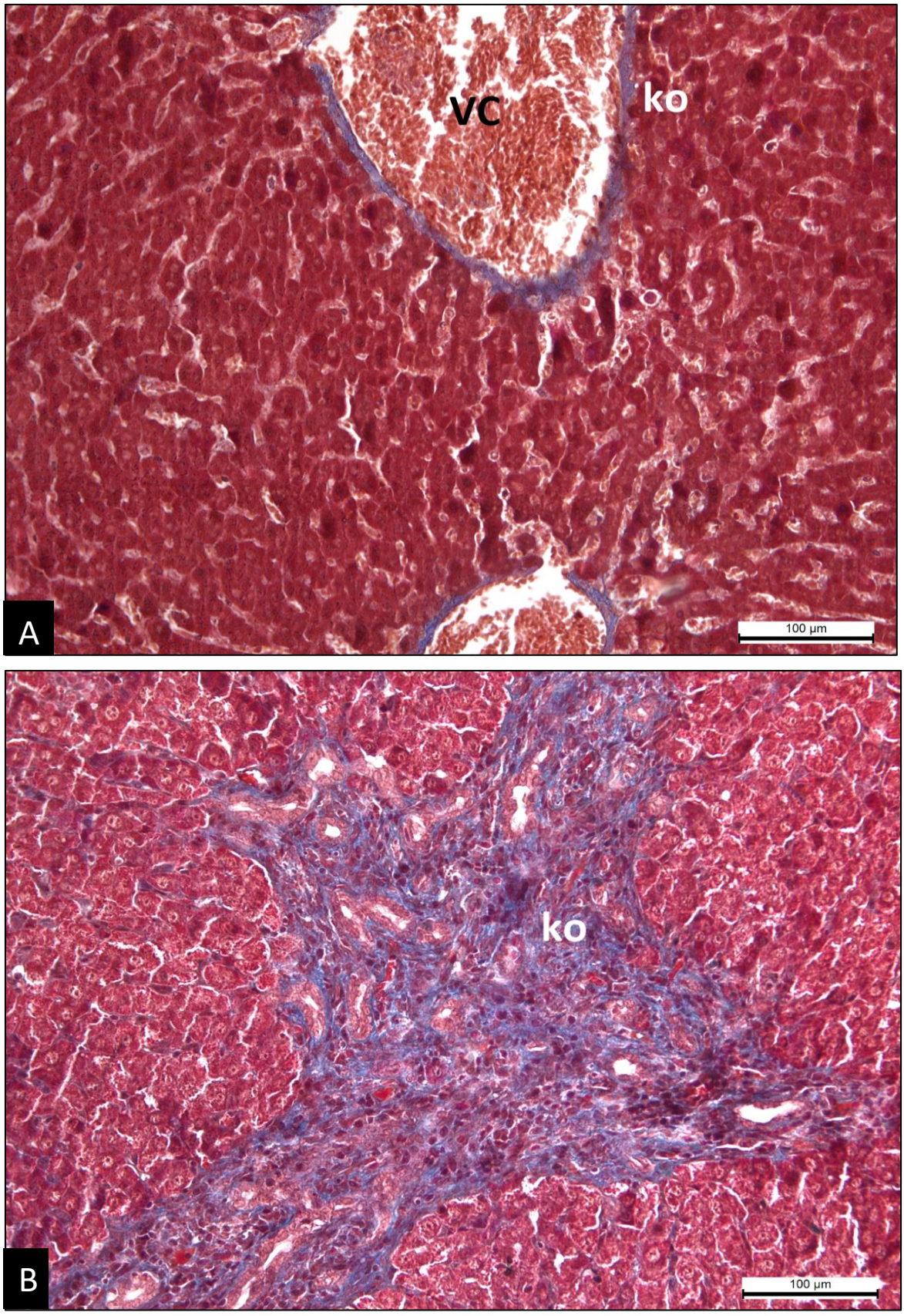
Resim 4.15. (A): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte



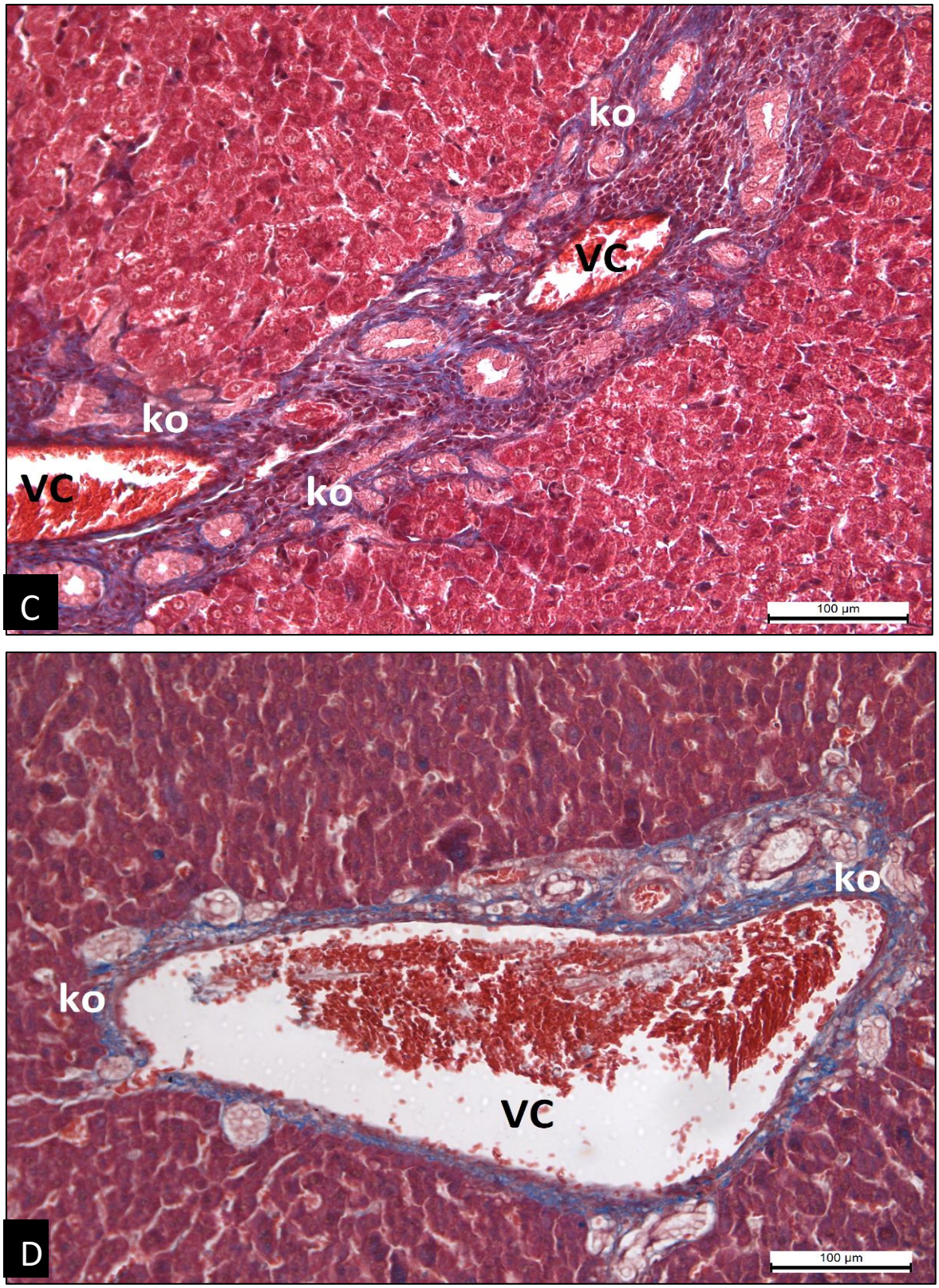
Resim 4.15. (devam). (B,C): Safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait Gümüşleme boyamasında, vena centralis (VC) çevresinde (→) ve karaciğer stromasındaki retikulum lifleri (rl) görülmekte



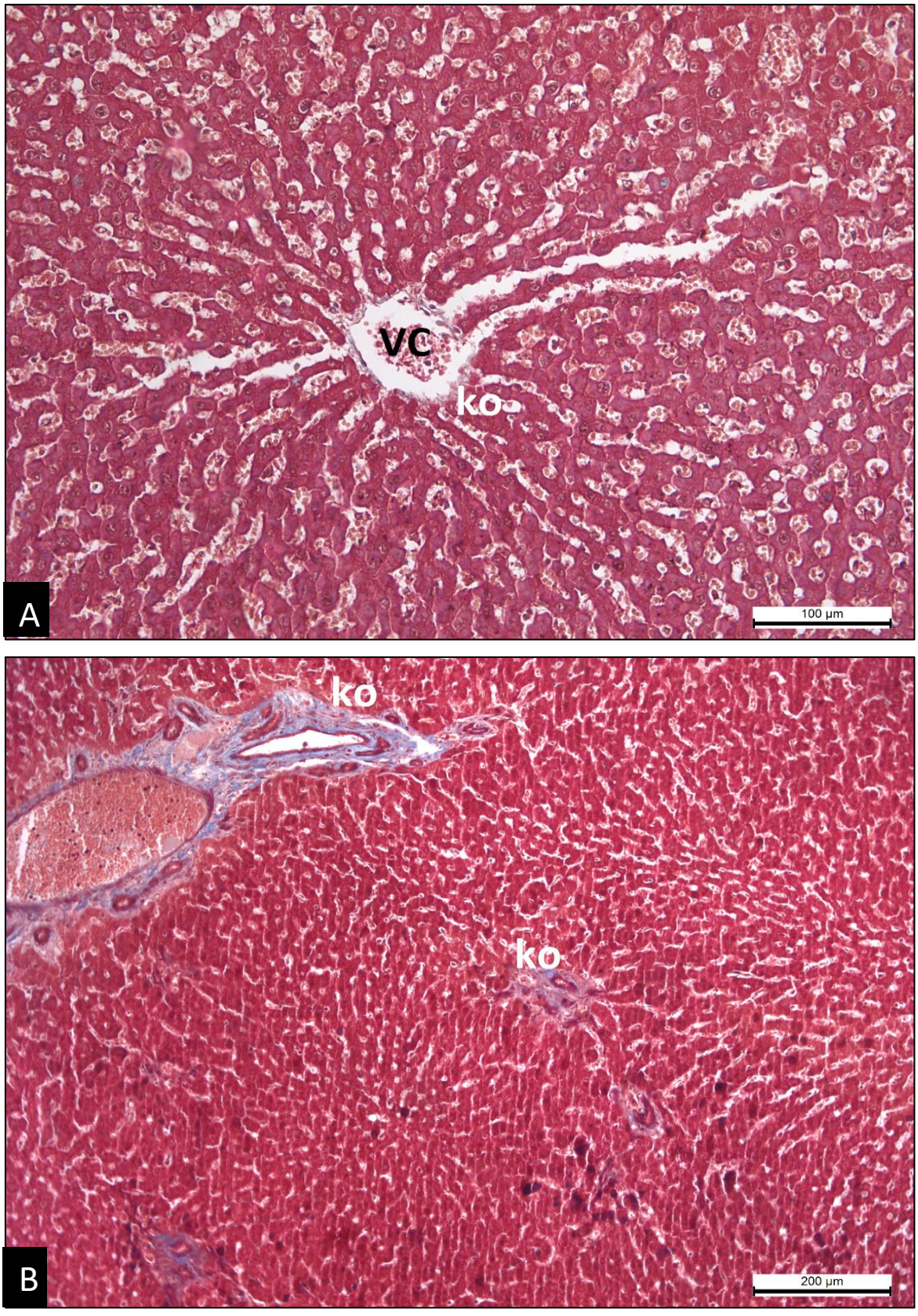
Resim 4.16. (A,B): Sham grubuna ait Masson trikrom boyamasında, karaciğer dokusunda vena centralis (VC) çevresinde ince sirküler düzenlenim gösteren mavi renkte boyanan kollajen lifler (ko) görülmekte



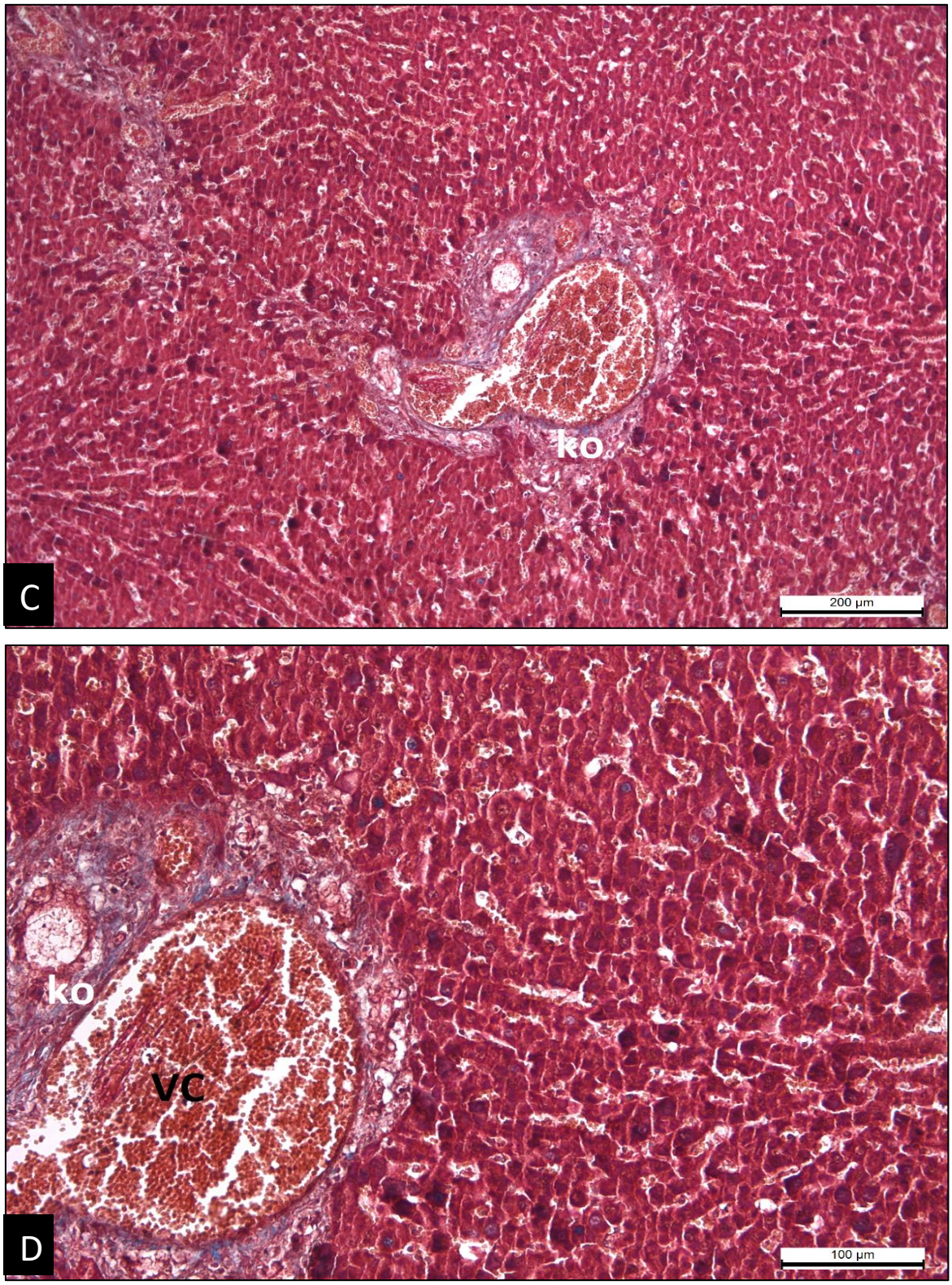
Resim 4.17. (A,B): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis çevresinde (VC), stromada, vasküler oluşumlar çevresinde ve safra kanallları çevresinde diffüz ve yoğun mavi renkte boyanan kollajen lif (ko) dağılımı gözlenmekte



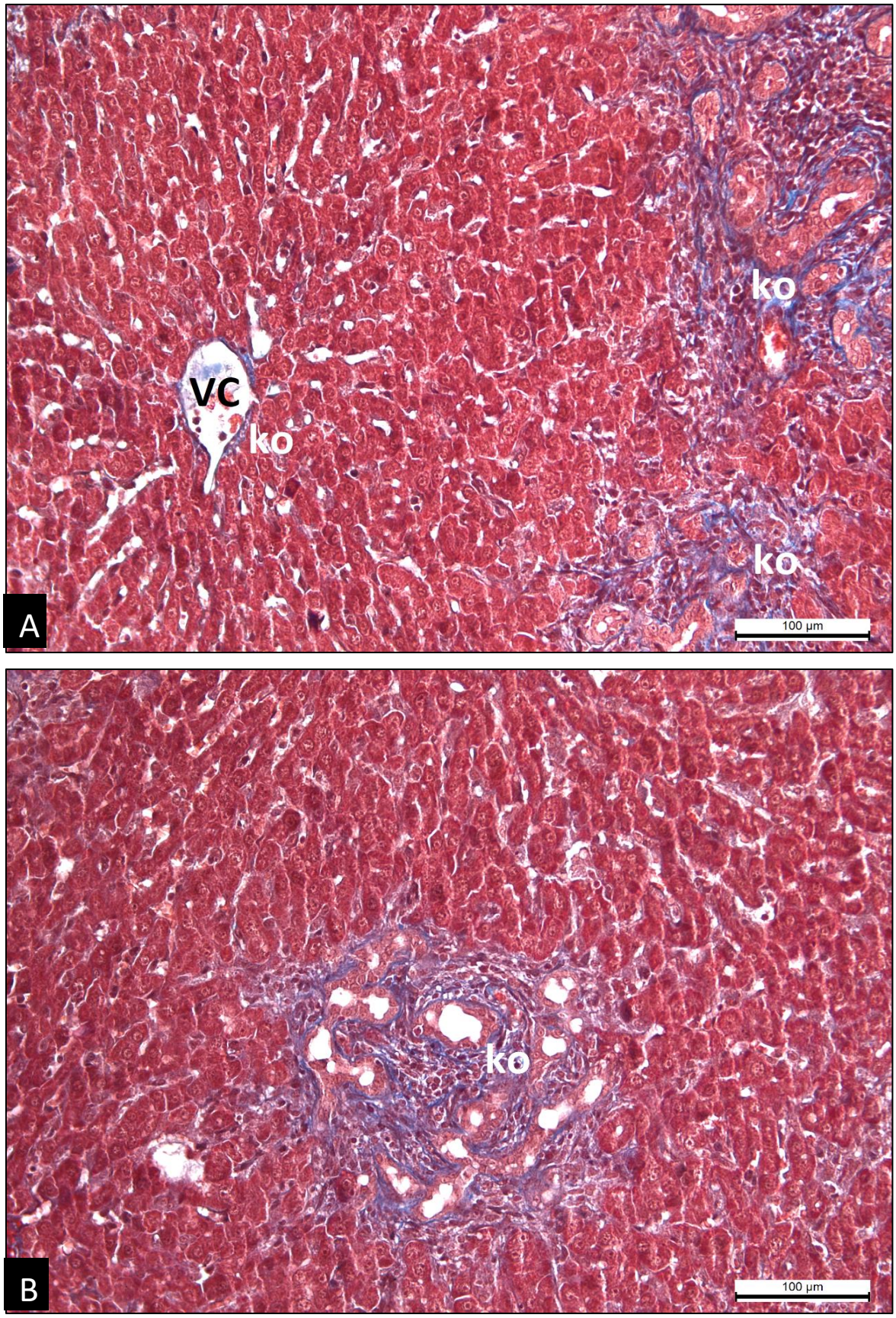
Resim 4.17. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu yapılan Kontrol grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis çevresinde (VC), stromada, vasküler oluşumlar çevresinde ve safra kanalları çevresinde diffüz ve yoğun mavi renkte boyanan kollajen lif (ko) dağılımı gözlenmekte



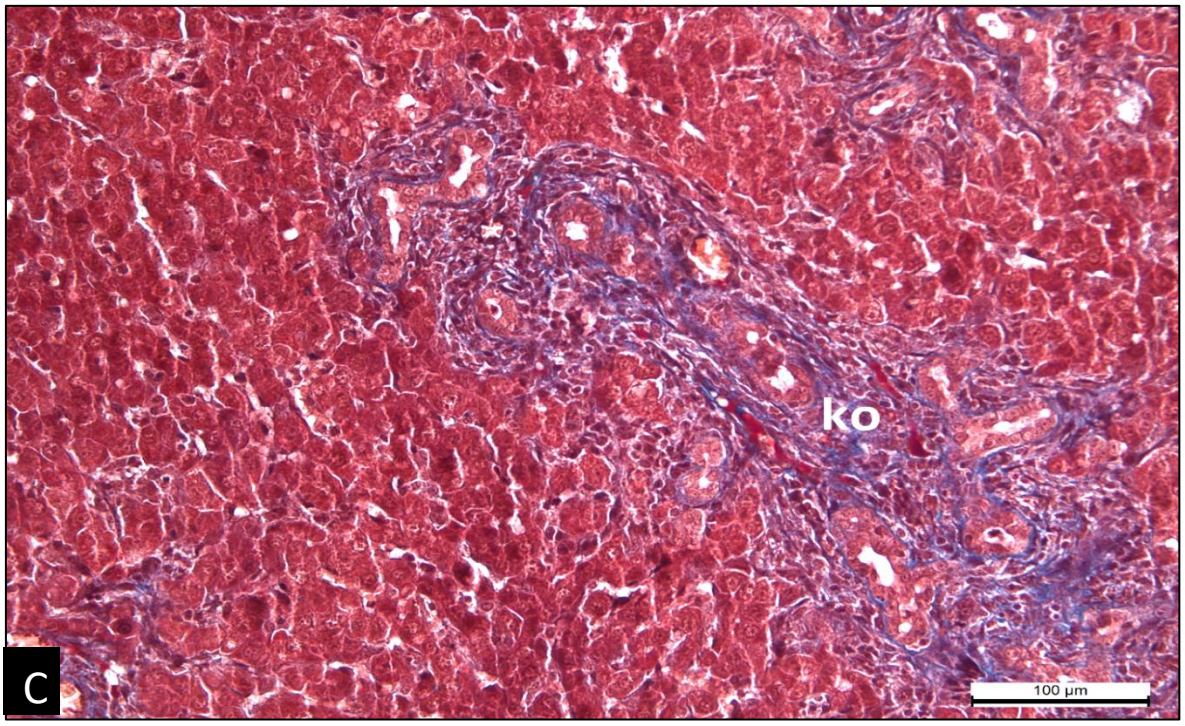
Resim 4.18. (A,B): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra *Cynara scolymus* L. uygulanan grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis (VC) çevresinde ve karaciğer stromasında, vasküler oluşumlar çevresinde sham grubu dışındaki diğer deney gruplarına göre azalmış mavi renkli kollajen lif (ko) dağılımı izlenmekte



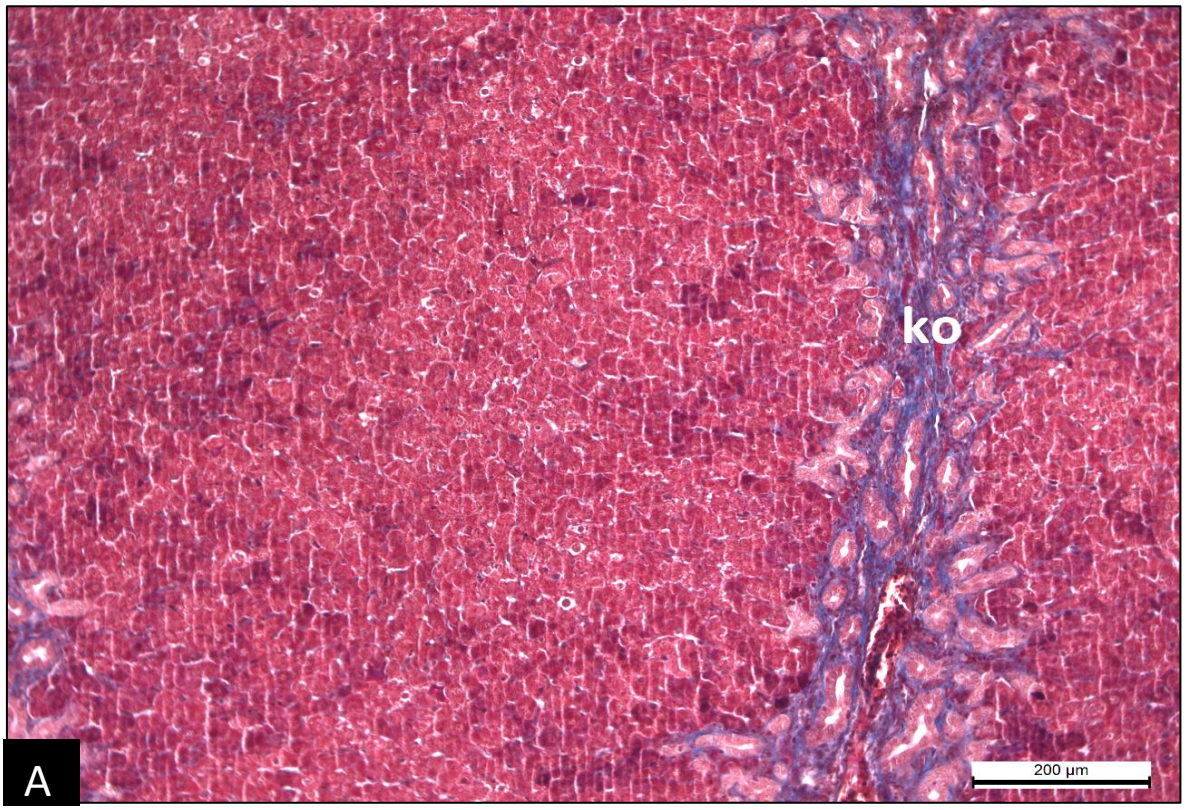
Resim 4.18. (devam). (C,D): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra *Cynara scolymus* L. uygulanan grupta, Masson trikrom boyamasında vena centralis (VC) çevresinde ve karaciğer stromasında, vasküler oluşumlar çevresinde sham grubu dışındaki diğer deney gruplarına göre azalmış mavi renkli kollajen lif (ko) dağılımı izlenmekte



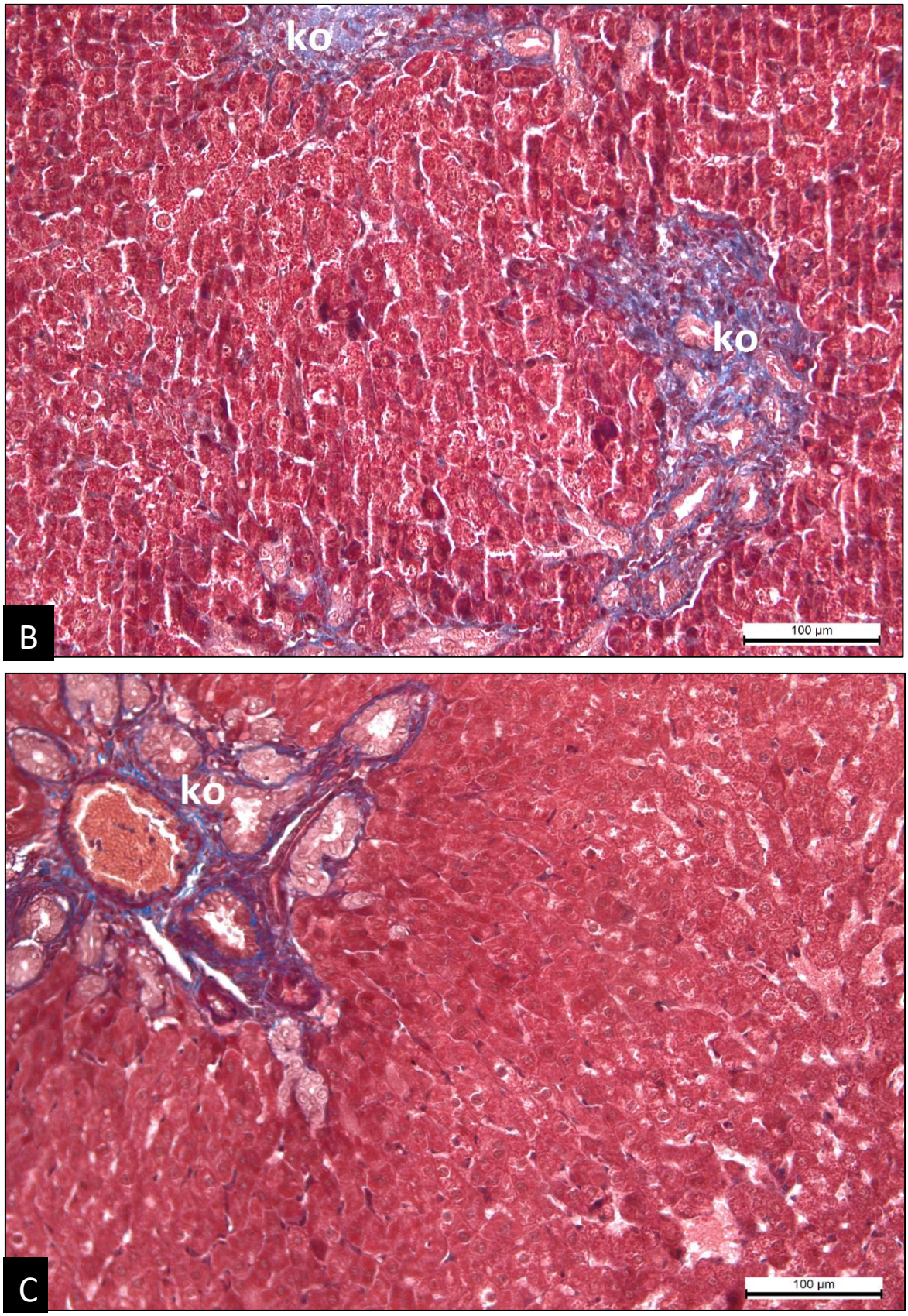
Resim 4.19. (A,B): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Kolşisin uygulanan grupta, Masson trikrom boyaması ile, vena centralis çevresinde (VC) ve karaciğer stromasında mavi renkte boyanan kollajen lif (ko) dağılımı görülmekte



Resim 4.19. (devam). (C): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Kolşisin uygulanan grupta, Masson trikrom boyaması ile, karaciğer stromasında mavi renkte boyanan kollajen lif (ko) dağılımı görülmekte



Resim 4.20. (A): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Pioglitazon uygulanan grupta, Masson trikrom Boyaması ile, karaciğer stromasında, portal aralıkta, perivasküler alanda ve safra kanalları çevresinde mavi renkli kollajen lif (ko) dağılımı görülmekte



Resim 4.20. (devam). (B,C): Safra yolları ligasyonu yapıldıktan sonra Pioglitazon uygulanan grupta, Masson trikrom Boyaması ile, karaciğer stromasında, portal aralıkta, perivasküler alanda ve safra kanalları çevresinde mavi renkli kollajen lif (ko) dağılımı görülmekte

4.3. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

4.3.1. Serum analiz bulguları

Deney sonrası her gruba ait elde edilen, biyokimyasal parametreler karşılaştırmalı olarak incelendi. Elde edilen veriler, istatistiksel olarak yorumlandı ve istatistiksel olarak yapılan değerlendirmede her grubun biyokimyasal parametreleri Çizelge 4.1'de gösterildi.

Çizelge 4.1. Gruplar ait biyokimyasal parametrelerin serum düzeylerine ait ortalama ± standart sapma değerleri

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	*Cynara scolymus* L, Grubu	Kolşisin Grubu	Pioglitazon Grubu
	X±ss	X±ss	X±ss	X±ss	X±ss
T-B (mg/dl)	0,14±0,06	8,78±1,68	4,83±2,92	3,38±0,76	3,41±0,76
ALP (U/L)	254,17±103,36	588,2±83,49	660,71±280,56	608±213,56	463±86,26
ALT (U/L)	57,5±9,35	1131±1297,74	141,43±126,71	329,17±388,35	170,71±154,04
AST (U/L)	118,33±25,43	3074±3489,96	266,29±177,44	1831,67±2458,45	441,43±383,47
ALB	2,76±0,18	2,33±0,52	2,07±0,3	2,23±0,37	2,55±0,44

T-B: Total Bilirubin, ALP: Alkalen fosfataz, ALT: Alanine Aminotransferase, AST: Aspartate aminotransferase, ALB: Albümin, X: Ortalama, SS: Standart Sapma

T-B açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,000<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre Sham grubunun değerleri diğer gruplardan farklı, Kolşisin grubu, Pioglitazon grubu ve *Cynara scolymus* L. grubunun değerleri birbiri ile benzer ve Kontrol grubunun değerleri diğer gruplardan farklıdır. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

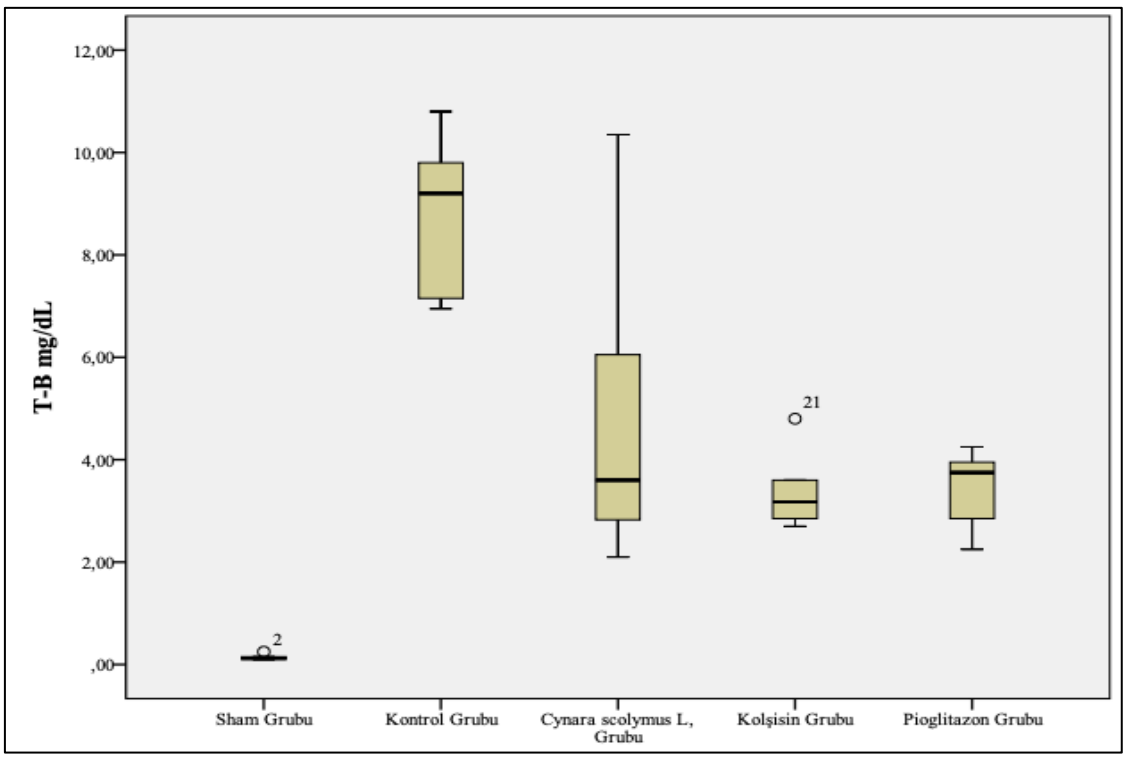
ALP açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,003<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre Sham grubu ve Pioglitazon grubunun değerleri arasında fark yoktur. Bununla birlikte Kontrol grubu, *Cynara scolymus* L. grubu ve Kolşisin grubunun değerleri diğer gruplardan farklıdır. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile Sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.2).

ALT açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,022<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre Sham grubu, *Cynara scolymus* L. grubu, Pioglitazon grubu ve Kolşisin

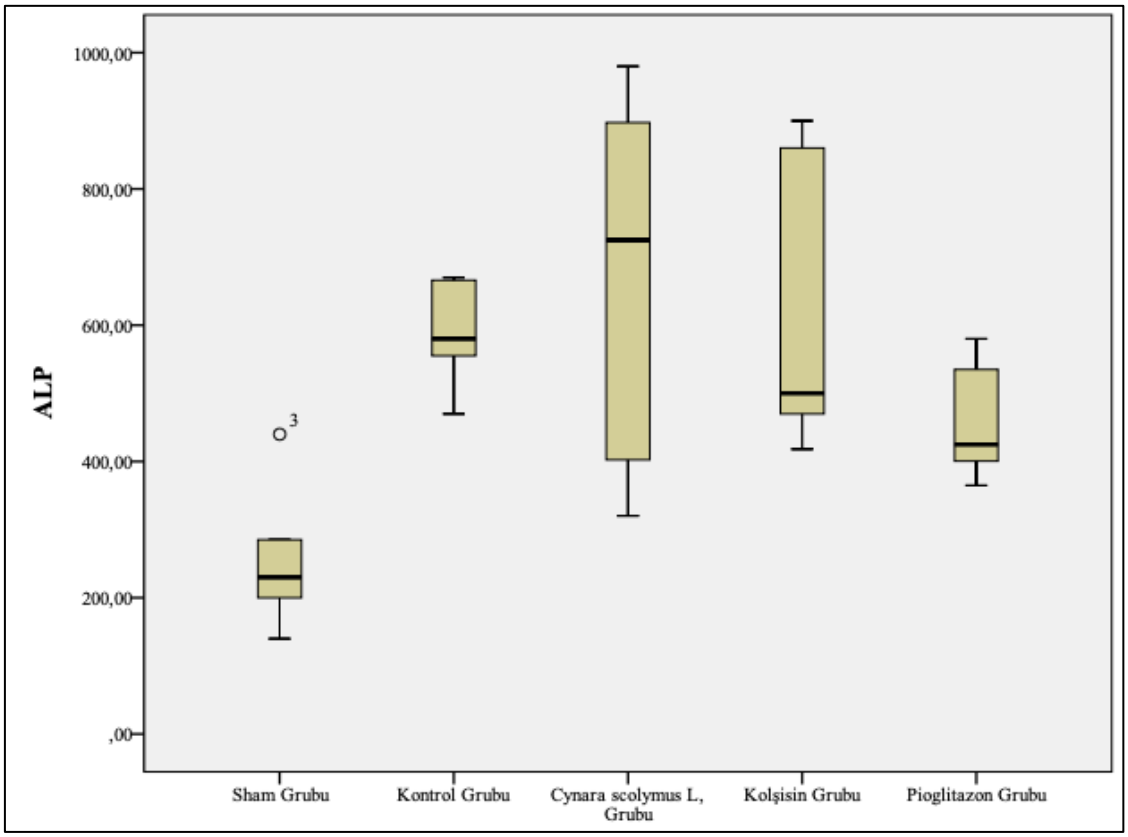
grubunun değerleri arasında fark yoktur. Bununla birlikte Kontrol grubunun değerleri diğer gruplardan farklıdır. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.3).

AST açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,039<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre Sham grubu, *Cynara scolymus* L. grubu, Pioglitazon grubu ve Kolşisin grubunun değerleri arasında fark yoktur. Bununla birlikte Kontrol grubunun değerleri diğer gruplardan farklı iken Kolşisin grubu ile benzerdir. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile Sham grubu, *Cynara scolymus* L. grubu, Pioglitazon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.4).

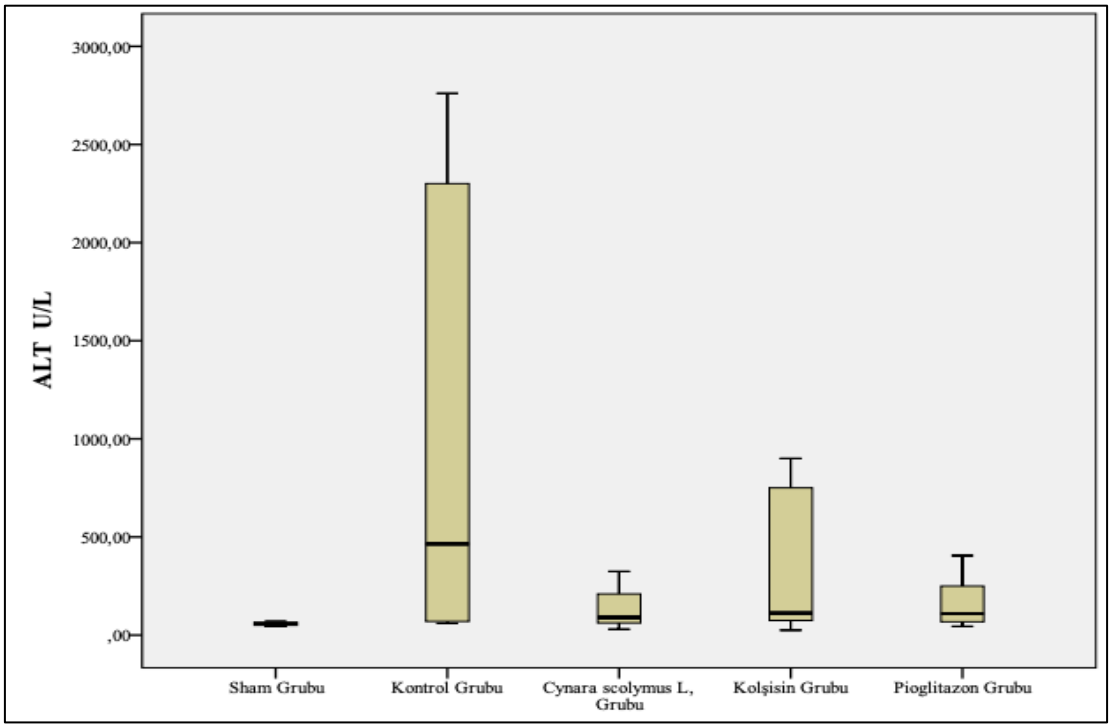
ALB açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,024<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre *Cynara scolymus* L. grubu, Kolşisin grubu ve Sontrol grubunun değerleri birbiri ile; Kolşisin grubu, Kontrol grubu ve Pioglitazon grubunun değerleri birbiri ile ve Kontrol grubu, Pioglitazon grubu ve Sham grubunun değerleri birbiri ile benzerdir. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.5).



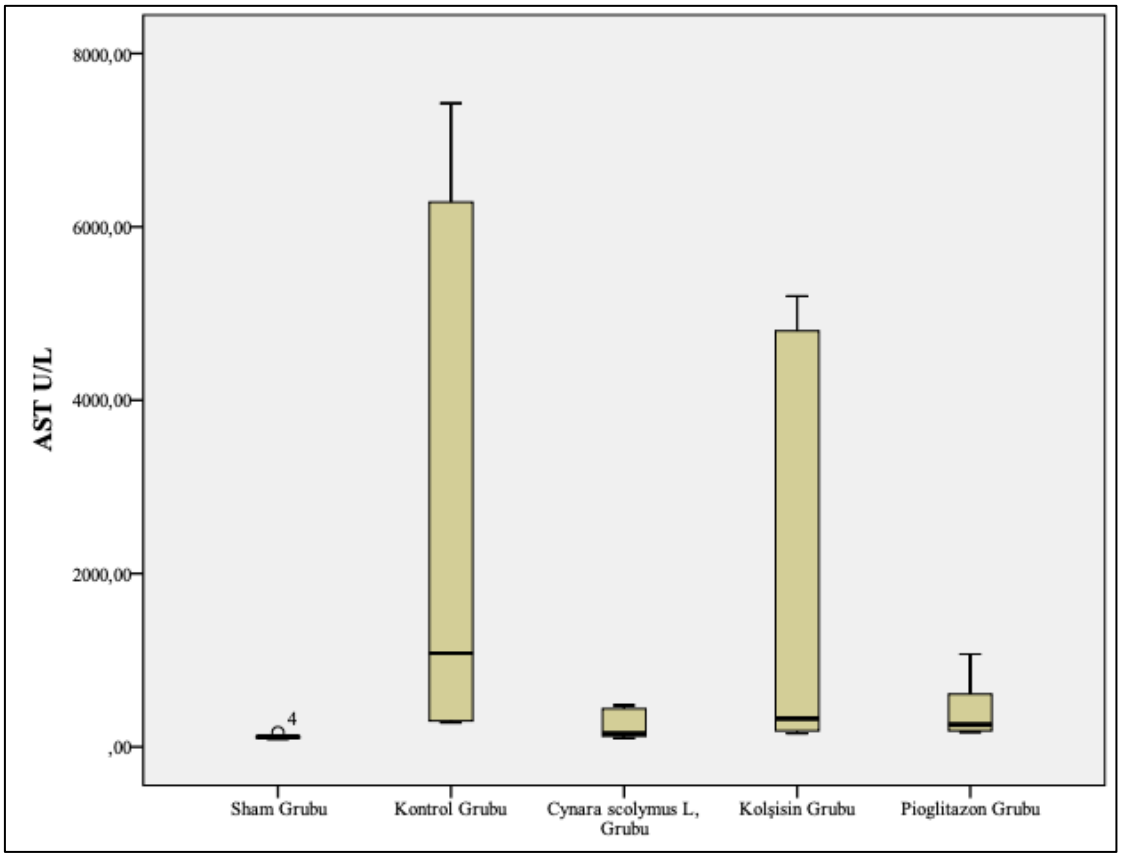
Şekil 4.1. Deney gruplarında elde edilen serum T-B değerleri grafiği



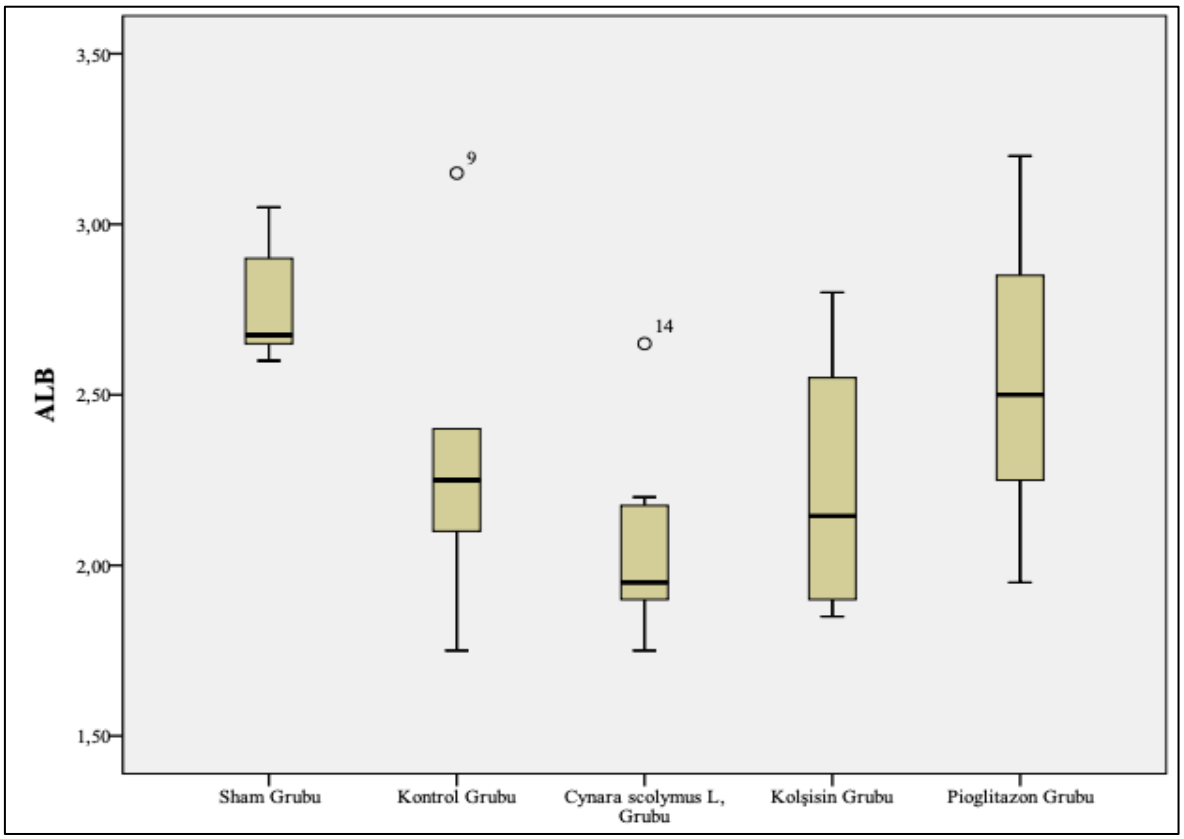
Şekil 4.2. Deney gruplarında elde edilen serum ALP değerleri grafiği



Şekil 4.3. Deney gruplarında elde edilen serum ALT değerleri grafiği



Şekil 4.4. Deney gruplarında elde edilen serum AST değerleri grafiği



Şekil 4.5. Deney gruplarında elde edilen ALB değerleri grafiği

4.3.2. Karaciğerde oksidatif stresin belirlenmesinin bulguları

Deney sonrası her gruba ait elde edilen TAS ve TOS aktivitesinin değerleri gruplar arası karşılaştırmaların yapılması için yapılan ANOVA testi ve Duncan testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

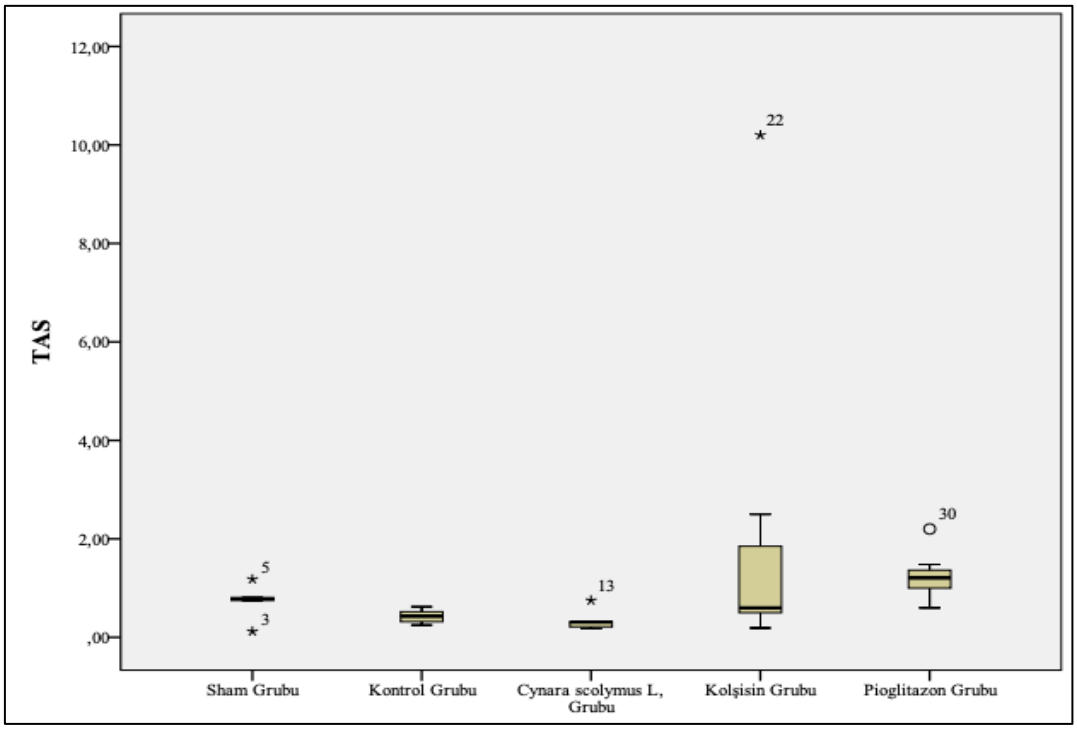
Çizelge 4.2. Gruplar ait TAS ve TOS aktivitesinin düzeylerine ait ortalama ±SS değerleri

	Sham Grubu	**Kontrol Grubu**	***Cynara scolymus* L, Grubu**	**Kolşisin Grubu**	**Pioglitazon Grubu**
	X±ss	**X±ss**	**X±ss**	**X±ss**	**X±ss**
TAS	0,74±0,34	0,43±0,15	0,33±0,2	2,24±3,59	1,25±0,51
TOS	0,73±1,03	8,38±2,97	0,55±0,39	4,76±2,09	0,46±0,22

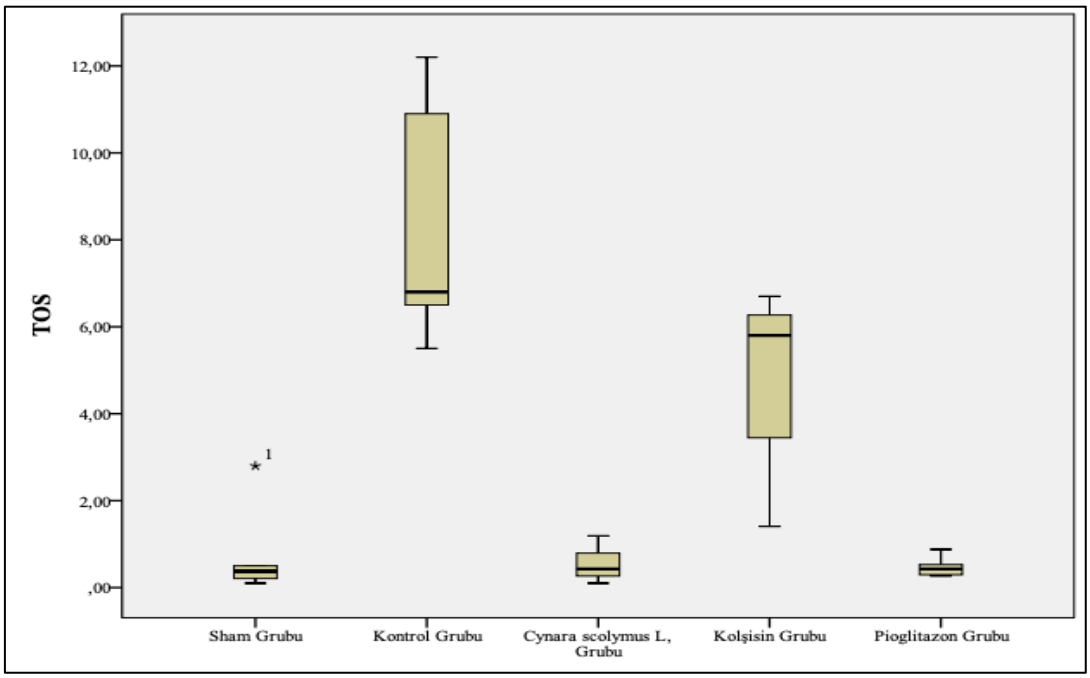
(TAS): total antioxidant status, (TOS): Total oxidant status, X: Ortalama, SS: Standart Sapma

Analiz sonuçlarına göre gruplar arasında TAS açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.6).

Gruplar arasında TOS açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p=0,000<0,05$). Duncan testi sonuçlarına göre Sham grubu, *Cynara scolymus* L., grubu ve Pioglitazon grubunun değerleri arasında fark yoktur. Bununla birlikte Kontrol grubu ve Kolşisin grubunun değerleri birbirinden ve diğer gruplardan farklıdır. LSD post hoc testi sonucuna göre ise Kontrol grubu ile tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.7).



Şekil 4.6. Deney gruplarında elde edilen TAS aktivitesinin değerlerin grafiği



Şekil 4.7. Deney gruplarında elde edilen TOS aktivitesinin değerlerin grafiği

4.4. İstatistiksel Bulgular

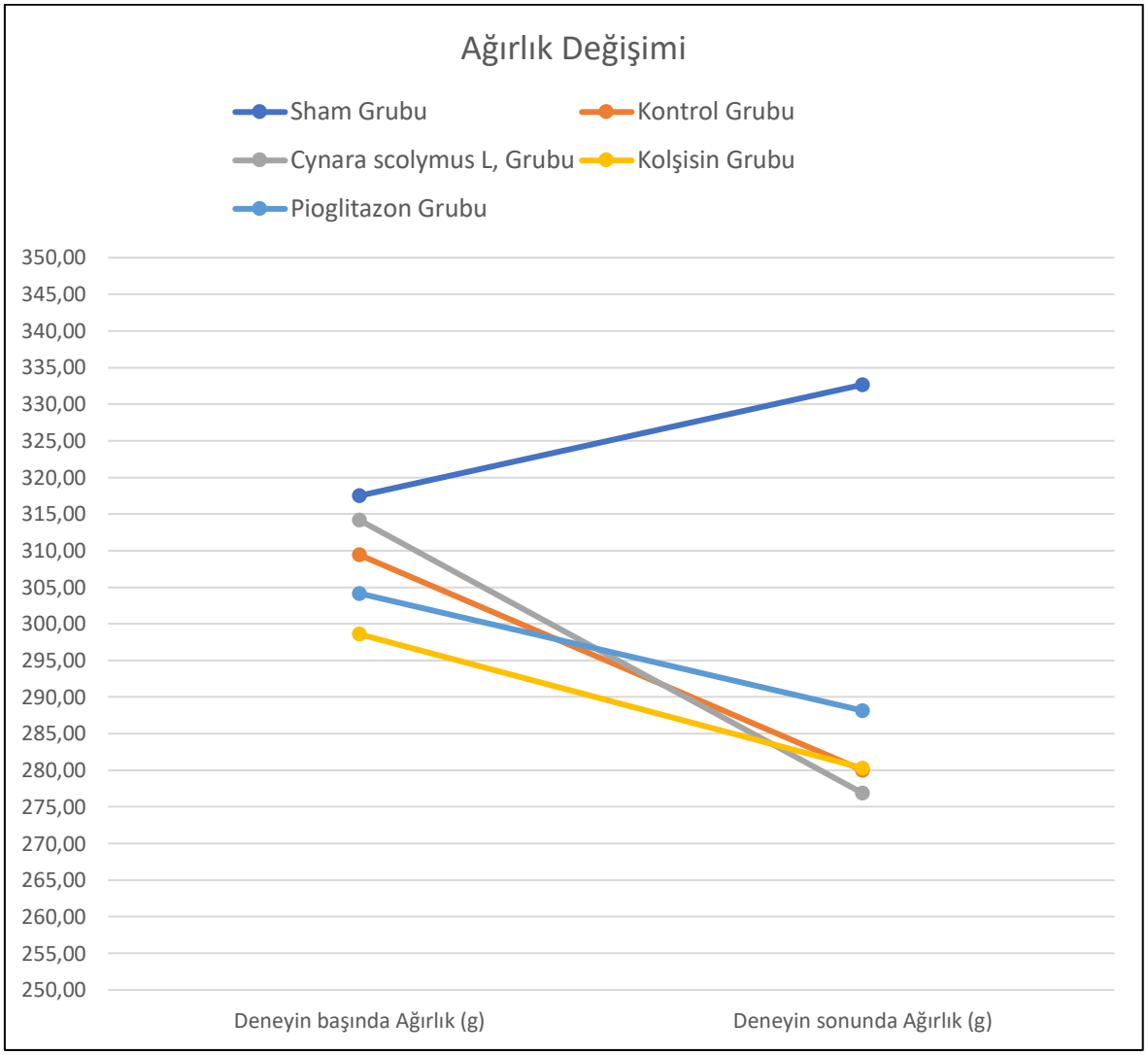
4.4.1. Vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Sıçanların deney başlangıcında ve deneyin sonunda ağırlıkları ölçülerek, deney sürecindeki ağırlık artışları takip edildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak yorumlandı. Analiz sonuçlarına göre *Cynara scolymus* L. grubunda deneyin başındaki ağırlık ile deneyin sonundaki ağırlık arasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Deneyin başındaki ağırlık ortalaması 314,14±19,06 iken deneyin sonunda azalarak 276,86±29,8 olmuştur. Ayrıca, analiz sonuçlarına göre Sham grubu, Kontrol grubu, Kolşisin grubu ve Pioglitazon grubunda deneyin başındaki ağırlık ile deneyin sonundaki ağırlık arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. Gruplar ait ağırlık değişiminin analizi ait ortalama ±SS

	Sham Grubu	**Kontrol Grubu**	***Cynara scolymus* L, Grubu**	**Kolşisin Grubu**	**Pioglitazon Grubu**
	X±ss	**X±ss**	**X±ss**	**X±ss**	**X±ss**
Deneyin başında Ağırlık (g)	317,5±55,11	309,4±24,81	314,14±19,06	298,57±38,59	304,14±45,18
Deneyin sonunda Ağırlık (g)	332,67±69,17	280±25,05	276,86±29,8	280,29±40,71	288,14±52,98
t	**-2,070**	**1,627**	**5,547**	**1,339**	**1,304**
p	**0,093**	**0,179**	**0,001***	**0,229**	**0,240**

*p<0,05, X: Ortalama, SS: Standrt Sapma

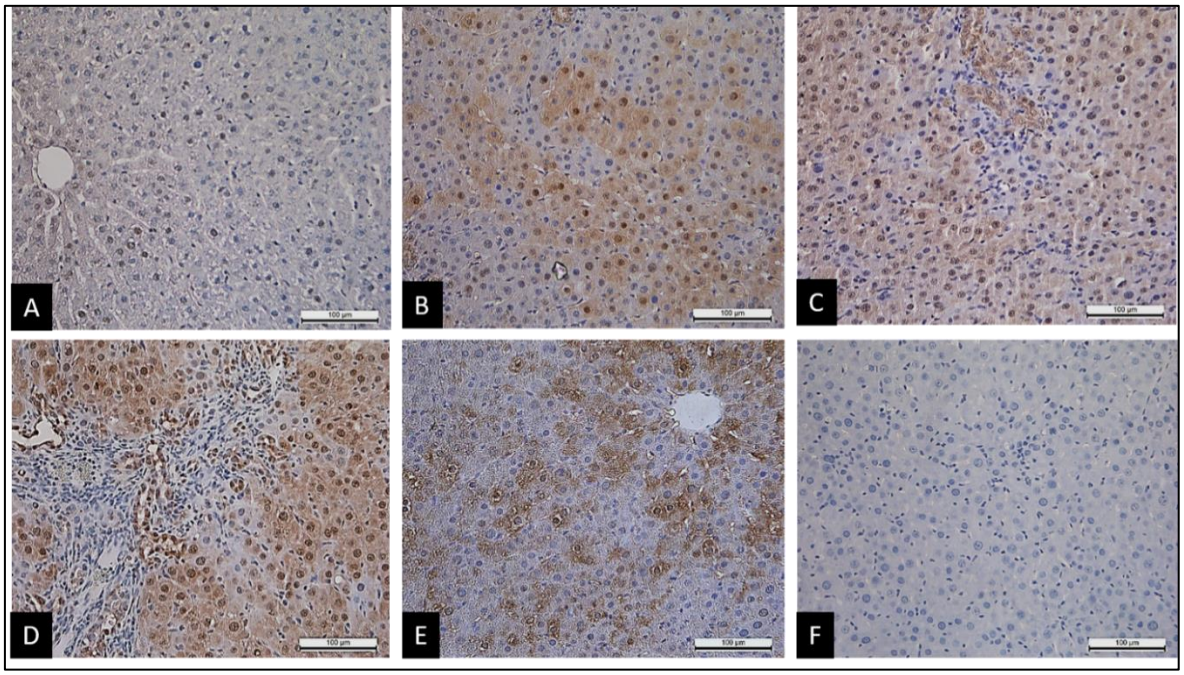


Şekil 4.8. Gruplara ait vücut ağırlığının grafiği

4.4.2. Immunohistokimyasal bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

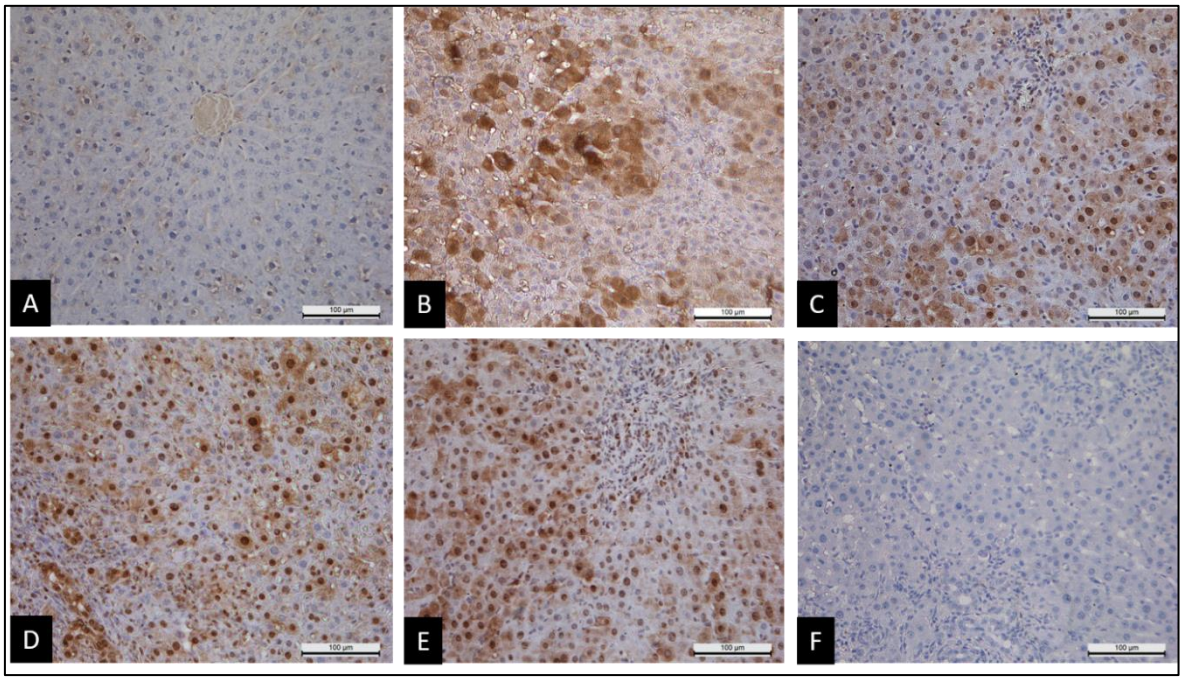
Deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde immunohistokimyasal analizler sonucunda AFP, Caspase-3, TNF-α ve p53 primer antikorlarına ait immunopozitif alan yüzdesi değerlendirildi.

AFP immunopozitif alan yüzdesi sham grubunda Kontrol, *Cynara scolymus*, Kolşisin ve Pioglitazon gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla, p=0,001; p=0, 025; p<0,001 ve p<0,001). *Cynara scolymus* ve Pioglitazon gruplarında AFP immunopozitif alan yüzdesi Kontrol grubuna göre düşüş gösterse de bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla, p=1,000 ve p=1,000).



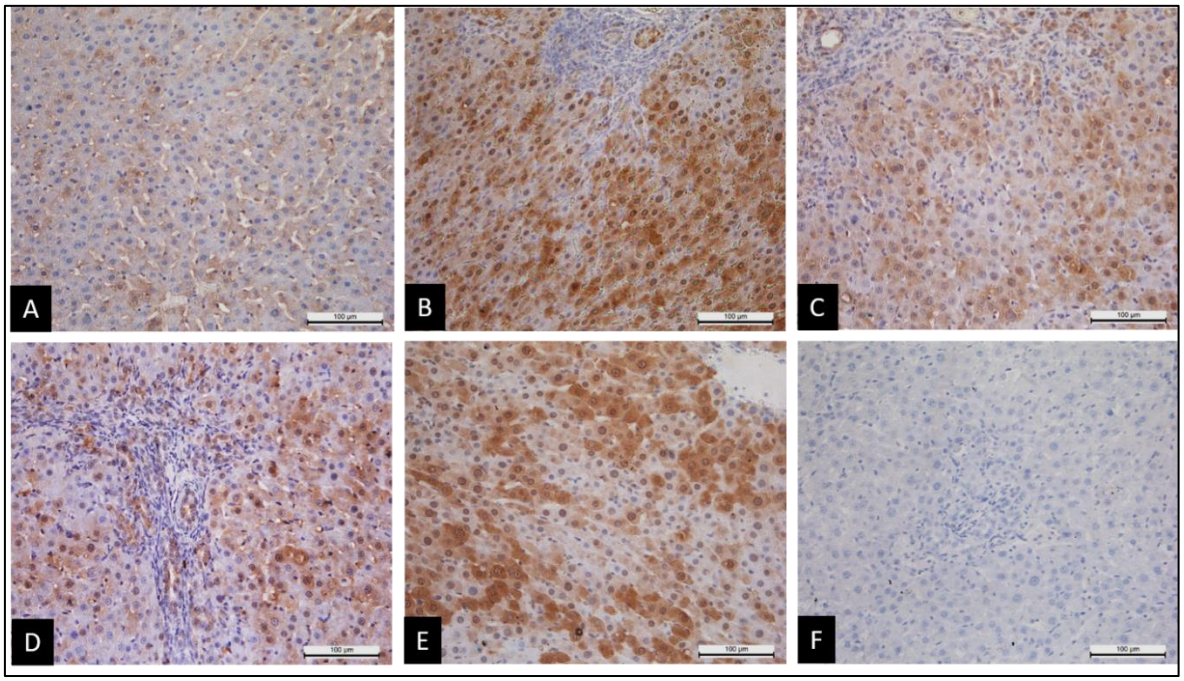
Resim 4.21. AFP immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol (DAB & Hematoksilen, X200)

Caspase-3 immunopozitif alan yüzdesi deney grupları arasında karşılaştırıldığında, Sham grubunda Kontrol, *Cynara scolymus*, Kolşisin ve Pioglitazon gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş gösteriyordu (sırasıyla, $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$ ve $p<0,001$). En yüksek Caspase-3 pozitif alan yüzdesi Kontrol grubunda izlenirken, tedavi grupları arasında ise en düşük immunoreaktive yoğunluk yüzdesi ise *Cynara scolymus* grubuna aitti. Ancak tedavi grupları arasında bu azalış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$).



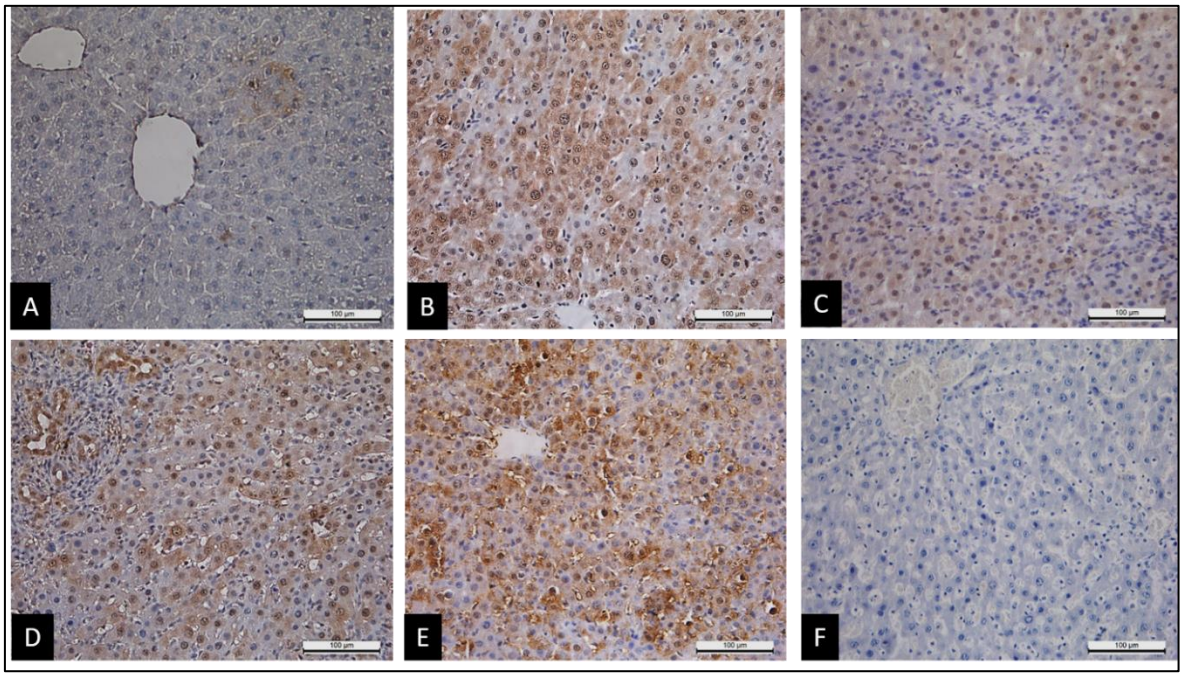
Resim 4.22. Caspase-3 immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol (DAB & Hematoksilen, X200)

TNF-α immunopozitif alan yüzdesi sham grubunda Kontrol, *Cynara scolymus*, Kolşisin ve Pioglitazon gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla, $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$ ve $p<0,001$). Pioglitazon grubunda *Cynara scolymus* grubuna göre TNFα immunopozitif alan yüzdesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösteriyordu ($p=0,009$). Benzer şekilde Pioglitazon grubundaki TNF-α immunopozitif alan yüzdesi Kolşisin grubuna göre artış gösterse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,288$). *Cynara scolymus* grubundaki TNF-α immunoreaktivitesi Kolşisin grubuna göre azalış gösterse de istatistiksel olarak anlamlılık izlenmedi ($p=1,000$).



Resim 4.23. TNF-α immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol (DAB & Hematoksilen, X200)

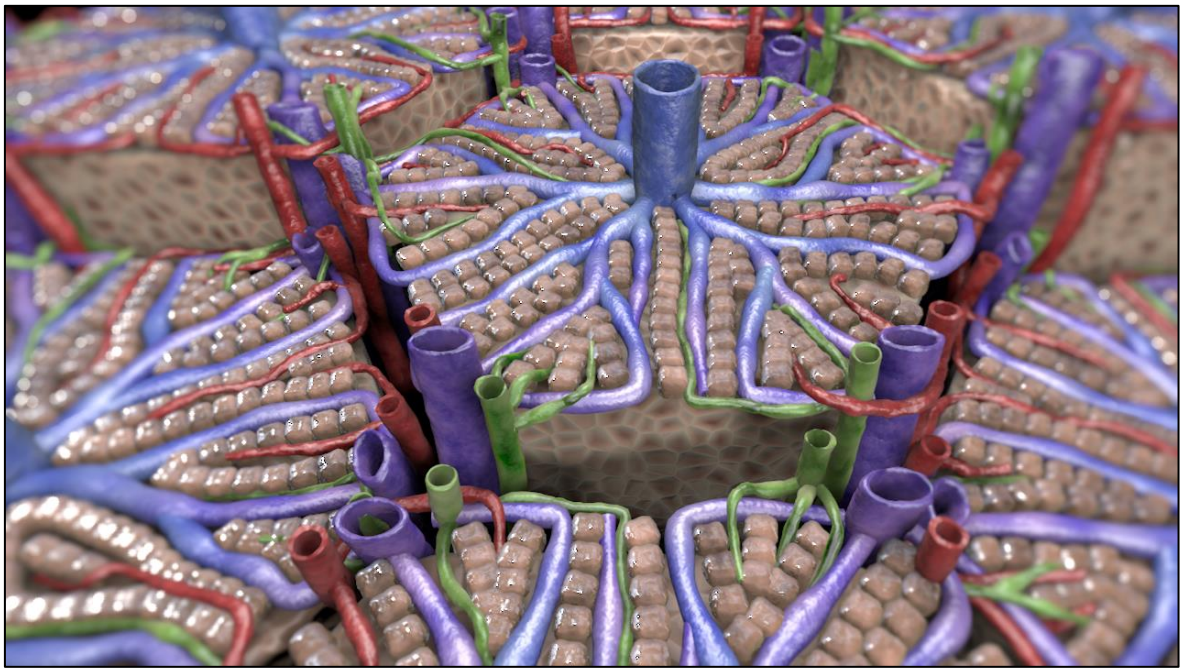
p53 immunopozitif alan yüzdesi deney grupları arasında karşılaştırıldığında, sham grubunda kontrol, *Cynara scolymus*, Kolşisin ve Pioglitazon gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalış gösteriyordu (sırasıyla, $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,001$ ve $p<0,001$). En yüksek p53 pozitif alan yüzdesi Kolşisin grubunda izlenirken bu artışın *Cynara scolymus* grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu dikkati çekti ($p=0,003$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık izlenmedi.



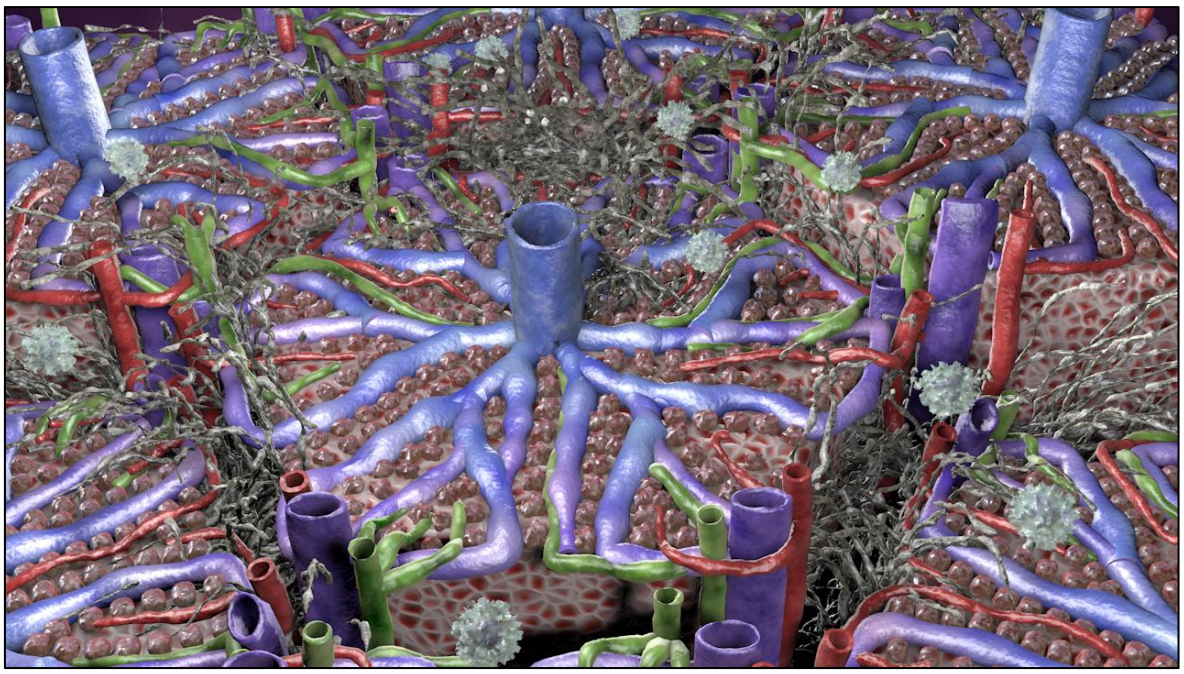
Resim 4.24. p53 immunoreaktivitesi: A. Sham, B. Kontrol, C. *Cynara scolymus* L., D. Kolşisin, E. Pioglitazon, F. Negatif kontrol (DAB & Hematoksilen, X200)

4.5. 2 Boyutlu Mikroskobik Kesitlerin Değerlendirilmesinden Sonra Bunlardan 3 Boyutlu Modeller Oluşturulması

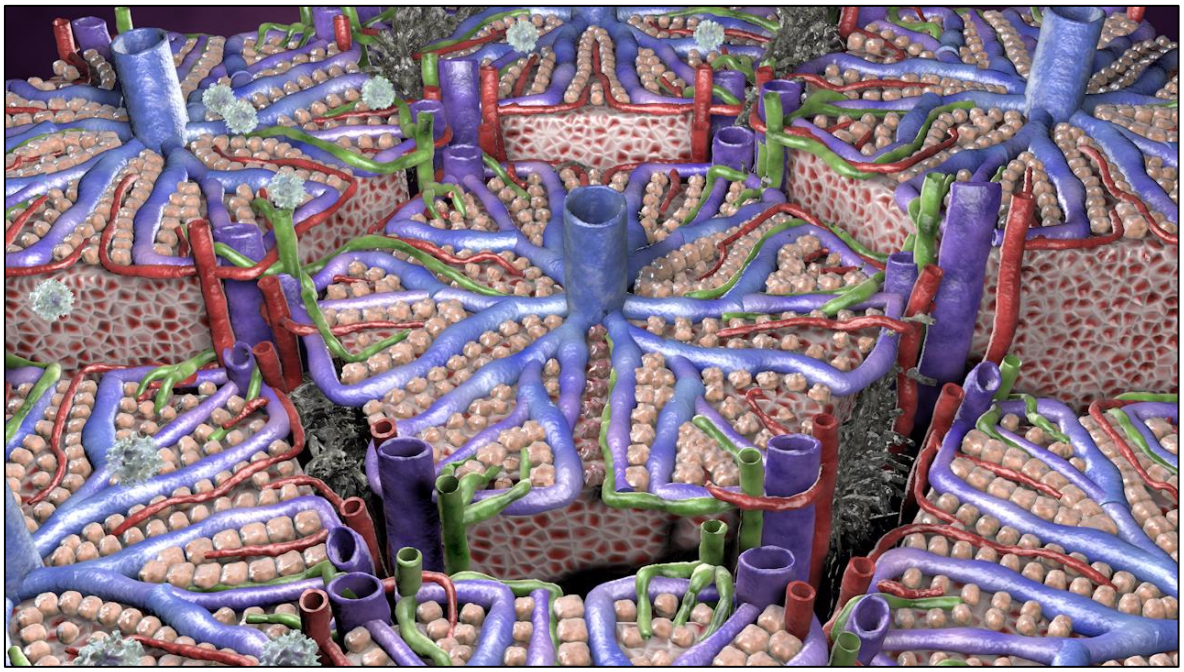
Deney sonrasında, Hematoksilen- Eozin, gümüşleme ve Masson trikrom boyama yöntemlerinden elde edilen mikroskopik veriler 3 boyutlu hale getirildi.



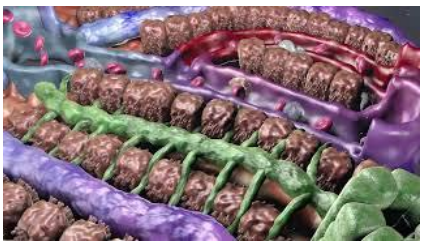
Resim 4.25. Normal bir karaciğere ait birkaç karaciğer lobülünün genel görünümü. Vena centralis'ten lobülün dış sınırlarına doğru uzanan poligonal görünümlü hepatositler ışınsal tarzda bir dizilim göstermekte. Perivasküler aralıkta v. porta, a. hepatica propria'dan gelen ince uç dallar ve safra yolları gözlenmekte



Resim 4.26. Ligasyon oluşturulmuş karaciğerde inflamasyona bağlı olarak karaciğer sinüzoidlerinde dilatasyona bağlı olarak düzensiz kıvrıntılı bir görünüm izlenmekte. Sinüzoidler arasındaki hepatositlerin düzgün ışınsal görünümlerinde bozulma izlenmekte. Karaciğer hücreleri poligonal görünümlerini kaybetmeye başlamış. Perivasküler sahada aşırı kollajen lif birikimi ve hasarlı sahada makrofaj infiltrasyonu gözlenmekte



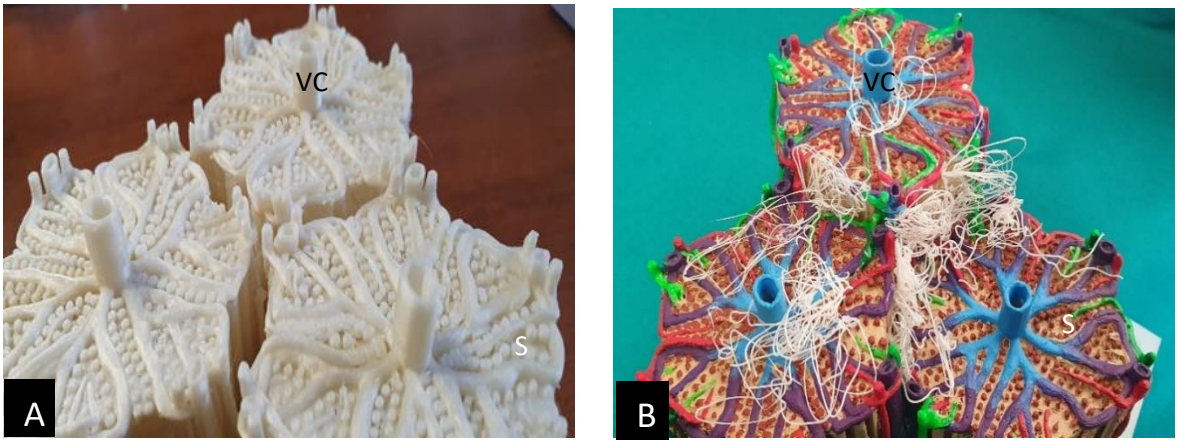
Resim 4.27. Ligasyon oluşturulmuş karaciğerde *Cynara scolymus* L. ekstraktı, Kolşisin ve Pioglitazon verimine bağlı olarak inflamasyona bağlı olarak karaciğer sinüzoidlerindeki düzensiz kıvrıntılı görünümün azaldığı izlenmekte. Sinüzoidler arasındaki hepatositlerin düzgün ışınsal görünümlerine kavuşmaya başladıkları izlenmekte. Karaciğer hücreleri poligonal görünümlerini yeniden kazanmaya başlamış. Perivasküler sahada kollajen lif birikimi ve hasarlı sahada makrofaj infiltrasyonu azalmaya başlamış



https://youtu.be/fLZ4245F8dY

https://youtu.be/EYhdMkG3ICU

Resim 4.28. Normal ve safra yolu ligasyonu yapılarak hasar oluşturulmuş karaciğerde oluşan hasarların 3 boyutlu animasyonları (Telefonunuzu QR kodun üzerine tutarak videoları seyredebilirsiniz)



Resim 4.29. A. Safra yolu ligasyonu yapılarak hasar oluşturulmuş olan Kontrol grubuna ait bir karaciğerin 3D yazıcı ile alınmış üç boyutlu çıktısı, B. Aynı modelin gerçeğe uygun şekilde maket boyası ile boyanmış hali, QR kod: Normal karaciğer ile hasarlı karaciğerin sanal Gerçeklik ortamında birbirleri ile karşılaştırılması, VC: vena centralis, S: sinüzoidal aralıklar.

5. TARTIŞMA

Karaciğer fibrozisi, karaciğerde bağ dokusunun biriktiği ve karaciğer mimarisinin bozulmasına ve karaciğer yetmezliğine yol açan aşırı aktif bir yara iyileşme sürecidir [132]. Ayrıca hücre dışı matriksin (HDM) birikmesi ile karakterizedir [133]. Kronik karaciğer hasarı, karaciğerdeki hücre dışı matriks bileşenlerinin birincil hücresel kaynağı olarak kontraktil, proliferatif ve fibrojenik özellikler kazanarak, miyofibroblast adı verilen aktive hepatik stellat hücrelere farklılaşan sessiz hepatik stellat hücrelerini (HSH'ler) aktive eder ve dönüştürür [134]. Sonuç olarak, aşırı HDM birikimi, enflamatuar mediatörleri serbest bırakarak fibrozisi başlatır. Bu nedenle, HSH aktivasyonunun ve proliferasyonunun baskılanmasının yanı sıra aktive HSH'lerde apoptozisin indüklenmesi, hepatik fibrozisin tedavisi ve önlenmesi için terapötik stratejiler olarak önerilmiştir [135].

Anti-fibrotik ilaçlar, sıklıkla hepatik hücreler için toksiktir, istenmeyen yan etkiler üretir ve hastalarda karaciğer fibrozisini tedavi etmek için kanıtlanmış hiçbir ilaç yoktur [2]. Karaciğer fibrozisinin oluşumunun önlenmesi, esas olarak komplikasyonunun tedavisinden veya etiyolojik faktörlerini kontrol etme girişimlerinden oluşur. Günümüzde, hepatik fibrozis tedavisinde oksidatif stresin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidan olarak bitkisel kökenli ilaç kullanımı ilgi çekicidir.

Enginar (*Cynara scolymus* L.), sıklıkla Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen, doğal antioksidanlar açısından zengin ve bu nedenle bitkisel ilaç olarak kullanılan bir bitkidir [136]. Son zamanlardaki temel ve klinik araştırmalara dayanarak, enginar yaprağı ekstraktının hepatoprotektif [91, 137, 138], antimikrobiyal [139] ve kolesterol düşürücü amaçlar için kullanıldığı ortaya çıkmıştır [140]. Enginarın reaktif oksijen türlerinin üretimini, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu [141], lipid peroksidasyonunu [138] ve protein oksidasyonunu azalttığı ve glutatyon peroksidaz aktivitesini arttırdığı bulunmuştur [84].

Hem Colchicum autumnale alkaloid colchicine, hem de metaboliti colcheicine, tubuline bağlanarak mikrotübül polimerizasyonunun inhibitörleridir. Kolşisin öncelikle gut tedavisinde ve deneysel olarak genetik karyotipleme çalışmalarında güçlü bir mitoz inhibitörü olarak kullanılır. Hepatik fibrozis araştırmasında kolşisine olan ilgi, 1975 yılında Rojkind ve Kershenobich'in sirotik sıçan karaciğerlerinde kollajen sentezi içeriğinin bloke olduğunu ve karaciğer fonksiyonunun büyük ölçüde iyileştiğini keşfettiklerinde ortaya çıktı

[103]. Kolşisinin benzer bir koruyucu aktivitesi, bu ilacın kronik oral uygulamasını alan safra yollarında ligasyon yapmış sıçanlarda gösterilmiştir [106]. Kolşisinin, asetaminofen [142], carbon tetrachloride [143] ve galaktozamine duyarlı hayvanlarda TNF/LPS toksisitesi gibi çeşitli hepatotoksik maddelere karşı koruma sağladığı bildirilmiştir [144].

Tiazolidinedionların bir üyesi olan pioglitazon, tip II diabetes mellitusta insülin direncini iyileştirmek için kullanılır. Pioglitazon, peroksizomal proliferatör ile aktive edilmiş reseptör y'nin (PPAR- y) bir ligandıdır. Bu, karaciğer fibrozisinin azalmasıyla birlikte kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilen ve hayvan modellerinde tümör hücresi ölümünde rol oynamak için potansiyel bir ajan olabilir [145]. PPAR-y'nin normal karaciğerdeki hareketsiz hepatik stellat hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir ve azalmış PPAR-y ekspresyonu, in vitro HSH aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir [146]. PPAR-y agonistleri, proliferasyonu, migrasyonu ve HSH tarafından in vitro fibril oluşturan kollajen üretimini inhibe etmiştir [145-148]. Ayrıca TZD'nin (pioglitazon) oral uygulamasının, karaciğer fibozisinin hem toksik hem de kolestatik modellerinde hücre dışı matriks birikimini azaltabildiğini göstermiştir [24].

Uygun bir hayvan modeli ve güvenilir bir tespit aracı, karaciğer fibrozisini araştırmak için çok önemlidir. Karaciğer fibrozisinin ana tiplerinden biri olan kolestatik fibrozis, genetik, bağışıklık, enfeksiyon, taş ve tümörleri içeren geniş etiyolojileri olan yaygın bir hastalıktır [149]. Safra kanalının tıkanması, biliyer epitel hücreleri tarafından safra basıncında artışa, hafif inflamasyona ve sitokin salgılanmasına neden olarak kolestaz oluşturur. Bu, biliyer epitel hücrelerinin çoğalmasına, fibrojenik belirteçlerin ekspresyonunun artmasına, ROT ve karaciğer hasarına neden olur. Bu nedenle hayvanlarda safra kanalı ligasyonu, kolestatik fibrozu taklit etmek için klasik bir yöntem haline gelmiştir [150, 151]. Bu çalışmada da karaciğer fibrozisi oluşturmak amacıyla safra kanalı ligasyonu yapıldı.

Ekstrahepatik safra yolları tıkanıklığında, safra stazı intrahepatik kanal sistemine ilerleyici retrograd geri tepmelere neden olur. Bu, safra kanallarının genişlemesine ve safra üreten safra birikintilerinin ekstravazasyonu ile kanaliküllerin yırtılmasına neden olur. Safra toksik olduğundan, safra birikim bölgeleri hepatositlerin fokal nekrozu ile sonuçlanır. Safra stazı, dilate kanalların çevresinde polimorf lökositlerin birikmesiyle artan bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık yaratır. Sonunda safra kanallarında proliferasyon gelişir ve görünüm biliyer sirozu taklit edebilir [59, 152].

Memelilerde safra kanalı ligasyonu, karaciğer hastalıkları ile ilgili hayvan modellerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Safra kanalı ligasyonu, safra kanalı proliferasyonu, inflamatuar reaksiyon ve karaciğer parankiminin fibrozisi ile karakterizedir [150, 153].

Özsoy ve arkadaşları (2011) yapmış oldukları çalışma sonucunda, tıkanma sarılığı grubunda hepatosit sitoplazmalarında şişme ve vakuolizasyon, eozinofilik yapıların kaybı ve nükleol proliferasyonu olduğunu göstermişlerdir. Periportal, perisinüzoidal ve polimorf ve mononükleer lökosit infiltrasyonu nedeniyle sinüzoidlerin dilatasyonu dikkat çekmiştir. Fokal hepatik nekroz ve periportal yeni safra kanalikül proliferasyonu da gözlenmiştir [154].

Çalışmamızda histopatolojik değerlendirmelerimizde, Sham grubuna ait karaciğer örneklerinde normal parankimal yapı gözlenmiş olup, hepatositler vena centralis çevresinde düzenlenmiştir. Safra yollarında ligasyon yapılan Kontrol grupta ise karaciğer hasarı gözlenmiştir. Bu hasarda parankimal yapıda düzensizlik gözlenmiş olup, klasik lobül yapısı ayırt edilememektedir. Perivasküler alanlarda yoğun inflamatuar hücre infiltrasyonu, konjesyon ve bazı perivasküler alanlarda yağlı dejenerasyonu andıran vakuoler oluşumlar saptandı. Bazı alanlarda ise hücreler içeren psödolobül yapıları dikkati çekmekteydi. Ayrıca Kontrol grubunda, gümüşleme yöntemi ile tüm karaciğer stromasında diğer gruplara göre daha yoğun ve diffüz retikulum lifi görünümü olduğu görüldü. Masson'un Trikrom boyama yöntemi ile ise diffüz ve yoğun kollajen lif yapılanması gözlendi.

Kolşisinin etkileri, karbon tetraklorür tarafından indüklenen fibrotik ve sirotik hayvan modellerinde incelenmiştir [103, 149, 155-158]. Akut karaciğer hasarı modellerinde, tek doz Dimetilnitrozamine (DMN) maruz kalan hayvanlarda Kolşisinin koruyucu etkisi gösterilmiştir [159]. Çalışmada, DMN'den 18 saat önce uygulanan kolşisinin toksik maddenin neden olduğu karaciğer hasarını azalttığı bildirilmiştir. Buna karşılık, DMN enjeksiyonundan 2 saat önce kolşisin ile tedavi edilen farelerde hepatotoksisite artmıştır. Kolşisinin bifazik etkisi, sitokrom P450'nin, özellikle de CYP2E1'in Kolşisin tarafından baskılanmasına bağlanmıştır [159]. Çalışmamızda, safra yollarında ligasyon sonrasında Kolşisin uygulanan grupta perivasküler alanlardaki inflamatuar hücre infiltrasyonunun safra yolu ligasyonu yapılan Kontrol gruba göre azalmış olduğu dikkati çekti. Ayrıca Gümüşleme boyama yöntemi ile ise retikulum lif yoğunluğunun devam ettiği saptandı ve Masson Trikrom boyamasında kollajen lifler görüldü.

El-Sherif ve Issa (2017) yaptıkları çalışmada, Safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L. uygulanan gruba ait karaciğer kesitlerinin normale yakın hepatik mimari gösterdiğini belirtmişlerdir. Ancak bazı vakuollü hepatositler ve çoğalmış portal yollar gözlenmiştir. Bu bilgiler bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir [160]. Çalışmamızda, safra yollarında ligasyon sonrasında *Cynara scolymus* L. ekstraktı verilen deney grubunda bazı alanlarda yapının korunduğu dikkati çekti. Gümüşleme boyamasında, Sham grubu dışında diğer deney gruplarına göre azalmış retikulum lif yoğunluğu izlendi. Masson'un Trikrom boyamasında karaciğer stromasındaki kollajen lif yoğunluğunun azaldığı görüldü.

Leclercq ve arkadaşlarının (2006) yapmış olduğu çalışma sonucunda, Pioglitazone, safra yollarında ligasyon yapılan grubu ait olan serum bilirubin seviyelerini, safra kanalı proliferasyonunun derecesini veya hepatik fibrozisin değişmediğini göstermişlerdir. Bu bilgiler bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Çalışmamızda, Pioglitazon uygulanan grupta inflamatuar hücre infiltrasyonunun yer yer azaldığı dikkati çekmekteydi. Ayrıca Gümüşleme boyamasında retikulum lif yoğunluğunun devam ettiği görüldü ve Masson'un Trikrom boyama yöntemi ile ise kollajen liflere rastlandı [25].

Safra kanal ligasyon modelinde, safra bileşenlerinin hepatoselüler atılımı, hepatositlerde tutulmasını sağlayarak belirgin şekilde bozulmuştur. Kolestazis sendromu, safra bileşenlerinin karaciğerde tutulması ve bunların kanda regürjitasyonu ile sonuçlanan, bağırsağa safra drenajının tıkanmasına bağlı karaciğer fonksiyon bozukluğunu içerir [161, 162]. Kolestazis durumunda, temel hidrofobik safra tuzları ve bilirubin en önemli toksik etkilere sahiptir [163]. Zajic ve arkadaşları (2007) ve Kim ve arkadaşları (2013), mevcut araştırmadan elde edilen veriler, safra akışı kesintisinin en önemli ve güvenilir biyokimyasal göstergelerinin artan bilirubin değerleri olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada bilirubin artışı 7 gün sonra kaydedilmiştir [163, 164]. Kolestazis baskın olduğu için, doğrudan bilirubinin bir kısmı kan plazmasına geçer, konjuge tipte hiperbilirubinemiye yol açar [162]. Safra yolları ligasyonu ardından plazmada artan bilirubin değeri, hücreler ve plazma arasındaki artan konsantrasyon gradyanının bir sonucu veya safra akışındaki tıkanıklıktan kaynaklanabilir [162, 163].

Ramadan ve arkadaşları (2014) yaptıkları bir çalışmada, günlük *Cynara scolymus* özütünün (0.75gr/kg, 1.5gr/kg) uygulanması, N-nitrosodiethylamine (NDEA) intoksikasyonlu gruba

kıyasla serum total ve direkt bilirubin düzeylerinin yükselmesini önemli ölçüde sınırlamıştır [165]. Bu sonuçlar Ghanem ve arkadaşları (2009) serum bilirubinindeki bu azalmayı, karaciğerden safranın temizlenmesini uyaran, karaciğerde tıkanıklığı önleyen ve karaciğer hasarını azaltan sinarine bağlamıştır [166].

Skar ve arkaşları (2009) yapmış olduğu çalışmanın sonucunda, safra obstrüksiyonu, farklı periyotlarda Sham ameliyat edilen gruba göre serum total bilirubin konsantrasyonunu arttırmıştır. Ayrıca, safra yolları ligasyonu sonrasında 4 hafta boyunca 50 µg Kolşisin ile tedavisi edilen sıçanların, yüksek bilirubin konsantrasyonunda önemli bir düşüş göstermiştir [128].

Galli ve arkadaşları (2002) yapmış oldukları çalışma sonucunda, safra yolları ligasyonu yapılan gruba ait bilirubinde önemli bir artış göstermiştir. Ancak, TZD ile tedaviden sonra bilirubin değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir [24]. Benzer şekilde Leclercq ve arkadaşları (2006) yapmış oldukları çalışma sonucunda, safra yolları ligasyonu sonrasında Pioglitazon ile 5. günden 14. güne veya 14. günden 28. güne kadar tedavi edilen gruba ait serum bilirubin seviyelerini değiştirmemiştir [25].

Çalışmamızda, safra yollarında ligasyon yapılan Kontrol gruptaki hayvanların bilirubin değerlerinde anlamlı bir artış kaydedilmiştir. Ancak, safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait bilirubin değerleri birbiri ile benzerdir ve Kontrol gruplarından anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir.

Alkalin fosfataz (ALP) seviyelerindeki artış, sıçanlarda safra kanalı ligasyonu aracılığıyla oluşan hasara bağlıdır [167]. Nasehi ve arkadaşları (2013) ile Kim ve arkadaşları (2013), yaptıkları çalışmalarda, sıçanlarda safra kanalı ligasyonunu takiben ALP aktivitesinde önemli bir artış olduğunu göstermişlerdir [168, 164]. Bu artış, membrana zarar veren ve bunun sonucunda ALP'ın dolaşıma geçmesine neden olan safra tuzlarının tutulmasına bağlanabilir [169, 170]. Karaciğer ve safra kanalı bozukluklarına, özellikle kolestazda olan ALP aktivitesindeki artışın neden olduğu bilinmektedir [161]. Ayrıca, kolestazda safra tuzlarının yeni ALP moleküllerinin sentezini indüklediği kanıtlanmıştır [171].

Ben Salem ve arkadaşları (2019) yaptıkları çalışmada, sıçanlarda yüksek yağlı diyet uygulanarak, karaciğer hasarını indükledikten sonra, *Cynara scolymus* yaprak ekstraktının

200-400mg/kg dozlarında iki hafta boyunca vererek ALP düzeylerinde önemli bir düşüş ortaya çıkarmıştır [172].

Skar ve arkaşları (2009) safra yolları ligasyonu oluşturarak yaptıkları çalışma sonucunda, 4 hafta boyunca 50 µg Kolşisin ile tedavi edilen sıçanların, safra yolları ligasyonu uygulanan sıçanlar ile karşılaştırıldığında yüksek serum ALP aktivitesinde azaltma olmadığını belirtmişlerdir [128].

Galli ve arkadaşları (2002) yaptıkları çalışmada, TZD uygulaması, hem dimethylnitrosamine (DMN) hem de CCl_4 ile uygulanan sıçanlarda ALT ve ALP seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Ancak, safra yolları ligasyonu sonrasında TZD uygulaması yapılan gruptaki bilirubin değerlerinde herhangi bir azalma tespit edilmemiştir [24].

Çalışmamızda, *Cynara scolymus* L. ve Kolşisin ile tedavi edilen gruplarda ALP değerleri normal düzeye inmediği görülmüştür. Zajic ve arkadaşları (2007), alkalen fosfatazın normal değerlere dönmesinin çok daha uzun sürdüğünü ve klinik olarak başarılı bir biliyer iyileşmeye rağmen bazen kalıcı olarak yüksek kaldığını belirtmişlerdir [163]. Öte yandan, çalışmamızda kullandığımız 3 hepatoprotektif özellikli maddeden biri olan pioglitazone ile tedaviden sonra ALP seviyelerinde azalma olduğu görülmüştür.

Hasarlı karaciğer hücreleri, karaciğere özgü enzimleri kan dolaşımına salgılar. Serum aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz gibi salgılanan bu enzimler sıklıkla karaciğer hasarının biyokimyasal göstergeleri olarak kullanılır ve terapötik ajanların etkilerinin araştırılmasında önemli bir rol oynar [173-175]. Ayrıca, bu enzimler, hepatopati olduğunda başlangıçta sitoplazmada daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur, bu nedenle bu enzimler, karaciğer hasarının boyutuna uygun olarak kan dolaşımına sızar [176]. Az sayıdaki çalışmada, safra yolları ligasyonunu takiben sıçanlarda serum AST, ALT, ALP ve bilirubin konsantrasyonunda belirgin bir artış kaydelmiştir [129, 177-179]. Çalışmamızda da, safra yollarında ligasyon yapılan gruptaki (Kontrol) hayvanların AST, ALT, ALP aktiviteleri ve bilirubin değerleri anlamlı artış göstermiştir.

Çolak ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, CCl_4 uygulanarak, karaciğer hasarını indükledikten sonra *Cynara scolymus* L. yaprak özütü (1.5 gr/kg/gün) vererek AST ve ALT düzeylerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Aynı şekilde *Cynara scolymus* L. yaprak

özütünün karaciğerin yenilenme mekanizmasını hızlandırdığını da göstermişlerdir [93]. Tüm bu sonuçlar, *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının antioksidan özelliklerinden dolayı oksidatif strese karşı daha hızlı toparlanmanın bir sonucu olarak hücre zarlarının ve karaciğer dokusundaki onarım mekanizmalarının yeniden stabilize olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, Cedillo ve arkadaşları (1996), yaptıkları çalışmada, safra yolları ligasyonu sonrasında hem Kolşisin hem de trimethylcolchicinic acid (TMCA) 50ug/sıçan/gün dozda ağızdan uygulama yapılan gruba ait AST, ALT, ALP aktivitelerinin ve toplam bilirubin konsantrasyonunun safra yollarında ligasyon yapılan sıçanlar ile karşılaştırıldığında belirgin azalma olduğunu göstermişlerdir [180].

Abdul-Kafy ve arkadaşları (2019) yaptıkları bir araştırmada 8 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda NAFLD oluşturmuşlardır. NAFLD sonrasında pioglitazone uygulaması yapılan gruba ait AST ve ALT seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığını tespit etmişlerdir [181]. Benzer şekilde bizim çalışmamızda safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruba ait hepatik fonksiyon göstergesi kabul edilen enzimlerden AST, ALT değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede azaldığı saptandı. Ayrıca, Sham grubu ile benzer olduğu gösterilmiştir.

Negatif inflamatuar reaktanlar ve bozulmuş sentetik karaciğer fonksiyonunun belirteçleri olarak albüminler, ekstrahepatik kolestazlı hastalarda anlamlı olarak daha düşüktür [162]. Aynı zamanda hipoalbümineminin en sık ilerlemiş kronik karaciğer hastalıkları varlığında olduğu bildirilmiştir [182]. Zajic ve arkadaşları (2007) yapmış oldukları bir çalışmada, sıçanlarda safra yolları ligasyonu sonrası test edilen üç periyodun ardından albümin içeriğinde önemli bir düşüş göstermiştir [163]. Mevcut araştırmadaki albümin içeriğindeki azalma, karaciğerin albüminleri sentezleme yeteneğinin azalmasıyla sonuçlanan karaciğerin sentez işlevindeki önemli hasara bağlanabilir.

Elmosallamy ve arkadaşları (2020), hepatosellüler karsinom tedavisinde *Cynara scolymus* ekstraktının sinerjistik etkisini ve rolünü aydınlatmayı araştırmak amacı ile Wistar albino sıçanlara üç ay boyunca Thioacetamide (TAA) uygulamasının ardından gavaj ile günlük olarak deneyin sonuna kadar *Cynara scolymus* metanol ekstraktı 1.5 mg/kg vermiştir. Çalışmanın sonucunda, normal Kontrol grub ile karşılaştırıldığında albümin aktivitelerinin

istatistiksel olarak anlamlı arttığı gösterilmiştir [183]. Benzer şekilde, N-nitrosodiethylamine (NDEA) ile karaciğer hasarı oluşumu indüklenen başka bir çalışmada, *Cynara scolymus* ekstraktı (750 ve 1500 mg/kg /vücut ağırlığı) ile ön tedavi edilen grubunda albümin düzeylerinin arttığı belirlenmiştir [165].

Emarha ve arkadaşları (2021) yaptıkları bir araştırmada, iki ay boyunca haftada üç kez thioacetamide (TAA)'nin (150 mg/kg vücut ağırlığı) i.p enjeksiyonu ile sıçanlarda hepatotoksisite oluşturmuşlardır. Çalışmanın sonucunda, Kolşisin ile tedavi, toplam protein ve albüminde önemli artış göstermiştir. Böylece üretim karaciğer fonksiyonunda iyileşme sağlanmıştır [184].

Surapaneni ve Jainu (2014) deneysel olarak oluşturulan alkolsüz steatohepatitte (NASH) pioglitazon, kersetin ve hidroksi sitrik asidin hepatik biyobelirteçler ve çeşitli biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisini araştırmak için yaptıkları çalışma sonucunda, Pioglitazon ile tedavi edilen deneysel NASH sıçanlarının serum albümininde önemli azalma gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır [185].

Çalışmamızda ise safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulanan gruba ait albümin düzeyleri ve Kontrol grubunun düzeyleri birbiri ile benzerdi. Bununla birlikte sham grubu ile karşılaştırıldığında albümin seviyesinde çok önemli fark saptanmamıştır. Albümin sentezinin uyarılması, rejenerasyon sürecini ve karaciğer hücrelerinin üretimini hızlandıran bir hepatoprotektif mekanizma olarak geliştirilmiştir [186]. Fahmy (2015) yapmış olduğu bir çalışmada, safra yolları ligasyonu sonrasında 28 gün boyunca Holothuria arenicola ekstresi (HaE) ile tedavi edilen sıçanlara ait albümin seviyesinin normale yakın değerlere geldiğini göstermişlerdir. Verilen bu bilgiler bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir [187].

Total oxidant status (TOS) ve total antioxidant status (TAS) ölçümleri oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılmaktır. TOS, oksidatif stresin önemli bir göstergesidir [188], TAS ise doku bütünlüğünü oksidatif hasardan koruma işlevi görür. TAS, antioksidan seviyesinin kesin bir göstergesidir [189]. Çoban ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmada, safra kanalı ligasyon modelinde ratlarda TOS düzeyi artmış ve TAS düzeyi azalmış; tersine, Nigella sativa ile tedavi edilen grubunda TOS düzeyi azalmıştır ve TAS düzeyi artmıştır [190]. Diğer deneysel yaralanma modellerinde de benzer sonuçlar

gözlenmiştir [191]. Çalışmamızda, TOS düzeyi açısından, Kontrol grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı artış bulunmaktadır. Ayrıca, TAS açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır.

Daha önce Jimene-Escrig ve arkadaşları (2003) enginarın antioksidan özelliklerini incelemiş ve bu bitkinin in vitro olarak kabul edilebilir antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir [192]. Kolşisin, antioksidan özelliğinin bir sonucu olarak, indüklenmiş karaciğer fibrozisinde apoptozisi doğrudan doğruya önlediği kabul edilmiştir [193]. Ayrıca, Aral ve arkadaşları (2018) tarafından yapılmış çalışma sonucunda, Kolşisin tedavisi, periodontitis grubuna göre TOS ve OSI düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır ve TAS düzeylerini artırmıştır [194]. Kara (2015) yapmış olduğu çalışmanın amacı, metabolik sendromun (MS) sıçan böbrek dokularında, Pioglitazonun oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektedir. Sonuç olarak, Pioglitazon tedavi edilen grubu, MS grubuna kıyasla böbrekteki TOS aktivitelerini azaltmıştır. Ayrıca, Pioglitazon tedavisinin, metabolik sendromda böbrek dokularındaki yüksek TAS seviyelerini düzeltmiştir, ancak bu düzelme önemli ölçüde değildir [195].

Çalışmamızda benzer şekilde, TOS aktivitesi bakımından Kontrol grubuna göre, safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruplarda azalma tespit edilmiştir. Ayrıca TAS açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktayken, Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruplarda artma olduğunu görülmüştür. *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon safra yolları ligasyonu tarafından oluşturulan karaciğer hasarı sonucu oluşan TOS ve TAS düzeyine olan etkilerinin daha önceden çalışılmaması nedeniyle bunlarla ilgili karşılaştırma yapılamamıştır.

Safra yolları ligasyonu, oksidatif DNA hasarı üretebilen ROT ve serbest radikaller üretir. DNA hasarlarının oluşumu, hücrelerin homeostazını ve apoptozis ve hücre proliferasyonu ile bağlantılı indüklenen sinyal transdüksiyonlarını etkiler. DNA hasarına yanıt olarak, tümör baskılayıcı gen p53 ekspresyonunu tetikler ve p53'ün protein ürünü, DNA'yı onarmak için G1 fazındaki hücre döngüsünü bloke eder [196]. Hasar şiddetli olduğunda apoptozisi tetikler. Oksidatif hasar sonucunda mitokondriden sadece DNA hasarı değil sitokrom c de salınır ve bu yol da p53 ve kaspazları aktive eder [197].

Daha önce bir tümör baskılayıcı olarak tanımlanan P53, şimdi hücre stresi altında mitokondriyal apoptozis yolunun önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. Hipoksi, DNA hasarı ve reaktif oksijen türleri gibi çeşitli uyaranlara yanıt olarak, p53, hedef genlerin aktivasyonu ve transkripsiyonel bağımsız bir sinyal mekanizması dahil olmak üzere ikili eylem yoluyla hücre ölümünü indükler [198].

Kodama ve arkadaşları (2011), hepatositlerde kalıcı p53 aktivasyonunun, hepatosit apoptozunun artmasına ve spontan karaciğer fibrozisine yol açtığını bildirmiştir [199]. Ek olarak, p53 aracılı karaciğer hücresi apoptozisi ve primer biliyer siroz ve kolestaz ile ilişkili yaralanmalarda çok önemli bir rol oynar. Ayrıca karaciğerde toksik safra tuzlarının birikmesi temel olaydır [200, 201]. Çolak ve arkadaşları (2016) CCl_4 ile DNA parçalanması oluşturarak yaptıkları çalışma sonucunda, *Cynara scolymus* yaprağı ekstresi uyguladıkları sıçanlara ait p53 ve caspase 3 değerlerinin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir [93].

Çalışmamızda ise P53 immunoreaktivitesi değerlendirildiğinde, safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruplarda Sham grubuna göre anlamlı olarak artarken, Kontrol grubuna göre benzer immunoreaktivite gösterdiği izlendi. Ayrıca *Cynara scolymus* gruplarında P53 immunopozitif alan yüzdesi Kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Ancak safra yolları ligasyonu yapılarak oluşturulan karaciğer hasarında, *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulamasının p53 düzeyine ait olan bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlanmamıştır.

Karaciğer fibrojenezi sırasında, karaciğer rejenerasyonu ile esas olarak inflamasyon, hücre ölümü ve homeostazı yeniden kurmak için rejenerasyon süreçlerini içeren yara iyileşme süreci arasında bir dengesizlik vardır [202]. ROT, Nuclear Factor Kappa B (NF-κβ) translokasyonunun çekirdeğe nükleer translokasyonuna neden olur. Bu da normalde bastırılmış Fatty Acid Synthetase (FAS) ligandının transkripsiyonel ekspresyonunu indükleyerek apoptotik hücre ölümünü teşvik eder. FAS ligandı, bitişik hepatositlerde FAS'a bağlanır ve caspase 9 aktivasyonuna yol açar, ardından caspase 3 aktivasyonu dahil olmak üzere diğer caspase'lar, böylece apoptotik hepatosit hücre ölümünü teşvik eder [203, 204]. Safra tuzu salgılanmasındaki başarısızlık, FAS ve TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) gibi hücre ölümü reseptörlerinin aktivasyonundan sonra in vivo ve in vitro olarak apoptozisi indükleyebilen hepatositlerin yüksek konsantrasyonu ile sonuçlanır [205-207]. Bu durum safra yolları ligasyonu yapılan ve FAS eksikliği olan fareler kullanılarak

doğrulanmıştır, bu daha düşük caspase3 aktivitesi göstermiştir ve bu nedenle apoptoz yoluyla hepatoselüler ölümü azaltmıştır [208].

Guedes ve arkadaşları (2022) yaptıkları bir çalışmada, yetişkin Wistar sıçanlarda safra yolları ligasyonu uygulanan gruplarda intraperitoneal olarak 7, 14, 21 veya 28 gün boyunca *Cynara scolymus* L. ile tedavi yapmışlardır. Elde edilen sonuçlardan, diğer yazarların [209, 210] sunduğu gibi *Cynara scolymus* L. ile 14 günlük tedaviden sonra caspase 3 aktivitesini önemli ölçüde azaltabilmiştir [211], bu da doğrudan azalmış hepatoselüler apoptozis ile ilişkili olduğunu göstermiştir [209, 212].

Feng ve Kaplowitz (2002) farelerde yaptıkları bir çalışma sonucunda, kolşisin ile tedavi, anti-Fas antikoru tarafından indüklenen apoptozise dirençli olan hepatositler üzerindeki etkisiyle in vivo farelerin hayatta kalmasını arttırmıştır. Apoptozisin inhibisyonu aynı zamanda azalmış caspase 8 ve caspase 3 benzeri aktivitede yansıtılmıştır [213].

Hem oksidatif stres hem de inflamasyonun apoptozisi indüklediği düşünülmektedir [214]. Hücre zarı üzerindeki reseptör aktivasyonu yoluyla TNF-α, apoptozisin dışsal yolunu uyarabilirken, fazla ROS içsel yolu uyarır [215, 216]. Her iki yolun da aktivasyonu, DNA'yı parçalamak için DNA -az'ı uyarmak için caspase 3 dahil olmak üzere caspase'ların aktivitesinin artmasıyla sonuçlanır. Mahmud (2015) yapmış olduğu bir çalışma sonucunda, methotrexate (MTX) ile tedavi edilen sıçanlarda pioglitazon uygulamasının hepatik caspase 3 aktivitesini önemli ölçüde azalttığını saptamıştır [217].

Çalışmamızda, caspase3 aktivitesi bakımından safra yolları ligasyonu sonrasında Sham grubuna göre *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruplarda artma bulunurken, Kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir.

Şiddetli ve kronik karaciğer hasarı sırasında, oval hücreler olarak adlandırılan karaciğer hücrelerinin bir alt popülasyonunun çoğalması indüklenmektedir. Oval hücreler tipik hepatositler değildir; bunlar gerçekten de hepatositik veya duktal hücre soyları için progenitör olarak işlev görebilen daha az olgun hücrelerdir. Bu tür hücreler, alfa-fetoprotein (AFP) transkriptlerini ifade eder [218-220]. AFP, yolk kesesi, fetal karaciğer ve bağırsakta yüksek oranda oluşan bir onkofetal gendir. Doğumdan sonraki ilk haftalarda kan değerleri azalır [221, 222]. Yetişkin karaciğerinde AFP sadece çok küçük miktarlarda bulunur.

Bununla birlikte, AFP ekspresyonu, karaciğer rejenerasyonu (örn., cerrahi rezeksiyondan sonra) ve karaciğer karsinogenezi (örn., hepatoselüler karsinom) gibi belirli patofizyolojik durumlarda yeniden başlayabilir. Artmış AFP gen ekspresyonu, kronik karaciğer hastalığı gibi patolojilerde de meydana gelir [223-226].

Motalleb ve arkadaşları (2008), neoplastik hepatositler tarafından AFP sentezinin yeniden başlatılmasını, AFP geninin artan transkripsiyonuna bağladılar [227]. Bir başka çalışmada Ramadan ve arkadaşları (2014), *Cynara scolymus* ekstraktının günlük olarak (0.75 ve 1.5g / kg) dozlarında, silymarin ve bunların kombinasyonunun, N-Nitrosodiethylamine (NDEA) ile uygulanması olan gruba kıyasla serum AFP seviyesinin yükselmesini önemli ölçüde sınırladığını göstermiştir, böylece *Cynara scolymus* ekstraktının sıçanlarda NDEA 'nın neden olduğu HCC'yi geciktirebileceğini düşündürmektedir [156].

Amraje (2020) yapmış olduğu bir araştırmada 12 hafta boyunca fruktoz verimi ile sıçanlarda NASH oluşturmuştur. Dokuzuncu haftadan başlayarak çalışmayı sonuna kadar 100 µg/gün dozunda gavaj ile Kolşisin verilen gruptaki sıçanların Kontrol grubundakilere göre karaciğerlerindeki AFP seviyesinin arttığı dikkati çekmiştir [228].

Gupta ve arkadaşları (2014) Pioglitazonun karaciğer fibrozisi üzerine etkisini araştırmak amacı ile Sprague–Dawley sıçanlara 10 gün boyunca Pioglitazone 20 mg/kg uygulamasının ardından i.p yolla 8. günde acetaminophen (350 mg/kg) vermiştir. Bu çalışma sonucunda, Pioglitazon, yüksek AST, ALT, TB, ALB ve AFP seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır ve hidroksil iyonlarını temizleyerek serbest radikal oluşumunu inhibe etmiştir. Aynı zamanda, LPO seviyesini azaltmıştır ve acetaminophen'in neden olduğu hepatotoksisitede endojen antioksidan enzimlerin seviyeleri önemli ölçüde yükselmiştir [229].

Çalışmamızda AFP immunopozitif alan yüzdesi incelendiğinde, Sham grubunda Kontrol, *Cynara scolymus*, Kolşisin ve Pioglitazon gruplarına göre anlamlı şekilde düşüktür. Ayrıca *Cynara scolymus* ve Pioglitazon gruplarında AFP immunopozitif alan yüzdesi Kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, tedavi edilen gruplarda daha iyi bir sonuç alınacağını düşündürmektedir. Kolşisin verilen gruplarda AFP immunopozitif alan yüzdesinin Kontrol grubuna göre arttığı dikkati çekmiştir.

İnflamasyon, kronik karaciğer hasarı sırasında yaygın olarak gelişen karaciğer fibrozisi ile ilişkilidir [230,231]. Tümör nekroz faktör (TNF), karaciğer hasarından sonra sitokin indüksiyonunu içeren inflamatuar bir kaskadı tetikleyen önemli bir faktördür. Hasarlı karaciğer, ağırlıklı olarak Kupffer hücreleri ve infiltre makrofajlar ve nötrofiller, TNF üretecektir. TNF, karaciğerde sadece hepatosit proliferasyonunu, apoptozisi ve inflamasyonu indüklemekle kalmayıp, aynı zamanda kollajen1 gen ekspresyonunu baskılayarak ikili bir rol oynar [230-234]. Ayrıca, TNF-α ile indüklenen Nükleer Faktör kappa B (NF-κB) aktivasyonu, inflamatuar yanıtın önemli bir transkripsiyonel düzenleyicisidir ve karaciğerdeki inflamatuar sinyal yollarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar [235].

Afifi ve arkadaşları (2015) yaptıkları araştırmada, *Cynara scolymus* L. özütünün (0.75 ve 1.5g/kg vücut ağırlığı), silimarin ve bunların kombinasyonlarında günlük olarak uygulanması, N- nitrosodiethylamine (NDEA) ile uygulaması olan gruba kıyasla serum TNF-α seviyesinin anlamlı bir şekilde azaldığını göstermiştir [236]. Bu etki, *Cynara scolymus* L. ekstraktındaki inflamatuar sitokin üretimini engelleyebilen luteolin ve apigenin varlığına bağlıdır [237].

Amraje (2020) NASH oluşturarak yaptığı bir çalışma sonucunda. Kolşisin ile tedavi edilen grupta TNF-α immunreaktivitesinin NASH grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gözlemiştir [228].

Başka bir çalışmada, pioglitazon TNF-α 'yı azaltarak NASH patofizyolojisinde yer alan inflamasyon ve nekrozu önleyebilmiştir [238].

Bizim çalışmamızda da TNF-α immunreaktivitesi değerlendirildiğinde, safra yolları ligasyonu sonrasında *Cynara scolymus* L., Kolşisin ve Pioglitazon uygulaması yapılan gruplarda Kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir. Ancak, Sham grubuna göre anlamlı olarak artan immunoreaktivite izlendi.

Son yıllarda giderek artan sayıda çalışma, dokuların histopatolojik incelemesinde üç boyutlu (3D) bilgilerin dikkate alınmasının önemini vurgulamıştır [239,240]. Karaciğer, kompleks 3D doku organizasyonunun uygun bir örneğidir [241]. Bu 3D rekonstrüksiyonlar çoğunlukla 3D PDF'ler olarak ve nadiren 3D yazdırılmış modeller olarak sunulur. Teknik ilerleme ve

sanal gerçeklik (VR) cihazlarının erişilebilirliğinin artmasıyla birlikte, VR kullanılarak yapılan tıbbi uygulamalar da tanıtılmıştır. Bu nedenle, VR aynı zamanda bu 3D modellerin tıpta sunumu için ilginç ve yeni bir alternatifi temsil etmektedir [242].

Üç boyutlu baskı, çeşitli tıp öğretimi alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır ve geleneksel yöntemlerden daha etkili olduğu gösterilmiştir [243]. Üç boyutlu basılı modeller, karmaşık anatomik bilgilerin klinisyenlere aktarılmasına yardımcı olur. Bu da ameliyat öncesi planlamanın yanı sıra intraoperatif navigasyon ve cerrahi eğitim amaçları için artan kullanışlılıkla sonuçlanır [244].

3D baskılı modeller, karaciğer ameliyatlarının ameliyat öncesi planlamasında ve simülasyonunda, özellikle küçük veya ince karaciğer lezyonlarının cerrahi tedavisine rehberlik etmede veya girişimsel prosedürleri gerçekleştirmede faydalı araçlar olarak bildirilmektedir [243]. Yang ve arkadaşları (2018) yapmış olduğu çalışma sonucunda, kullanılan 3D baskılı karaciğer modeli, katılımcıların karaciğer anatomisi, fizyolojisi, tümör özellikleri, cerrahi prosedürler ve ilişkili cerrahi riskler konusundaki anlayışını geliştirilmiştir [245].

Çalışmamızda, deney gruplarındaki histopatolojik ve histomorfometrik değişiklikler göz önüne alınarak, bu gruplara ait 3 boyutlu bilgisayar modellemeleri yapıldı. Ayrıca, VR ve AR teknolojilerine uygulanması ve etkileşimli hale getirilmesi sağlandı. Bunlardan 3 boyutlu printer ile 3 boyutlu, elle tutulur çıktıları alındı ve bunların Tıp Sağlık Bilimleri eğitiminde de kullanılması planlanmaktadır.

Ayrıca, karaciğer hasarının çalışmadan elde edilen sonuçlara göre 3 boyutlu modellenmesi dünyada ilk olarak tarafımızdan yapıldı. Bu neden ile herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır.

6. SONUÇ

Safra kanalı ligasyonu ile oluşturulan deneysel karaciğer fibrozisi modelinde, oluşan karaciğer hasarı üzerine *Cynara scolymus* L. yaprak ekstraktının, Kolşisin ve Pioglitazone' nun karaciğer hasarını önlenmeye yönelik etkileri olduğu ortaya konmuştur.

Histomorfolojik değerlendirmede, safra yolları ligasyonu sonucu ortaya çıkan patolojik bulguların diğer deney gruplarında da devam etmekle beraber, ligasyon grubuna göre yoğunluklarında azalma olduğu görüldü. Bununla beraber, özellikle *Cynara scolymus* grubunda fibrotik değişikliklerin azalmış olduğu dikkati çekti.

Biyokimyasal parametrelerin analizinde ise, safra yolları ligasyonu sonucu ortaya çıkan patolojik bulgularda diğer deney gruplarında, Kontrol grubuna göre azalma olduğu gözlendi. Bununla birlikte, *Cynara scolymus* grubu, Kolşisin grubu ve Pioglitazon grubunun değerleri birbiri ile benzer olduğu dikkati çekti.

Çalışmamızdaki sonuçlarımızın desteklenmesi ve preklinik uygulamaların belirlenmesi açısından yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

3D baskılı modellerin, orijinal görüntülerle karşılaştırıldığında karaciğer yapılarını güvenilir ve doğru bir şekilde sergilediği görülmektedir.

Gerçek mikroskopik çalışmalardan alınan mikroskopik görüntülerden elde edilen modeller, 3D çıktılar, Artırılmış Gerçeklik (AR) ve Sanal Gerçeklik (VR) verilerinin hem yayınlarda hem de Tıp ve Sağlık Bilimleri eğitiminde günlük hayatımıza çok daha fazla gireceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Iredale, J.P. (2007). Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *Journal of Clinical Investigation*, 117, 539-548.

2. Bataller, R., and Brenner, D.A. (2005). Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 115(2), 209-231.

3. Bortolotti, F., and Guido, M. (2007). Reversal of liver cirrhosis: a desirable clinical outcome and its pathogenic background. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44(4), 401-406.

4. Parola, M., Leonarduzzi, G., Robino, G., Albano, E., Poli, G., and Dianzani, M.U. (1996). On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by longstanding cholestasis. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(3), 351-359.

5. Montilla, P., Cruz, A., Padillo, F.J., Tunez, I., Gascon, F., Munoz, M.C., Gomez, M., and Pera, C. (2001). Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra hepatic bile duct ligation in rats. *Journal of Pineal Research*, 31(2), 138-144.

6. Shimizu, I., Ma, Y.R., Mizobuchi, Y., Liu, F., Miura, T., Nakai, Y., Yasuda, M., Shiba, M., Horie, T., Amagaya, S., Kawada, N., Hori, H., and Ito, S. (1999). Effects of Shosaiko-to, a Japanese herbal medicine, on hepatic fibrosis in rats. *Hepatology*, 29(1), 149-160.

7. Casini, A., Ceni, E., Salzano, R., Biondi, P., Parola, M., Galli, A., Foschi, M., Caligiuri, A., Pinzani, M., and Surrenti, C. (1997). Neutrophilderived superoxide anion induces lipid peroxidation and stimulates collagen synthesis in human hepatic stellate cells: role of nitric oxide. *Hepatology*, 25(2), 361-367.

8. Barber, A.E., Jones, W.G., Minei, J.P., Fahey, T.J., Lowry, S.F., and Shires, G.T. (1991). Bacterial overgrowth and intestinal atrophy in the etiology of gut barrier failure in the rat. *American Journal of Surgery*, 161(2), 300-304.

9. Ali, B.H., and Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. *Phytotherapy Research*, 17(4), 299-305.

10. European Medicines Agency. (2010). *Assessment report on Cynara scolymus L., folium EMA/HMPC/150209/2009*. Committee on Herbal Medicinal Products, 1-41.

11. Baytop, T. (1971). *Farmakognozi – II.Cilt*. İstanbul: İÜEF Yayınları, 302.

12. Kraft, K. (1997). Artichoke leaf extract- recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts. *Phytomedicine*, 4(4), 369-378.

13. Ben-Chetrit, E., and Levy, M. (1998). Colchicine: 1998 update. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 28(1), 48-59.

14. Shi, Q., Chen, K., Morris-Natschke, S. L., and Lee, K. H. (1998). Recent progress in the development of tubulin inhibitors as antimitotic antitumor agents. *Current Pharmaceutical Design*, 4(3), 219-248.

15. Ehrlich, H., and Bornstein, P. (1972). Microtubules in transcellular movement of procollagen. *Nature*, 238(87), 257-260.

16. Harris, E.D., and Krane, S.M. (1971). Effects of colchicine on collagenase in cultures of rheumatoid synovium. *Arthritis & Rheumatology*, 14(6), 669-684.

17. Trinchet, J.C., Beaugrand, M., Callard, P., Hartmann, D.J., Gotheil, C., Nusgens, B.V. and Ferrier, J.P. (1989). Treatment of alcoholic hepatitis with colchicine. Results of a randomized doubleblind trial. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 13(6-7), 551-555.

18. Colman, J., Cromie, S., Cox, J., Roberts, S., Dudley, E., and Dudley, F. (1998). The natural history of alcoholic cirrhosis: effect of colchicine. *Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13, A202.

19. Kershenobich, D., Vargas, F., Garcia-Tsao, G., Tamayo, R. P., Gent, M., and Rojkind, M. (1988). Colchicine in the treatment of cirrhosis of the liver. *New England Journal of Medicine*, 318(26), 1709-1713.

20. Tack, C.J., and Smits, P. (2006). Thiazolidinedione derivatives in type 2 diabetes mellitus. *Netherlands Journal of Medicine*, 64(6), 166-174.

21. Galli, A., Crabb, D., Price, D., Ceni, E., Salzano, R., Surrenti, C., and Casini, A. (2000a). Peroxisome proliferator-activated gamma transcriptional regulation is involved in platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 119, 466-478.

22. Marra, F., Efsen, E., Romanelli, R.G., Caligiuri, A., Pastacaldi, S., Batignani, G., Bonacchi, A., Caporale, R., Laffi, G., Pinzani, M., and Gentilini, P. (2000). Ligands of peroxisome proliferatoractivated receptor gamma modulate profibrogenic and proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 119(2), 466-478.

23. Miyahara, T., Schrum, L., Rippe, R., Xiong, S., Yee, H.F. Jr., Motomura, K., Anania, F.A., Willson, T.M., and Tsukamoto, H. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation. *Journal of Biological Chemistry*, 275(46), 35715-35722.

24. Galli, A., Crabb, D.W., Ceni, E., Salzano, R., Mello, T., Svegliati-Baroni, G., Ridolfi, F., Trozzi, L., Surrenti, C., and Casini, A. (2002). Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in vivo and in vitro. *Gastroenterology*, 122(7), 1924-1940.

25. Leclercq, I.A., Sempoux, C., Stärkel, P., and Horsmans, Y. (2006). Limited therapeutic efficacy of pioglitazone on progression of hepatic fibrosis in rats. *Gut*, 55(7), 1020-1029.

26. Moore, K.L., Persaud, T.V.N., and Torchia, M.G. (2011). *The Developing Human E-Book*.Elsevier Health Sciences, 179-185.

27. Moore, K.L., Dalley, A.F., and Agur, A.M. (2014). *Clinically oriented anatomy* (7th Edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins,353-317.

28. Ross, M.H., and Pawlina, W. (2006). *Histology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 628- 647.

29. Kierszenbaum, A. L. (2015). *Histology and cell biology: An introduction to pathology e-book*. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 459-473.

30. Ovalle, W. K., and Nahirney, P. C. (2008). *Netter's essential histology e-book*. USA: Elsevier Health Sciences,312-327.

31. Barrett, K.E. Barman, S.M., Brooks, H.L., and Yuan, J.X.J. (2019). *Ganong's review of medical physiology* (26th Edition). New York: McGraw-Hill Education, 1152-1172.

32. Gökmen, F.G. (2003). *Sindirim sistemi: Sistematik anatomi* (1. Baskı). İzmir: Güven Kitabevi, 514-521.

33. Sherlock, S. (1994). *Karaciğer ve safra yolları hastalıkları*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 790- 820.

34. Freidman, A., and Dachman, A. (1994). *Radiology of the liver, biliary tract and pancreas*. USA: Mosby, 335-403.

35. Goldman, L., and Schafer, A.I. (2015). Karaciğer, safra kesesi ve safra yolları hastalıkları. İçinde: S. Ünal (Edt.), *Goldman's cecil medicine* (24. Baskı). İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri, 1011-1019.

36. Çelik, H. ve Denk, C. (2013). *Netter'in klinik anatomisi* (2. Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 148-149.

37. Snell, R.S. (2004). Klinik anatomi. İçinde: M. Yıldırım (Edt.), *Snell klinik nöroanatomi* (2. Baskı). İstanbul: Nobel Yayın Dağıtım, 156-165.

38. Skandalakis, J.E., Skandalakis, N.P., and Skandalakis, L.J. (1995). *Surgical anatomy and technique.* New York: Springer-Verlag, 513-548.

39. Matthews, J.B. (2013). *Shackelford's surgery of the alimentary tract*. (7th Edition). Philadelphia: Elsevier Inc, 1291.

40. Gore, R. M., & Levine, M. S. (2014). *Textbook of gastrointestinal radiology e-book.* Elsevier Health Sciences, 1281-1284.

41. Borley, N.R. (2005). Hepatobiliary system. In: P.L. William (Ed.), *Gray's anatomy* (39th Edition). London: Churchill Livingstone, 1227-1230.

42. Hall, J. E., & AC, G. (2017). Guyton and Hall textbook of medical physiology. *Korea: Bupmoon Education*.827-830

43. Brunicardi, F. C., Andersen, D. K., Billiar, T. R., Dunn, D. L., Hunter, J. G., Kao, L., ... & Pollock, R. E. (2019). SCHWARTZ'S PRINCIPLES OF SURGERY 2-volume set 11th edition. McGraw Hill Professional, 1397-1398.

44. Arıncı, K. ve Elhan, A. (2014). *Anatomi-I. Cilt* (5. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 273-275.

45. Memik, M. (2005). *Klinik gastroenteroloji*. Ankara: Nobel & Güneş Yayınları, 682-683.

46. Mescher, A.L. (2016). *Junqueira's basic histology: Text and atlas* (14th Edition). McGraw-Hill Medical Publishing, 338.

47. Blumgart, L.H., Fong, Y., and Erlinger, S. (2000). *Surgery of the liver and biliary tract*. (3rd Edition). London: W.B. Saunders, 109-120.

48. Mishra, J.P., and Singh, L.N. (1996). Changes in serum protease inhibitors and liver specific enzymes in experimental jaundice. *Indian Journal of Medical Sciences,* 50, 221-227.

49. Lee, R.G. (1994). *Diagnostik liver pathology: Cholestasis an biliary obstruction*. London: Mosby, 81-107.

50. Endo, M., Katsumata, K., Yokoyama, J., Morikawa, Y., Ikawa, H., Kamagata, S., Nakano, M, Nirasawa, Y., and Ueno, S. (1983). Extended dissection of the portahepatis and creation of an intussuscepted ileocolic conduit for biliary atresia. *Journal of Pediatric Surgery*, 18(6), 784-793.

51. Kadıoğlu, M.B. (2005). *Tıkanma sarılığı oluşturulan modelde ursodeoksikolik asit ve glutamin'in bakteriyel translokasyon, karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer histopatolojisine olan etkileri*. TC Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul,19-21.

52. Roshal, M., Zhu, Y., and Planelles, V. (2001). Apoptosis in AIDS. *Apoptosis*, 6(1), 103-116.

53. Williams, P, Warwick, R., Dyson, M., and Bannister, L.H. (1992). *Gray's anatomy* (37th Edition). Edinburgh: Churchill Livingstone, 1384-1396.

54. Erlinger, S. (1999). *Cholestasis-Sciff's disease of the liver* (18th Edition). Philadelphia: Lippincott Raven, 611-629, 640.

55. Kountouras, J., Billing, B.H., and Scheuer, P.J. (1984). Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *British Journal of Experimental Pathology*, 65(3), 305.

56. Lee, S.S., Girod, C., Braillon, A., Hadengue, A., and Lebrec, D. (1986). Hemodynamic characterization of chronic bile duct-ligated rats: Effect of pentobarbital sodium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 251(2), 176-180.

57. Zimmermann, H., Reichen, J., Zimmermann, A., Sägesser, H., Thenisch, B., and Höflin, F. (1992). Reversibility of secondary biliary fibrosis by biliodigestive anastomosis in the rat. *Gastroenterology*, 103(2), 579-589.

58. Blumgart, L.H. (1978). Biliary tract obstruction: New approaches to old problems. *The American Journal of Surgery*, 135(1), 19-31.

59. Mohan, H. (2010). *Textbook of pathology* (5th Edition). New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 592-643.

60. Dahl, E.E. (2006). Zakim and Boyer's hepatology-A textbook of liver disease. *Ugeskrift for Laeger*, 168(45), 3922.

61. Dröge, W. (2003). Oxidative stress and aging. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 543, 191–200.

62. Choi, J., and Ou J.H.J. (2006). Mechanisms of liver injury III oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290, 847-851.

63. Krähenbühl, S., Talos, C., Lauterburg, B.H., and Reichen, J. (1995). Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology*, 22(2), 607-612.

64. Carini, R., Chiarpotta, E., Biasi, F., Leonarduzzi, G., Comoglio, A., Carpi, C., and Poli, G. (1987). Relation Betwen liver necrosis and intrahepatic cholestasis in rats poisoned with CCL4. *Bollettino della Societa Italiano di Biologia Sperimentale*, 63(3), 273-280.

65. Weltman, M.D., Farrell, G.C., Hall, P., Ingelman-Sundberg, M., and Liddle, C. (1998). Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 27(1), 128–133.

66. Nair, J., Srivatanakul, P., Haas, C., Jedpiyawongse, A., Khuhaprema, T., Seitz, H.K., and Bartsch, H. (2010). High urinary excretion of lipid peroxidation-derived DNA damage in patients with cancer-prone liver diseases. *Mutation Research*, 683(1-2), 23–28.

67. Parola, M., and Robino, G. (2001). Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *Journal of Hepatology*, 35(2), 297-306.

68. Okuno, M., Kojima, S., Akita, K., Matsushima-Nishiwaki, R., Adachi, S., Sano, T., Takano, Y., Takai, K., Obora, A., Yasuda, I., Shiratori, Y., Okano, Y., Shimada, J., Suzuki, Y., Muto, Y., and Moriwaki, Y. (2002). Retinoids in liver fibrosis and cancer. *Frontiers in Biosci*,ence 7(1), 204-218.

69. Friedman, S.L. (2004). Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. Nature clinical practice. *Gastroenterology & Hepatology*, 1(2), 98–105.

70. Friedman, S.L. (2008). Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiological Reviews*, 88(1), 125-172.

71. Friedman, S.L. (1999). Cytokines and fibrogenesis. *Seminars in Liver Disease*, 19(2), 129-140.

72. Adachi, T., Togashi, H., Suzuki, A., Kasai, S., Ito, J., Sugahara, K., and Kawata, S. (2005). NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatology*, 41(6), 1272–1281.

73. De Minicis, S., and Brenner, D.A. (2007). NOX in liver fibrosis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 462(2), 266-272.

74. Liu, R.M., and Gaston Pravia, K.A. (2010). Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*, 48(1), 1–15.

75. Skandalakis, J.E., Skandalakis, P.N., and Skandalakis, L.J. (2000). Karaciğer. İçinde: R. Seven, T. Yaltı, Y. Erbil ve Ü. Değerli (Çev.), *Cerrahi anatomi ve teknik* (2. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 531-572.

76. Halliwell, B., and Gutteridge, J.M. (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet*, 323, 1396-1397.

77. Gutteridge, J.M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(2), 1819–1828.

78. McCord, J.M., and Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049-6055.

79. Aydogan, F., Unlu, I., Aydin, E., Yumusak, N., Devrim, E., Samim, E.E., Ozgur, E., Unsal, V., Tomruk, A., Ozturk, G.G., and Seyhan, N. (2015). The effect of 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G mobile phone on the parotid gland of rats. *American Journal of Otolaryngology*, 36(1), 39-46.

80. Kurutas, E.B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.

81. Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V., and Cardinali, A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 131-144.

82. Mehmetçik, G., Özdemirler, G., Kocak-Toker, N., Çevikbaş, U., and Uysal, M. (2008). Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60(6), 475-480.

83. Wang, M., Simon, J.E., Aviles, I.F., He, K., Zheng, Q.Y., and Tadmor, Y. (2003). Analysis of anti oxidative phenolic compounds in artichoke (Cynara scolymus L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 601-608.

84. Jimenez-Escrig, A., Dragsted, L.O., Daneshvar, B., Pulido, R., and Saura-Calixto, F. (2003). In vitro antioxidant activities of edible artichoke (Cynara scolymus L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5540-5545.

85. Panizzi, L., and Scarpati, M.L. (1955). Sintesi dell'acido clorogenico. *Experientia*, 11(10), 383-384.

86. Vamanu, E., Vamanu, A., Nita, S., and Colceriu, S. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extracts of Cynara scolymus (Cynarae folium, Asteraceae family). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(6), 777-783.

87. Abu-Reidah, I. M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (Cynara scolymus L.) by HPLC–DAD-ESI-QTOF-MS. *Food chemistry*, *141*(3), 2269-2277.

88. Jacociunas, L.V., de Andrade, H.H.R., Lehmann, M., Pedersini, L.W., Ferraz, A.d.B.F., da Silva, J., and Dihl, R.R. (2013). Protective activity of Cynara scolymus L. leaf extract against chemically induced complex genomic alterations in CHO cells. *Phytomedicine*, 20(12), 1131-1134.

89. Gebhardt, R. (1997). Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (Cynara scolymus L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 144, 279-286.

90. Perez-Garcia, F., Adzet, T., and Canigueral, S. (2000). Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes. *Free Radical Research*, 33(5), 661- 665.

91. Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., Guizzardi, S., Renzulli, C., and Guerra, M.C. (2003). Efficacy of different Cynara scolymus preparations on liver complaints. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 203-211.

92. Miccadei, S., Di Venere, D., Cardinali, A., Romano, F., Durazzo, A., Foddai, M.S., Mobarhan, S., and Maiani, G. (2008). Antioxidative and apoptotic properties of polyphenolic extracts from edible part of artichoke (Cynara scolymus L.) on cultured rat hepatocytes and on human hepatoma cells. *Nutrition and Cancer*, 60(2), 276-283.

93. Colak, E., Ustuner, M.C., Tekin, N., Colak, E., Burukoglu, D., Degirmenci, I. and Gunes, H.V. (2016). The hepatocurative effects of Cynara scolymus L leaf extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress and hepatic injur in rats. *Springer Plus*, 5(1), 216.

94. Houdkova, T. (2011). *Effect of colchicine on P-glycoprotein expression and activity in caco-2 cells*. Diploma Thesis, Univerzita Karlova Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Czechia, 50-62.

95. Bedossa, P., Houglum, K., Trautwein, C., Holstege, A., and Chojkier, M. (1994). Stimulation of collagen α1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: A link to tissue fibrosis?. *Hepatology*, 19, 1262-1271.

96. Rojkind, M., Mourelle, M., and Kershenobich, D. (1984). Anti-inflammatory and antifibrogenic activities of colchicine: Treatment of liver cirrhosis. In: P.D. Berk (Ed.), *Myelofibrosis and the Biology of Connective Tissue*. New York: Alan R. Liss, 475-489.

97. Solis-Herruzo, J.A., De Gando, M., Ferrer, M.P., Hernandez Munoz, I., Fernandez-Boya, B., De la Torre, M.P., and Munoz-Yague, M.T. (1993). Reversal of carbon tetrachloride induced changes in microviscosity and lipid composition of liver plasma membrane by colchicine in rats. *Gut*, 34, 1438-1442.

98. Das, D., Pemberton, P.W., Burrows, P.C., Gordon, C., Smith, A., McMahon, R.F., and Warnes, T.W. (2000). Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1502(3), 351-362.

99. Rojkind, M. (1992). Fibrogenesis in cirrhosis. Potential for therapeutic intervention *Pharmacology & Therapeutics*, 53(1), 81-104.

100. Yahuaca, P., Amaya, A., Rojkind, M., and Mourelle, M. (1985). Cryptic adenosine triphosphatase activities in plasma membranes of CCl4-cirrhotic rats. Its modulation by changes in cholesterol/phospholipid ratios. *Laboratory Investigation*, 53, 541-545.

101. Muriel, P., Martinez, M., and Mourelle, M. (1994). Does colchicine protect the liver from acute liver-damage induced by CCL4 by decreasing cytochrome-P450. *Hepatology*, 20(4), 378A.

102. Mourelle, M., Villalon, C., and Amezcua, J.L. (1988). Protective effect of colchicine on acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Journal of Hepatology*, 6(3), 337-342.

103. Rojkind, M., and Kershenobich, D. (1975). Effect of colchicine on collagen, albumin and transferrin synthesis by cirrhotic rat liver slices. *Biochimica et Biophysica Acta*, 378(3), 415-423.

104. Dashti, H., Jeppson, B., Hagerstrand, I., Hultberg, B., Sri Nivas, U., Abdulla, M., and Bengmark, S. (1989). Thioacetamide-and carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *European Surgical Research*, 21(2), 83-91.

105. Mourelle, M., and Meza, M.A. (1989). Colchicine prevents D-galactosamine-induced hepatitis. *Journal of Hepatology*, 8, 165-172.

106. Poo, J.L., Feldman, G., Moreau, A., Gaudin, C., and Lebrec, D. (1993). Early colchicine administration reduces hepatic fibrosis and portal hypertension in rats with bile duct ligation. *Journal of Hepatology*, 19(1), 90-94.

107. Kaplan, M.M., Bonder, A., Ruthazer, R., and Bonis, P.A. (2010). Methotrexate in patients with primary biliary cirrhosis who respond incompletely to treatment with ursodeoxycholic acid. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(11), 3207-3217.

108. Quinones, J., Pampaloni, M.H., Juarez, B.E., Wang, Y., Carmona, G.C., and Van Herle, K. (2000). Insulin resistance in healthy Mexican Americans is associated with coro nary artery endothelial dysfunction. *Diabetes*, 49(5), 146.

109. Haraguchi, G., Kosuge, H., Maejima, Y., Suzuki, J.I, Imai, T., Yoshida, M., and Isobe, M. (2008). Pioglitazone reduces systematic inflammation and improves mortality in apoli poprotein E knockout mice with sepsis. *Intensive Care Medicine*, 34, 1304-1312.

110. Ceriello, A. (2008). Thiazolidinediones as anti-inflammatory and anti-atherogenic agents. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 24, 14-26.

111. Inoue, I., Goto, S., Matsunaga, T., Nakajima, T., Awata, T., Hokari, S., Komoda, T., and Katayama, S. (2001). The ligands/activators for peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) and PPARgamma increase Cu2, Zn2 -superoxide dismutase and decrease p22phox message expressions in primary endothelial cells. *Metabolism*, 50, 3-11.

112. Shimazu, T., Inoue, I., Araki, N., Asano, Y., Sawada, M., Furuya, D., Nagoya, H., and Greenberg, J.H. (2005). A peroxisome proliferator activated receptor-gamma agonist reduces infarct size in transient but not in permanent ischemia. *Stroke*, 36, 353.

113. Everett, L., Galli, A., and Crabb, D. (2000). The role of hepatic peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in health and disease. *Liver*, 20, 191-199.

114. Shimada, T., Kojima, K., Yoshiura, K., Hiraishi, H., and Terano, A. (2002). Char acteristics of the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARgamma) ligand induced apoptosis in colon can cer cells. *Gut*, 50, 658-664.

115. Stumvoll, M., Goldstein, B.J., and van Haeften, T.W. (2005). Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365(9467), 1333-1346.

116. American Diabetes Association. (2021). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes Care*, 44(1), 15-33.

117. Verges, B. (2004). Clinical interest of PPARΓs ligands. *Diabetes & Metabolism*, 30, 7-12.

118. Da Ros, R., Assaloni, R., and Ceriello, A. (2004). The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. *Diabetic Medicine*, 21(11), 1249-1252.

119. Inoue, I., Noji, S., Awata, T., Takahashi, K., Nakajima, T., Sonoda, M., Komoda, T., and Katayama, S. (1998). Bezafibrate has an antioxidant effect: peroxisome proliferator-activated receptor α is associated with Cu2+, Zn2+-superoxide dismutase in the liver. *Life Sciences*, 63(2), 135-144.

120. Rahbar, S., Natarajan, R., Yerneni, K., Scott, S., Gonzales, N., and Nadler, J.L. (2000). Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. *Clinica Chimica Acta*, 301, 65-77.

121. Somi, M.H., Hajipour, B., Asl, N.A., Estakhri, R., Azar, A.N., Zade, M.N., and Vatankhah, A.M. (2009). Pioglitazone attenuates ischemia/reperfusion–induced liver injury in rats. *Transplantation Proceedings*, 41(10), 4105-4109.

122. Saltiel, A.R., and Olefsky, J.M. (1996). Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 45, 1661-1669.

123. Neuschwander-Tetri, B.A., Brunt, E.M., Wehmeier, K.R., Sponseller, C.A., Hampton, K., and Bacon, B.R. (2003). Interim results of a pilot study demonstrating the early effects of the PPAR-γ ligand rosiglitazone on insulin sensitivity, aminotransferases, hepatic steatosis and body weight in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Hepatology*, 38(4), 434-440.

124. Neuschwander-Tetri, B.A., Brunt, E.M., Wehmeier, K.R., Oliver, D., and Bacon, B.R. (2003). Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-γ ligand rosiglitazone. *Hepatology*, 38(4), 1008-1017.

125. Kon, K., Ikejima, K., Hirose, M., Yoshikawa, M., Enomoto, N., Kitamura, T., Takei, Y., and Sato, N. (2002). Pioglitazone prevents early-phase hepatic fibrogenesis caused by carbon tetrachloride. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 291, 55-61.

126. Kaymaz, M. B., Kandemir, F. M., Pamukcu, E., Eröksüz, Y., & Özdemir, N. E. C. M. İ. (2017). Effects of aqueous artichoke (Cynara scolymus) leaf extract on hepatic damage generated by alpha-amanitine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, *23*(1), 155-160.

127. Sakr, S.A., Mahran, H.A., Bassily, N.S., and Saif, M.E. (2009). Histopathological and biochemical effects of colchicine and trimethylcolchicinic acid on liver fibrosis induced by bile duct ligation in albino rats. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(3), 1233-1242.

128. Marra, F., DeFranco, R., Robino, G., Novo, E., Efsen, E., Pastacaldi, S., Zamara, E., Vercelli, A., Lottini, B., Spirli, C., Strazzabosco, M., Pinzani, M., and Parola, M. (2005). Thiazolidinedione treatment inhibits bile duct proliferation and fibrosis in a rat model of chronic cholestasis. *World Journal of Gastroenterology*, 11(32), 4931-4938.

129. Rostom, D.M., Attia, N., Khalifa, H.M., Abou Nazel, M.W., and El Sabaawy, E.A. (2020). The therapeutic potential of extracellular vesicles versus mesenchymal stem cells in liver damage. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 17(4), 537-552.

130. Song, I.J., Yang, Y.M., Inokuchi-Shimizu, S., Roh, Y.S., Yang, L., and Seki, E. (2018). The contribution of toll-like receptor signaling to the development of liver fibrosis and cancer in hepatocyte-specific TAK1-deleted mice. *International Journal of Cancer*, 142(1), 81-91.

131. Eşrefoğlu, M. (2016). *Özel histoloji* (2. Baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri.

132. Branton, M.H., and Kopp, J.B. (1999). TGF-β and fibrosis. *Microbes and Infection*, 1(15), 1349-1365.

133. Parfieniu, A., and Flisiak, R. (2008). Role of cannabinoids in chronic liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 14(40), 6109–6114.

134. Moreira, R.K. (2007). Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 131(11), 1728-1734.

135. Elsharkawy, A.M., Oakley, F., and Mann, D.A. (2005). The role and regulation of hepatic stellate cell apoptosis in reversal of liver fibrosis. *Apoptosis*, 10(5), 927-939.

136. Mulinacci, N., Prucher, D., Peruzzi, M., Romani, A., Pinelli, P., Giaccherini, C., and Vincieri, F.F. (2004). Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34(2), 349-357.

137. Leung, A.Y., and Foster, S. (1996). *Encyclopedia of common natural ingredients used in food: Drugs and* cosmetics (2nd Edition). New York: John Wiley & Sons,45-47.

138. Newall, C.A., Anderson, L.A., and Phillipson, J.D. (1996). *Herbal medicines: A guide for health-care professionals*. London, UK: The Pharmaceutical Press, 37-38.

139. Zhu, X., Zhang, H., and Lo, R. (2004). Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (Cynara scolymus L.) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(24), 7272-7278.

140. Kusku Kiraz, Z., Mehmetcik, G., Dogru Abbasoglu, S., and Uysal, M. (2010). Artichoke leaf extract reduces oxidative stress and lipoprotein dyshomeostasis in rats fed on high cholesterol diet. *Phytotherapy Research*, 24(4), 565–570.

141. Zapolska Downar, D., Zapolski Downar, A., Naruszewicz, M., Siennicka, A., Krasnodbska, B., and Kolodziej, B. (2002). Protective properties of artichoke (Cynara scolymus) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes. *Life Sciences*, 71(23), 2897–2908.

142. Muriel, P., Quintanar, M.E., and Perezalvarez, V. (1993). Effect of colchicine on acetaminophen-induced liver damage. *Liver*, 13, 217–221.

143. Favari, L., and Perezalvarez, V. (1997). Comparative effects of colchicine and silymarin on CCL4 chronic liver damage in rats. *Archives of Medical Research*, 28, 11-17.

144. Tiegs, G., Freudenberg, M.A., Galanos, C., and Wendel, A. (1992). Colchicine prevents tumor necrosis factor-induced toxicity in vivo. *Infection and Immunity*, 60, 1941-1945.

145. Comar, K.M., and Sterling, R.K. (2006). Reviewarticledrug therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 23, 207-215.

146. Bugianesi, E., Manzini, P., D'antico, S., Vanni, E., Longo, F., Leone, N., Massarenti, P., Piga, A., Marchesini, G., and Rizzetto, M. (2004). Relative contribution of iron burden, HFE mutations and insulin resistance to fibrosis in non-alcoholic fatty liver. *Hepatology*, 39, 179-187.

147. Chitturi, S., and Farrell, G.C. (2001). Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Seminars in Liver Disease*, 21, 27-41.

148. Cohen, B., Noick, D., and Rubinstein, M. (1996). Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 274, 1185-1188.

149. Lleo, A., Wang, G.Q., Gershwin, M.E., and Hirschfield, G.M. (2020). Primary biliary cholangitis. *The Lancet*, 396(10266), 1915-1926.

150. Georgiev, P., Jochum, W., Heinrich, S., Jang, J.H., Nocito, A., Dahm, F., and Clavien, P.A. (2008). Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. *Journal of British Surgery*, 95(5), 646-656.

151. Prado, I.B., Santos, M.H.H., Lopasso, F.P., Iriya, K., and Laudanna, A.A. (2003). Cholestasis in a murine experimental model: lesions include hepatocyte ischemic necrosis. *Revista do Hospital das Clinicas*, 58, 27-32.

152. Kumar, A., Abbas, A.K., and Aster, J.C. (2015). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease* (9th Edition). Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 853-861.

153. Yoshioka, K., Mori, A., Taniguchi, K., and Mutoh, K. (2005). Cell proliferation activity of proliferating bile duct after bile duct ligation in rats. *Veterinary Pathology*, 42(3), 382-385.

154. Ozsoy, Y., Ozsoy, M., Coskun, T., Namlı, K., Var, A., and Özyurt, B. (2011). The effects of L-arginine on liver damage in experimental acute cholestasis an immunohistochemical study. *HPB Surgery*, 306069.

155. Mizuoka, H., Shikata, N., Yang, J., Takasu, M., Inoue, K., and Tsubura, A. (1999). Biphasic effect of colchicine on acute liver injury induced by carbon tetrachloride or by dimethylnitrosamine in mice. *Journal of Hepatology*, 31(5), 825-833.

156. Jiang, Z., You, D.Y., Chen, X.C., and Wu, J. (1992). Monitoring of serum markers for fibrosis during CCl4-induced liver damage: Effects of anti-fibrotic agents. *Journal of Hepatology*, 16(3), 282-289.

157. Wardas, M., Drozdz, M., Wichary, M., and Radwańska-Wala, B. (1992). The fate of collagen during experimental liver lesion with carbon tetrachloride in the presence and absence of colchicine. *Experimental and Toxicologic Pathology: Official Journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, 44(1), 15-16.

158. Bolarin, D.M., Barker, K., and Fuller, G.C. (1987). Enzyme markers of collagen synthesis in carbon tetrachloride-induced fibrosis and during colchicine modification of CCl4-induced liver injury. *Experimental and Molecular Pathology*, 46(2), 145-152.

159. Rao, C.V., and Mehendale, H.M. (1991). Effect of colchicine on hepatobiliary function in CCl4 treated rats. *Biochemical Pharmacology*, 42(12), 2323-2332.

160. El-Sherif, N.M., and Issa, N.M. (2017). The possible anti-fibrotic effect of artichoke on the liver and heart of bile duct ligation rat model. *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, *2*(1), 555577.

161. Fuentes-Broto, L., Miana-Mena, F.J., Piedrafita, E., Berzosa, C., Martínez-Ballarín, E., García-Gil, F.A., Reiter, R.J., and Garcia, J.J. (2010). Melatonin protects against taurolithocholic- induced oxidative stress in rat liver. *Journal of Cellular Biochemistry*, 110(5), 1219–1225.

162. Damnjanović, Z., Jovanović, M., Nagorni, A., Radojković, M., Sokolović, D., Damnjanović, G., Dindic, B., Smiljkovic, I., Kamenov, A., and Damnjanovic, I. (2013). Correlation of inflammation parameters and biochemical markers of cholestasis with the intensity of lipid peroxidation in patients with choledocholithiasis. *Vojnosanitetski Pregled*, 70(2),170-176.

163. Zajic, S., Damnjanovic, Z., Stojanovic, M., Visnjic, M., Dencic, S., Ilic, D., and Skolovic, D. (2007). Biochemical markers in patients with extrahepatic cholestasis. *Acta Medica Medianae*, 47(1), 5–12.

164. Kim, H.G., Han, J.M., Lee, H.W., Lee, J.S., Son, S.W., Choi, M.K., Lee, D.S., Wang, J.H., and Son, C.G. (2013). CGX, a multiple herbal drug, improves cholestatic liver fibrosis in a bile duct ligation-induced rat model. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(2), 653-662.

165. Ramadan, A., Afifi, N. A., Yassin, N. Z., Abdel-Rahman, R. F., Hassan, A. H., and Hany, M. (2014). Hepatoprotective effect of artichoke extract against pre-cancerous lesion of experimentally induced hepatocellular carcinoma in rats. *Life Science Journal*, 11(4), 43-50.

166. Ghanem, K.Z., Ramadan, M.M., Farrag, A.R.H., Ghanem, H.Z., and Farouk, A. (2009). Egyptian artichoke volatile compounds protect against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59(2), 175-181.

167. Baldo, G., Kretzmann, N.A., Tieppo, J., Filho, G.P., Cruz, C.U., Meurer, L., da Silveira, R., dos Santos, J.L., Marroni, C.A., Marroni, N.P., Giugliani, R., and Matte, U. (2011). Bone marrow cells reduce collagen deposition in the rat model of common bile duct ligation. *Journal of Cell Science and Therapy*, 2(4), 112-118.

168. Nasehi, M., Tackallou, S.H., Hasani, I., and Nasehi, M. (2013). Cholestasis impaired spatial and non-spatial novelty detection in mice. *Journal of Paramedical Sciences*, 4(1), 92-98.

169. Padda, M.S., Singh, S., Tang, S.J., and Rockey, D.C. (2009). Liver test patterns in patients with acute calculouscholecystitis and/or choledocholithiasis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 29(9), 1011-1018.

170. Noble, H., Whitley, E., Norton, S., and Thompson, M. (2011). A study of preoperative factors associated with a poor outcome following laparoscopic bile duct exploration. *Surgical Endoscocpy*, 25(1), 130–139.

171. Alvaro, D., Benedetti, A., Marucci, L., DelleMonache, M., Monterubbianesi, R., and Di Cosimo, E. (2000). The function of alkaline phosphatase in the liver: regulation of intrahepatic biliary epithelium secretory activities in the rat. *Hepatology*, 32(2), 174-184.

172. Ben Salem, M., Ksouda, K., Dhouibi, R., Charfi, S., Turki, M., Hammami, S., Ayedi, F., Sahnoun, Z., Zeghal, K.M., and Affes, H. (2019). LC-MS/MS analysis and hepatoprotective activity of artichoke (Cynara Scolymus L.) leaves extract against high fat diet-induced obesity in rats. *BioMed Research International*, ID4851279.

173. Wallace, A.D., and Meyer, S.A. (2010). Hepatotoxicity. In: R.C. Smart, and E. Hodgson (Eds.), *Molecular and biochemical toxicology* (4th Edition). Hoboken: Wiley, 671–692.

174. Mir, A., Anjum, F., Riaz, N., Iqbal, H., Wahedi, H.M., Zaman, J., Khattak, K., Khan, M.A., and Malik, S. (2010). Carbon tetrachloride (CCl4)-induced hepatotoxicity in rats: curative role of Solanum nigrum. *Journal of Medicinal Plant Research*, 4(23), 2525-2532.

175. Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., and Pereira-Wilson, C. (2007). Drinking of salvia officinalis tea increases CCl 4-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical* Toxicology, 45(3), 456–464.

176. Venukumar, M.R., and Latha, M.S. (2004). Indian Effect of Coscinium fenestatum on hepatotoxicity in rats. *Journal of Experimental Biology*, 42, 792-797.

177. Fernández-Martínez, E., Pérez-Alvarez, V., Tsutsumi, V., Shibayama, M., and Muriel, P. (2006). Chronic bile duct obstruction induces changes in plasma and hepatic levels of cytokines and nitric oxide in the rat. *Experimental and Toxicologic Pathology,* 58(1), 49-58.

178. Soylu, A.R., Aydogdu, N., Basaran, U.N., Altaner, S., Tarcin, O., Gedik, N., Umit, H., Tezel, A., Dokmeci, G., Baloglu, H., Ture, M., Kutlu, K., and Kaymak, K. (2006). Antioxidants vitamin E and C attenuate hepatic fibrosis in biliary-obstructed rats. *World Journal of Gastroenterology*, 12(42), 6835-6841.

179. Reyes-Gordillo, K., Segovia, J., Shibayama, M., Tsutsumi, V., Vergara, P., Moreno, M.G., and Muriel, P. (2008). Curcumin prevents and reverses cirrhosis induced by bile duct obstruction or CCl4 in rats: role of TGF-beta modulation and oxidative stress. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(4), 417-427.

180. Cedillo, A., Mourelle, M., and Muriel, P. (1996). Effect of colchicine and trimethylcolchicinic acid on CCl4-induced cirrhosis in the rat. *Pharmacology and Toxicology,* 79(5), 241-246.

181. Abdul-Kafy, A.L., Sharaf, H.H., Abdul-Aziz, A.I., and Keshka, M.G. (2019). Effect of metformin, pioglitazone and rosuvastatin on induced non-alcoholic fatty liver in rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76(4), 4021-4028.

182. Fahmy, S.R., and Hamdi, S.A. (2011). Curative effect of the Egyptian marine Erugosquilla massavensis extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rat liver and erythrocytes. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(3), 303-312.

183. Elmosallamy, A., Abdel-Hamid, N., Srour, L., and Hussein, S.A.A. (2020). Identification of polyphenolic compounds and hepatoprotective activity of artichoke (Cynara scolymus L.) edible part extracts in rats. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(6), 2273-2285.

184. Emarha, R.T., Taha, N.M., Mandour, A.E.A., Lebda, M.A., and Rashed, M.A. (2021). Biochemical and molecular effects of colchicine and moringa olifera on thioacetamide induced liver fibrosis in rats. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 69(2), 7-15.

185. Surapaneni, K.M., and Jainu, M. (2014). Pioglitazone, quercetin and hydroxy citric acid effect on hepatic biomarkers in non-alcoholic steatohepatitis. *Pharmacognosy Research*, 6(2), 153.

186. Awang, D. (1993). Milk thistle. *Canadian Pharmacists Journal*, 23, 749–754.

187. Fahmy, S.R. (2015). Anti-fibrotic effect of Holothuria arenicola extract against bile duct ligation in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1-12.

188. Aycicek, A., and Ipek, A. (2008). Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in cord blood. *European Journal of Pediatrics*, 167(1), 81-85.

189. Akcilar, R., Akcilar, A., Savran, B., Ayada, C., Koçak, C., Koçak, F.E., and Genç, O. (2015). Effects of ukrain in rats with intestinal ischemia and reperfusion. *Journal of Surgical Research*, 195(1), 67-73.

190. Coban, S., Yildiz, F., Terzi, A., Al, B., Aksoy, N., Bitiren, M., and Celik, H. (2010). The effects of Nigella sativa on bile duct ligation induced-liver injury in rats. *Cell Biochemistry and Function*, 28(1), 83-88.

191. Zeren, S., Bayhan, Z., Koçak, C., Koçak, F.E., Metineren, M.H., Savran, B., and Cosgun, S. (2017). Antioxidant effect of Ukrain versus N-acetylcysteine against acute biliary pancreatitis in an experimental rat model. *Journal of Investigative Surgery*, 30(2), 116-124.

192. Jimene-Escrig A, Dragsted LO, Daneshvar B, et al (2003): In vitro antioxidant activities of edible artichoke (Cynara scolymus L.) and effect on biomarkers of antioxidant in rats. J Agric Food Chem, 51, 5540–5545.

193. Chen, I.S., Chen, Y.C., Chou, C.H., Chuang, R.F., Sheen, L.Y., and Chiu, C.H. (2011). Hepatoprotection of silymarin against thioacetamide-induced chronic liver fibrosis. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 92(7), 1441-1447.

194. Aral, C.A., Aral, K., Yay, A., Özçoban, Ö., Berdeli, A., and Saraymen, R. (2018). Effects of colchicine on gingival inflammation, apoptosis, and alveolar bone loss in experimental periodontitis. *Journal of Periodontology*, 89(5), 577-585.

195. Kara, A.B. (2015). Pioglitazone reduces oxidative stress in kidney against high sucrose diet-induced metabolic syndrome in rats. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 8(3), 165-171.

196. van Gijssel, H.E., Maassen, C., Mulder, G.J., and Meerman, J. (1997). p53 protein expression by hepatocarcinogens in the rat liver and its potential role in mitoinhibition of normal hepatocytes as a mechanism of hepatic tumour promotion. *Carcinogenesis*, 18(5), 1027-1033

197. Campo, G., Avenoso, A., Campo, S., Nastasi, G., Traina, P., D'ascola, A., Rugolo, C., and Calatroni, A. (2008). The antioxidant activity of chondroitin-4-sulphate, in carbon tetrachloride-induced acute hepatitis in mice, involves NF-κB and caspase activation. *British Journal of Pharmacology*, 155(6), 945-956.

198. Kuilman, T., Michaloglou, C., Vredeveld, L.C., Douma, S., van Doorn, R., Desmet, C. J., Aarden, L.A., Mooi, W.J., and Peeper, D.S. (2008). Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell*, 133(6), 1019-1031.

199. Kodama, T., Takehara, T., Hikita, H., Shimizu, S., Shigekawa, M., Tsunematsu, H., Li, W., Miyagi, T., Hosui, A., Tatsumi, T., Ishida, H., Kanto, T., Hiramatsu, N., Kubota, S., Takigawa, M., Tomimaru, Y., Tomokuni, A., Nagano, H., Doki, Y., Mori, M., and Hayashi, N. (2011). Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(8), 3343-3356.

200. Yang, H., Li, T. W., Ko, K.S., Xia, M., and Lu, S.C. (2009). Switch from Mnt-Max to Myc-Max induces p53 and cyclin D1 expression and apoptosis during cholestasis in mouse and human hepatocytes. *Hepatology*, 49(3), 860-870.

201. Castro, R.E., Amaral, J.D., Solá, S., Kren, B.T., Steer, C.J., and Rodrigues, C.M. (2007). Differential regulation of cyclin D1 and cell death by bile acids in primary rat hepatocytes. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 293(1), 327-334.

202. Pinzani, M. (2015). Pathophysiology of liver fibrosis. *Digestive Diseases*, *33*(4), 492-497.

203. Koek, G.H., Liedorp, P.R., and Bast, A. (2011). The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clinica Chimica Acta*, 412(15-16), 1297-1305.

204. Patel, V., and Sanyal, A.J. (2013). Drug-induced steatohepatitis. *Clinics in Liver Disease*, 17(4), 533-546.

205. Greim, H., Trülzsch, D., Roboz, J., Dressler, K., Czygan, P., Hutterer, F., Schaffner, F., and Popper, H. (1972). Mechanism of cholestasis: 5. Bile acids in normal rat livers and in those after bile duct ligation. *Gastroenterology*, 63(5), 837-845.

206. Chinnaiyan, A.M., O'Rourke, K., Yu, G.L., Lyons, R.H., Garg, M., Duan, D.R., Xing, L., Gentz, R., Ni, J., and Dixit, V.M. (1996). Signal transduction by DR3, a death domain-containing receptor related to TNFR-1 and CD95. *Science*, 274(5289), 990-992.

207. Graf, D., Kurz, A.K., Fischer, R., Reinehr, R., and Häussinger, D. (2002). Taurolithocholic acid-3 sulfate induces CD95 trafficking and apoptosis in a c-Jun N-terminal kinase–dependent manner. *Gastroenterology*, 122(5), 1411-1427.

208. Miyoshi, H., Rust, C., Roberts, P.J., Burgart, L.J., and Gores, G.J. (1999). Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas. *Gastroenterology*, 117(3), 669-677.

209. Canbay, A., Feldstein, A., Baskin-Bey, E., Bronk, S.F., and Gores, G.J. (2004). The caspase inhibitor IDN-6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308(3), 1191-1196.

210. Kahraman, A., Mott, J.L., Bronk, S.F., Werneburg, N.W., Barreyro, F.J., Guicciardi, M. E., Akazawa, Y., Braley, K., Craig, R.W., and Gores, G.J. (2009). Overexpression of Mcl-1 attenuates liver injury and fibrosis in the bile duct–ligated mouse. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(9), 1908-1917.

211. Guedes, P., Carvalho, C., Carbonel, A., Simões, M.J., Icimoto, M.Y., Aguiar, J., Kouyoumdjian, M., Gazarini, M.L., and Nagaoka, M.R. (2022). Chondroitin sulfate protects the liver in an experimental model of extra-hepatic cholestasis induced by common bile duct ligation. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(3), 654.

212. Jones, B., Roberts, P.J., Faubion, W.A., Kominami, E., and Gores, G.J. (1998). Cystatin A expression reduces bile salt-induced apoptosis in a rat hepatoma cell line. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 275(4), 723-730.

213. Feng, G., and Kaplowitz, N. (2000). Colchicine protects mice from the lethal effect of an agonistic anti-Fas antibody. *The Journal of Clinical Investigation*, 105(3), 329–339.

214. Jaeschke, H. (2011). Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury: Present concepts. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 26(1), 173-179.

215. Mahmood, Z., and Shukla, Y. (2010). Death receptors: targets for cancer therapy. *Experimental Cell Research*, 316(6), 887-899.

216. Circu, M.L., and Aw, T.Y. (2012). Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(10), 1767-1777.

217. Mahmoud, N.M. (2015). Ppar-γ dependent protective effect of pioglitazone against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *Al-AzharAssiut Medical Journal*, 13(2), 172-181.

218. Evarts, R.P., Nagy, P., Marsden, E., and Thorgeirsson, S.S. (1987). A precursor-product relationship exists between oval cells and hepatocytes in rat liver. *Carcinogenesis*, 8(11), 1737-1740.

219. Kuhlmann, W.D. (1978). Localization of alpha1-fetoprotein and DNA-synthesis in liver cell populations during experimental hepatocarcinogenesis in rats. *International Journal of Cancer*, 21(3), 368-380.

220. Sell, S., and Dunsford, H.A. (1989). Evidence for the stem cell origin of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *The American Journal of Pathology*, 134(6), 1347-1363.

221. Bernier, D., Thomassin, H., Allard, D., Guertin, M., Hamel, D., Blaquière, M., Beauchemin, M., LaRue, H., Estable-Puig, M., and Bélanger, L. (1993). Functional analysis of developmentally regulated chromatin-hypersensitive domains carrying the alpha 1-fetoprotein gene promoter and the albumin/alpha 1-fetoprotein intergenic enhancer. *Molecular and Cellular Biology*, 13(3), 1619-1633.

222. Nahon, J.L. (1987). The regulation of albumin and alpha-fetoprotein gene expression in mammals. *Biochimie*, 69(5), 445-459.

223. Hu, K.Q., Kyulo, N.L., Lim, N., Elhazin, B., Hillebrand, D.J., and Bock, T. (2004). Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma. *The American Journal of Gastroenterology*, 99(5), 860-865.

224. Bayati, N., Silverman, A.L., and Gordon, S.C. (1998). Serum alpha-fetoprotein levels and liver histology in patients with chronic hepatitis C. *The American Journal of Gastroenterology*, 93(12), 2452-2456.

225. Johnson, P.J. (1999). Role of alpha-fetoprotein in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 14, 32–36.

226. Tong, M.J., Blatt, L.M., and Kao, V.W. (2001). Surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis in the United States of America. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 16(5), 553-559.

227. Motalleb, G., Hanachi, P., Fauziah, O., and Asmah, R. (2008). Effect of Berberis vulgaris fruit extract on alpha-fetoprotein gene expression and chemical carcinogen metabolizing enzymes activities in hepatocarcinogenesis rats. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, 1, 33-44.

228. Amraje, F.F.M. (2020). *Deneysel nonalkolik steatohepatit modelinde kolsişininkaraciğer üzerine etkisinin incelenmesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 45-46.

229. Gupta, G., Krishna, G., Chellappan, D. K., Gubbiyappa, K. S., Candasamy, M., and Dua, K. (2014). Protective effect of pioglitazone, a PPARγ agonist against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 393(1-2), 223–228.

230. Demiroren, K., Dogan, Y., Kocamaz, H., Ozercan, I.H., Ilhan, S., Ustundag, B., and Bahcecioglu, I.H. (2014). Protective effects of L-carnitine, N-acetylcysteine and genistein in an experimental model of liver fibrosis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 38(1), 63-72.

231. Shimizu, I., Shimamoto, N., Saiki, K., Furujo, M., and Osawa, K. (2012). Lipid peroxidation in hepatic fibrosis. In: A. Catala (Ed.), *Lipid Peroxidation*. Croatia: TechPublisher, 483-492.

232. Fu, Y., Zheng, S., Lin, J., Ryerse, J., and Chen, A. (2008). Curcumin protects the rat liver from CCl4-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Molecular Pharmacology*, 73(2), 399-409.

233. El-Beshbishy, H.A., Tork, O.M., El-Bab, M.F., and Autifi, M.A. (2011). Antioxidant and antiapoptotic effects of green tea polyphenols against azathioprine-induced liver injury in rats. *Pathophysiology*, 18(2), 125-135.

234. Hernandez-Munoz, I., De la Torre, P., Sanchez-Alcazar, J. A., Garcia, I., Santiago, E., Munoz-Yague, M.T., and Solis-Herruzo, J.A. (1997). Tumor necrosis factor alpha inhibits collagen alpha 1 (I) gene expression in rat hepatic stellate cells through a G protein. *Gastroenterology*, 113(2), 625-640.

235. Capece, D., Fischietti, M., Verzella, D., Gaggiano, A., Cicciarelli, G., Tessitore, A., Zazzeroni, F., and Alesse, E. (2013). The inflammatory microenvironment in hepatocellular carcinoma: a pivotal role for tumor-associated macrophages. *BioMed Research International*, ID187204.

236. Afifi, N., Ramadan, A., Yassin, N. Z., Fayed, H. M., and Abdel-Rahman, R. F. (2015). Molecular mechanisms underlying hepatoprotective effect of artichoke extract: modulates tnf-induced activation of nuclear transcription factor (NF-KAPPA ß) and oxidative burst inhibition. *World Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4(1), 1546-1562.

237. Kotanidou, A., Xagorari, A., Bagli, E., Kitsanta, P., Fotsis, T., Papapetropoulos, A., and Roussos, C. (2002). Luteolin reduces lipopolysaccharide-induced lethal toxicity and expression of proinflammatory molecules in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165(6), 818-823.

238. Le, T.A., and Loomba, R. (2012). Management of non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis. *Journal of Clinical and experimental Hepatology*, 2(2), 156-173.

239. Tanaka, N., Kanatani, S., Tomer, R., Sahlgren, C., Kronqvist, P., Kaczynska, D., Louhivuori, L., Kis, L., Lindh, C., Mitura, P., Stepulak, A., Corvigno, S., Hartman, J., Micke, P., Mezheyeuski, A., Strell, C., Carlson, J.W., Moro, C.F., Dahlstrand, H., Östman, A., Matsumoto, K., Wiklund, P., Oya, M., Miyakawa, A., Deisseroth, K., and Uhlén, P. (2017). Whole-tissue biopsy phenotyping of three-dimensional tumours reveals patterns of cancer heterogeneity. *Nature Biomedical Engineering*, 1(10), 796-806.

240. Hägerling, R., Drees, D., Scherzinger, A., Dierkes, C., Martin-Almedina, S., Butz, S., Gordon, K., Schafers, M., Hinrichs, K., Ostergaard, P., Vestweber, D., Goerge, T., Mansour, S., Jiang, X., Mortimer, P.S., and Kiefer, F. (2017). VIPAR, a quantitative approach to 3D histopathology applied to lymphatic malformations. *Jci Insight*, 2(16), 93424.

241. Morales-Navarrete, H., Segovia-Miranda, F., Klukowski, P., Meyer, K., Nonaka, H., Marsico, G., and Kalaidzidis, Y. (2015). A versatile pipeline for the multi-scale digital reconstruction and quantitative analysis of 3D tissue architecture. *eLife*, 4, e11214.

242. Pfeiffer, M., Kenngott, H., Preukschas, A., Huber, M., Bettscheider, L., Müller-Stich, B., and Speidel, S. (2018). IMHOTEP: virtual reality framework for surgical applications. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 13(5), 741-748.

243. Kong, X., Nie, L., Zhang, H., Wang, Z., Ye, Q., Tang, L., Li, J., and Huang, W. (2016). Do three-dimensional visualization and three-dimensional printing improve hepatic segment anatomy teaching? A randomized controlled study. *Journal of Surgical Education*, 73(2), 264-269.

244. Marconi, S., Pugliese, L., Botti, M., Peri, A., Cavazzi, E., Latteri, S., Auricchio, F., and Pietrabissa, A. (2017). Value of 3D printing for the comprehension of surgical anatomy. *Surgical Endoscopy*, 31(10), 4102-4110.

245. Yang, T., Tan, T., Yang, J., Pan, J., Hu, C., Li, J., and Zou, Y. (2018). The impact of using three-dimensional printed liver models for patient education. *Journal of International Medical Research*, 46(4), 1570-1578.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 13.11.2019-E.143092

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Tuncay Veysel PEKER
Anatomi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Tuncay Veysel PEKER, Aisha IM ADAWİ, Suna ÖMEROĞLU, Mürşide Ayşe DEMİREL, Mustafa KAVUTÇU, Saadet Özen AKARCA DİZAKAR'dan oluşan G.Ü.ET-19.067 kod numaralı ve ***"Sıçanlarda Safra Yolu Ligasyonunun Karaciğerde Oluşturduğu Hasar ve Bu Hasarın*** *Cynara Scolymus L.* ***Yaprak Ekstraktı, Kolşisin ve Pioglitazon ile Önlenmesine Yönelik Yaklaşımlar: Üç Boyutlu Mikroskopik Bir Çalışma "*** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.067 and entitled *"'Cynara Scolymus L.* ***Leaf Extract, Colchicine and Pioglitazone as Approches to Prevent Hepatic Damage Caused By Bile Ligation in Rats:Three-Dimensional Microscopic Study"*** *is* in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Commitee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 35

Ek: 1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Bilgi için :Esengül BOŞNAK
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:03122022666

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 11/11/2019 **TOPLANTI SAYISI : 09**

ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

EK-2. Katılım Sertifikası

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Sayın AISHA I M ADAWI

14.01.2019 - 22.01.2019 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi HADYEK tarafından Ankara İlinde düzenlenen "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası" eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.

Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
HADYEK BAŞKANI

Prof. Dr. İbrahim USLAN
REKTÖR

hadmek Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ADAWI, Aisha I M

Uyruğu :

Doğum tarihi ve yeri :

Tel :

E.posta :

Eğitim Derecesi	**Eğitim Birimi**	**Mezuniyet Tarihi**
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Anatomi Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	AL-MargebÜniversitesi Tıp Fakültesi	2007
Lise	Sokina Bent ALhosin Lisesi	2000

İş Deneyimi, Yıl	**Çalıştığı Yer**	**Görev**
2008-2014	Trablus Merkez Hastanesi/ Genel Cerrahi Bölümü	Asistanlık
2008-2013	Libya Ulusal Organ Nakli Programı /Yoğun Bakım Ünitesi	Asistanlık

Yabancı Dil

Türkçe, İnglizce, Almanca

Yayınlar

Adawi, A. I. M. & Peker, T.V. (2022). Effect of Artichoke Extract on Hypercholesterolemic Status of Bile Duct Ligation Rat Model. *Academic Journal of Research and Scientific Publishing*/ Vol, 4(39).

Hobiler

Yüzme, Okuma

GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...