



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MONOSODYUM GLUTAMAT İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA
FERULİK ASİTİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ**

SEDA SEZER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap Arbak

İSTANBUL-2024



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MONOSODYUM GLUTAMAT İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARINDA
FERULİK ASİTİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ**

SEDA SEZER
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serap Arbak

İSTANBUL-2024

BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Monosodyum Glutamat ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Ferulik Asitin İyileştirici Etkisi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Serap Arbak’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

26/06//2024

Seda SEZER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgisini ve deneyimlerini cömertçe bizimle paylaşan ve bana yol gösteren sevgili danışmanım Prof. Dr. Serap ARBAK’a, yardımını hiçbir zaman esirmeyen Doç. Dr. Merve AÇIKEL ELMAS’a ve Dr. Öğr. Üyesi Deniz YÜCEL’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarını beraber yürütmüş olduğum sevgili yüksek lisans arkadaşım Anıl CAN’a ve bana destek olan doktora öğrencisi Gökçen ÖZGÜN’e teşekkürümü borç bilirim.

Ayrıca bugünlere gelmemde çok büyük emek ve destekleri bulunan babam Şevket SEZER’e ve annem Fazilet SEZER’e ve bu süreçte desteğini hiçbir zaman esirmeyen ablam Serap SEZER’e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi ABAPKO (Proje Kodu: TYL-2023-87) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
RESİMLER LİSTESİ.....	xiv
TABLolar LİSTESİ.....	xvi
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2 GENEL BİLGİLER	7
2.1 Karaciğer	7
2.1.1 Karaciğer anatomisi.....	8
2.1.2 Karaciğerin embriyolojisi.....	10
2.1.3 Karaciğer histolojisi	11
2.1.4 Karaciğerde lobül yapısı.....	12
2.1.5 Karaciğerin damar yapısı.....	16
2.1.6 Karaciğerin sinirlenmesi	17
2.1.7 Karaciğer hücreleri ve fonksiyonları.....	18
2.1.8 Karaciğer fizyolojisi	22
2.1.9 Karaciğer fonksiyonları.....	23
2.1.9.1 Karaciğerde karbonhidrat metabolizması.....	24
2.1.9.2 Karaciğerde yağ metabolizması.....	24
2.1.9.3 Karaciğerde protein metabolizması	25
2.1.10 Karaciğer rejenerasyonu	25
2.2 Gıda Katkı Maddeleri.....	26
2.2.1 Lezzet arttırıcılar	27
2.2.2 Umami tat bileşenleri.....	28
2.3 Monosodyum Glutamat (MSG)	29
2.3.1 Monosodyum glutamat ve tarihçesi.....	29
2.3.2 Monosodyum glutamatın yapısı, kimyasal ve fiziksel Özellikleri.....	30
2.3.3 Monosodyum glutamat ve obezite	33
2.3.4 Monosodyum glutamat ve oksidatif stres	34
2.4 Ferulik Asit	39
3 GEREÇ VE YÖNTEM	45

3.1 Gereç.....	45
3.1.1 Deney grupları.....	45
3.2 Yöntem	47
3.2.1 Işık mikroskopik düzeyde doku preparasyonu	47
3.2.3. Hematoksilen ve eozin (H&E) boyaması.....	49
3.2.4 Masson'un trikrom boyası	49
3.2.5 Periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu	50
3.2.6 eNOS immünfloresan boyaması.....	50
3.2.7 Biyokimyasal incelemeler	51
3.2.7.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal analizleri	51
3.2.7.1.1 Doku malondialdehit (MDA) seviyelerinin ölçülmesi.....	51
3.2.7.1.2 Doku glutatyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi.....	52
3.2.7.1.3 Doku süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü.....	52
3.2.7.1.4. Total antioksidan kapasite (TAS) ve total oksidan kapasite (TOS) seviyelerinin ölçülmesi	53
3.2.7.1.5 Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri	55
3.2.8.2 Serumda biyokimyasal analizler.....	56
3.2.8.2.1 Serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin ölçülmesi	56
3.2.8.2.2 Serum alkali fosfataz (ALP) aktivitesinin ölçülmesi.....	58
3.2.8.2.3 Serum total bilirubin (TBLB) seviyelerinin ölçülmesi.....	58
3.2.9 Geçirimli elektron mikroskopik düzeyde inceleme.....	59
3.2.10 İstatistiksel analiz	60
4 BULGULAR	61
4.1 Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıkları (g) ve Rölatif Karaciğer Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi.....	61
4.2 Morfolojik Bulgular	63
4.2 eNOS İmmünfloresan Boyaması Bulguları	82
4.5 Biyokimya Bulguları	85
4.5.1 Doku MDA ve GSH, SOD, TAS, TOS ve OSİ seviyeleri.....	85
4.5.2 Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri	90
4.5.3 Serum ALT, AST ve ALP seviyeleri	90
4.5.4 Serum total bilirubin konsantrasyon seviyeleri	93
4.6 Geçirimli Elektron Mikroskopik Düzeyde Bulgular.....	93
5 TARTIŞMA.....	110
6 SONUÇ	126
7 KAYNAKLAR.....	128
8 EKLER.....	138
EK1 Etik Kurul Onayı.....	138

9 ÖZGEÇMİŞ.....	140
------------------------	------------



KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

ABTS	Antioksidan aktivite tayini
ACU-DEHAM	Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi
AFB1	Aflatoksin B1
Akt	Serin/treonin protein kinaz
ALP	Alkali fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin Mono Fosfat
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BH4	Tetrahidrobiopterin
ALP	Alkali fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
CAT	Katalaz
CMC	Karboksimetil selüloz
CRS	Çin Restoranı Sendromu
DAPI	4'6- Diamidino-2-fenilidol
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
DTNB	2-nitrobenzoik asit
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Birliği
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ER	Endoplazmik retikulum
FA	Ferulik asit
FDA	ABD Gıda ve Tarım Örgütü
FI	Fibrinojen
FII	Protrombin
G6P	Glukoz-6-fosfat
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
GFAP	Glial fibriler asidik protein

GGT	γ glutamil transferaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
G	Gram
Grx	Glutaredoksinler
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
H&E	Hematoksilen-eozin
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂SO₄	Sülfürik asit
HCC	Hepatosellüler karsinom
HETAB	Hekzadesiltrimetil amonyum bromid
HFD	Yüksek yağlı diyet
HO	Hidroksit
HO-1	Oksijenaz-1
HOCl	Hipokloröz asit
HRP	<i>Horseradish</i> peroksidaz
HSC	Hepatik stellat hücreler
HVP	Hidrolize bitkisel proteinler
I.N.T.	2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazdiyum klorür
iGluR	İyonotropik glutamat reseptörleri
KC	Kupffer hücreleri
LDH	Laktat dehidrogenaz
LPA	Lizofosfatidik asit
LPO	Lipid peroksidasyonunu
LSEC	Karaciğer sinüzoidinin endotel hücreleri
MAPK	Mitojenle etkinleşen protein kinaz
MCD	Metiyonin-kolin eksikliği
MDA	Malondialdehit
MDH	Malat dehidrogenaz
MFS	Mononükleer fagositik sistem
mGluR	Metabotropik glutamat reseptörleri
MS	Metabolik sendrom

MSG	Monosodyum glutamat
MTX	Metotreksat
Na₂HPO₄	Disodyum fosfat
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAFLD	Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı
NASH	Alkole bağlı olmayan steatohepatit
NK	Doğal öldürücü hücreler
NO	Nitrik oksit
NO•	Nitrik oksit radikali
NOS	Nitrik oksit sentaz
NOX	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
NRF2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör
O₂	Oksijen
O₂⁻	Süperoksit
OH•	Hidroksil radikali
ONOO-	Peroksinitrit
OSI	Oksidatif stres indeksi
PAS	Periyodik Asit-Schiff
PBS	Fosfat tamponlu salin solüsyonu
PFA	Paraformaldehit
PH	Kısmi hepatektomi
PKA	Protein kinaz A
PPAR	Peroksizom Proliferatör ile Aktive Edilen Reseptör
Prx	Peroksiredoksinler
P2X7R	Pürinerjik reseptör
ROS	Reaktif oksijen türleri
SER	Düzgün yüzeyli endoplazmik retikulum
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikaller
TAS	Total antioksidan kapasite
TBA	Tiyobarbitürik asit

TBLB	Total bilirubin
TCA	Triklorasetik asit
TG	Trigliserid
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TOS	Total oksidan kapasite
Trx	Tioredoksinler
WHO	Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Karaciğerin subsegmental anatomisi (24).....	8
Şekil 2. Couinaud'nun fonksiyonel anatomiye dayalı segmental sınıflandırması ile karaciğerin sol ve sağ hepatik loblara fonksiyonel olarak bölünmesini gösteren karaciğerin ön ve arka yüzeyleri (117).....	10
Şekil 3. (a) Hepatik lobüller, (b) hepatositler ve sinüzoidler, (c) portal triad ve hepatik lobül (62).....	12
Şekil 4. Karaciğer asinüsünün organizasyonu (30).....	16
Şekil 5. Karaciğer lobülünün anatomisi (7).	22
Şekil 6. MSG'nin kimyasal (A) ve moleküler (B) yapısı (123).	31
Şekil 7. Karaciğer hücrelerinde ROS üretiminin ve NRF2 sinyal yolunun ana kaynakları (7).	37
Şekil 8. Hepatoselüler endotelyal nitrik oksit sentazın (eNOS) Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) gelişiminde oynayabileceği potansiyel rolün şematik gösterimi (25).....	39
Şekil 9. Ferulik asitin kimyasal yapısı (67).....	40
Şekil 10. Ferulik asit ve türevlerinin ilişkili olduğu hastalıklar (118).	41
Şekil 11. Ferulik asidin diğer faktörlerin aracılık ettiği karaciğer hasarında çok hedefli rolü (118).....	44
Şekil 12. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıklarının değişimi.	62
Şekil 13. Deney gruplarındaki sıçanların rölatif karaciğer ağırlıklarının değişimi....	62
Şekil 14. Karaciğer dokusunun histopatolojik skor grafiği.....	80
Şekil 15. PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.	81
Şekil 16. Deney gruplarına ait eNOS yoğunluğu grafiği.	84
Şekil 17. Deney gruplarına ait MDA seviyeleri.....	87
Şekil 18. Deney gruplarına ait GSH seviyeleri.	87
Şekil 19. Deney gruplarına ait SOD seviyeleri.	88
Şekil 20. Deney gruplarına ait TAS seviyeleri.....	88
Şekil 21. Deney gruplarına ait TOS seviyeleri.....	89
Şekil 22. Deney gruplarına ait oksidatif stres indeksi seviyeleri.	90
Şekil 23. Deney gruplarına ait ALT konsantrasyon seviyeleri.	91

Şekil 24. Deney gruplarına ait AST konsantrasyon seviyeleri.	92
Şekil 25. Deney gruplarına ait ALP konsantrasyon seviyeleri.	92
Şekil 26. Deney gruplarına ait total bilirubin seviyeleri.	93



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Diseksiyonu yapılan bir sıçan görüntüsü ve karaciğer dokusu.	47
Resim 2. Kontrol grubuna ait ışık mikrografı.	65
Resim 3. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrografı.	66
Resim 4. MSG grubuna ait ışık mikrografı.	67
Resim 5. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrografı.	68
Resim 6. MSG+FA grubuna ait ışık mikrografı.	69
Resim 7. Kontrol grubuna ait ışık mikrografı.	70
Resim 8. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrografı.	71
Resim 9. MSG grubuna ait ışık mikrografı.	72
Resim 10. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrografı.	73
Resim 11. MSG+FA grubuna ait ışık mikrografı.	74
Resim 12. Kontrol grubuna ait ışık mikrografı.	75
Resim 13. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrografı.	76
Resim 14. MSG grubuna ait ışık mikrografı.	77
Resim 15. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrografı.	78
Resim 16. MSG+FA grubuna ait ışık mikrografı.	79
Resim 17. Deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde eNOS immünfloresan ekspresyon yoğunluğunun karşılaştırılması.	83
Resim 18. Kontrol grubuna ait geçirimli elektron mikrografı	95
Resim 19. Kontrol grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	96
Resim 20. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	97
Resim 21. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	98
Resim 22. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	99
Resim 23. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	100
Resim 24. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	101
Resim 25. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	102
Resim 26. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	103
Resim 27. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	104
Resim 28. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	105
Resim 29. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.	106

Resim 30. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografi.	107
Resim 31. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografi.	108
Resim 32. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografi.	109



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deney hayvanları gavaj uygulaması.	46
Tablo 2. Karaciğer dokusuna uygulanan histolojik doku takip basamakları.	48
Tablo 3. Doku süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.	53
Tablo 4. Total antioksidan kapasitenin (TAS) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.	54
Tablo 5. Total oksidan kapasitenin (TOS) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.....	55
Tablo 6. Serum alanin aminotransferaz (ALT) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.	56
Tablo 7. Serum aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.	57
Tablo 8. Serum alkali fosfataz (ALP) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.	58
Tablo 9. Total bilirubin (TBLB) konsantrasyonu için örnek hazırlama tablosu.....	59

ÖZET

Monosodyum Glutamat ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Ferulik Asitin İyileştirici Etkisi

Bu çalışmada monosodyum glutamat (MSG) ile indüklenen deneysel karaciğer hasarında antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen ferulik asitin (FA) tedavi edici etkisi araştırılmıştır. Çalışmada Wistar albino erkek sıçanlardan oluşan 5 deney grubu oluşturuldu. Kontrol grubundaki sıçanlara 38 gün boyunca 1ml distile su, DMSO+FA grubundaki sıçanlara ise 28 gün boyunca 1ml DMSO ve deneyin son 10 gününde ise FA (25mg/kg) gavaj ile uygulandı. MSG grubundaki sıçanlara gavaj ile 28 gün boyunca 600 mg/kg MSG verildi. MSG+DMSO grubundaki sıçanlara ise, gavaj ile 28 gün boyunca 600mg/kg MSG ve deneyin son 10 günü 1 ml DMSO verildi. MSG+FA grubundaki sıçanlara 600 mg/kg MSG 28 gün boyunca gavaj yöntemi ile verilmiş olup, deneyin son 10 günü 25 mg/kg FA verildi. Deney sonunda alınan karaciğer doku örnekleri histokimya, immünhistokimya, geçirimli elektron mikroskopik ve biyokimyasal analizler (Malondialdehit, glutatyon, süperoksit dismutaz, toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan kapasite, oksidatif stres indeksi, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, alkali fosfataz ve total bilirubin) için hazırlandı. Doku örneklerine eNOS immünhistokimyası uygulandı. MSG ve MSG+DMSO grubunda hepatosit sitoplazmasında steatoz ve glikojen içeriğinde azalma, sinüzoidlerde dilatasyon, parankimada lökosit infiltrasyonu, bağ dokusu artışı ve eNOS ekspresyonunda azalma görüldü. MSG+FA grubunda normale yakın morfoloji ve eNOS ekspresyonu gözlemlendi. MSG ve MSG+DMSO gruplarında biyokimyasal parametrelerde kontrol grubuna kıyasla bozulmalar izlenirken, MSG+FA grubunda ise tüm bu değerlerde iyileşme izlendi. ALT, AST ve TBLB seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Bu çalışmada, karaciğer dokusunda MSG ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarında FA'in oksidatif hasarı engelleyerek iyileştirici etki oluşturduğu sonucuna ulaşıldı.

Anahtar Sözcükler: Monosodyum Glutamat, Oksidatif Stres, Karaciğer, Ferulik Asit, Mikroskopi

ABSTRACT

The Healing Effect Of Ferulic Acid In Monosodium Glutamate-Induced Liver Damage

In this study, the therapeutic effect of ferulic acid (FA), known to have antioxidant properties, on monosodium glutamate (MSG)-induced experimental liver injury was investigated. Five experimental groups consisting of Wistar albino male rats were formed. Control group was given orally 1ml distilled water for 38 days; DMSO+FA group: 1ml DMSO for 28 days, then FA (25mg/kg) administration orally on the last 10 days of the experiment; MSG group: 600 mg/kg MSG orally for 28 days; MSG+DMSO group: 600 mg/kg MSG by gavage for 28 days and 1 ml DMSO on the last 10 days of the experiment; MSG+FA group: 600 mg/kg MSG by gavage for 28 days, then 25 mg/kg FA on the last 10 days of the experiment. Liver tissue samples were processed for histochemistry, transmission electron microscopy. eNOS immunohistochemistry and biochemical analysis (malondialdehyde, glutathione, superoxide dismutase, total antioxidant capacity, total oxidant capacity, oxidative stress index levels, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and total bilirubin levels). In MSG and MSG+DMSO groups, steatosis and decreased glycogen content in the hepatocyte cytoplasm, dilatation in sinusoids, parenchymal increase in connective tissue, leukocyte infiltration and decreased level of eNOS expression were observed. All of these parameters were nearly normal with an adequate level of eNOS expression in MSG+FA group. Deteriorated biochemical parameters in MSG and MSG+DMSO groups were improved in MSG+FA group. No statistically significant difference was observed in ALT, AST and TBLB levels. It was concluded that FA has a healing effect by preventing oxidative damage in experimental liver damage induced by MSG.

Keywords: Monosodium Glutamate, Oxidative Stress, Liver, Ferulic Acid, Microscopy.

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Paketlenmiş ve konserve gıdalar gibi yeni ve yüksek teknolojiye gıdalarda son zamanlarda çok sayıda kimyasal madde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Gıda katkı maddelerinin çoğu ya koruyucu ya da lezzet arttırıcı olarak işlev görmektedir. Lezzet arttırıcılar ve aroma arttırıcılar gıdalarda kullanılan maddelerdir ve çoğunlukla gıdalara daha çekici bir tat veya koku katmak, orijinal aromayı korumak ve düzeltmek amacıyla kullanılır. En çok kullanıldığı ülkeler Çin, Tayland ve Japonya'dır. Bu maddeler, belirli lezzet özelliklerini geliştirir (123).

Son yıllarda lezzet artırıcı ve aroma verici olarak monosodyum glutamat (MSG) tüketiminin aşırı derece arttığı bilinmektedir. Bir gıda bileşeni olan monosodyum glutamat (MSG) 1908 yılında Japonya'da Kikunae Ikeda tarafından geliştirilmiştir. MSG, doğal olarak oluşan esansiyel olmayan amino asit ve glutamik asidin sodyum tuzudur. MSG, %78 oranında glutamik asit, %21 oranında sodyum ve %1 oranında su ve diğer maddeler içerir. Doğal olarak vücutta üretilen en yaygın amino asit olan glutamat, insan metabolizmasında önemli bir rol oynar ve çeşitli dokuların protein ve peptitlerinin temel bileşenlerinden biridir. Genel olarak gıdalarda bulunan doğal glutamik asit sorun yaratmamakla birlikte endüstriyel işleme sırasında üretilen sentetik glutamik asit toksik niteliktedir (15, 59).

Monosodyum glutamat (MSG), Çin Restoranı Sendromu (CRS) olarak bilinen semptomlardan sorumludur. Bu sendrom, hastaların bu kimyasal bileşik açısından zengin gıdaları yedikten sonra yaşadıkları bir grup rahatsızlığı ifade eder. Bu semptomlar arasında baş ağrısı ve yüz derisinde kızarıklık, ateş basması, boyunda sırt ve kollara yayılan uyuşma hissi, ellerde uyuşma, göğüste sıkışma ve hatta bayılma yer almaktadır. Semptomların şiddeti tüketilen MSG miktarına bağlıdır. Bu nedenle gıdalardaki var olan miktar semptomlara neden olmak için yeterli olmayabilir. Bu nedenle bazı uzmanlar bu hastalığın varlığını tartışmaktadır. Öte yandan Avrupa Gıda Güvenliği Birliği (EFSA), sağlıklı bireylerin veya stabil olmayan hastalığı olan astımlıların bir kısmının oral MSG'nin 3000 mg'dan büyük dozlarına karşı aşırı duyarlı olabileceğini ancak bu sendromun semptomlarını tetikleme mekanizmasının şu ana kadar belirsiz olduğunu belirtmektedir. Benzer şekilde, bazı çalışmalarda

ürtikeri olan bireylerde deri semptomlarının alevlendiği veya indüklendiği gözlemlenirken, diğer çalışmalarda bu tür ilişkiler doğrulanmamıştır (133).

Birçok paketlenmiş ve işlenmiş gıdalarda lezzet arttırıcı veya aroma verici olarak kullanılan MSG sağlık üzerinde ciddi toksik etki oluşturulabileceği öne sürülmüştür. Konu ile ilgili sınırlı sayıda ve birbirine zıt sonuçlar MSG'nin olası etkileri ve toksisitesi ile ilgili endişeyi arttırmıştır. Yapılan birçok çalışma MSG'nin hepatotoksik, nörotoksik ve üreme fonksiyon bozukluğu gibi çok sayıda yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açabileceğini ortaya çıkarmıştır. Bir kısım çalışmada ise MSG'nin herhangi bir toksik etkiye neden olmadığı öne sürülmüştür (88). Yaşlılarda, tat da dahil olmak üzere duyuların hassasiyetinde genel bir azalma vardır. Batı ülkelerindeki yaşlı insanlarda MSG'ye karşı tat eşiğini tanımlayan bu tür birkaç rapor bulunmakla birlikte Asya ülkelerindeki yaşlı insanlarda meydana gelen değişiklikleri değerlendiren çok az veri bulunmaktadır (123).

Günümüzde, birçok hastalığın etyopatogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Vücuttaki oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkar ve bu durumda oksidanlar lehine bir artış meydana gelir. Bu dengenin bozulmasıyla birlikte, biyolojik yapılar üzerinde serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarlar meydana gelir. Serbest radikaller; süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve nitrik oksit radikali ($NO^\cdot$). Bu radikaller, hücre membranından kolaylıkla geçerek hücrelere zarar verir. Böylece vücuttaki nükleik asitler, proteinler ve enzimler ile reaksiyona girerek membranda hasara neden olur. Yapılan literatür araştırmasında monosodyum glutamatın karaciğerde oluşturduğu toksisitenin hem morfolojik hem de biyokimyasal düzeyde patolojik değişimlere neden olduğu görülmüştür. Karaciğer dokusunda indüklenen oksidatif stresle birçok serbest radikal ($HO^\cdot$, H_2O_2 , O_2 , $HOCl$, NO , $ONOO^-$) ortaya çıkabilmektedir.

Daha güncel çalışmalarda MSG'nin diğer metabolik ve toksik etkileri incelenmiş olup, kronik dozlarda MSG uygulamasından sonra deney hayvanlarında oksidatif stresin indüklendiği belirtilmektedir. Laktat, gliserol, glutamat, glutamin ve diğer amino asitler gibi önemli glukoneojenik öncüllerin böbrek tarafından alımı, glukozun

yıkımını sağladığından, glukoneojenez sırasında böbrek tarafından kullanılan amino asitlerden biri olarak glutamik asit ortaya çıkmaktadır. Böbreğe gelen artan madde akışı çeşitli değişiklikler ve oksidatif stres ile ilişkilendirilmiştir (122). 1960'larda Çin restoranlarında yemek yedikten sonra bazı insanların yaşadığı semptomları tanımlamak için kullanılmıştır. Monosodyum glutamat zehirlenmesi, baş ağrısı, terleme, kızarma, kalp çarpıntısı, halsizlik, göğüs ağrısı ve bulantı ile karakterizedir. Diğer semptomlar ise yüzde gerginlik, yüz ve boyunda yanma, uyuşma ve karıncalanmadır (41, 123).

Güçlü bir antioksidan olarak bilinen ferulik asitin oluşan biyomoleküllerin zararlı etkisini önleyebileceği yapılan bilimsel çalışmalarda bildirilmektedir (70). Ancak ferulik asitin monosodyum glutamat kaynaklı olarak oluşan karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisini gösteren bir çalışmaya literatür verilerinde rastlamamaktayız.

Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit, FA) çeşitli meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan fenolik bir asit bileşiğidir. Antioksidan, hepatoprotektif, antidiyabetik, antitrombotik, antimikrobiyal, antialerjik, antiviral ve antitümör aktiviteleri dahil olmak üzere geniş spektrumlu farmakolojik özelliklere sahiptir (70). 1925 yılında FA kimyasal olarak sentezlenmiş ve spektroskopik teknikle yapısal olarak doğrulanmıştır. Tahıl kepeği, tam tahıllı gıdalar, turunçgiller, muz, kahve, portakal suyu, patlıcan, bambu filizleri, pancar, lahana, ıspanak ve brokoli gibi birçok yaşamsal gıda maddesi FA açısından zengindir. FA, DNA'yı oksidatif hasardan koruyan ve oksidatif stres baskılayarak lipid peroksidasyonunu önleyen güçlü bir antioksidan özelliğe sahiptir (38). Japonya'da FA'nın antioksidan ve gıda koruyucu özelliği ile katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilmiştir (43). FA'nın bir tuzu olan sodyum ferulat da Çin'de serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. FA'nın kanser hücre döngüsünü değiştirmek, apoptozu indüklemek ve protein üretimini düzenlemek de dahil olmak üzere birçok yolla kanser proliferasyonunu inhibe edebileceği düşünülmektedir (9).

Bu çalışmanın amacı, belli dozda deney hayvanlarına uygulanan monosodyum glutamatın karaciğer dokusuna olan etkisini ve bu etkiye karşı tedavi edici bir etken olarak antioksidan özellikteki ferulik asitin deney hayvanlarına uygulanmasından

sonra karaciğer dokusu üzerindeki olası etkilerini histokimyasal, immünhistokimyasal, ultrastrüktürel ve biyokimyasal yöntemler ile incelemektir.



2 GENEL BİLGİLER

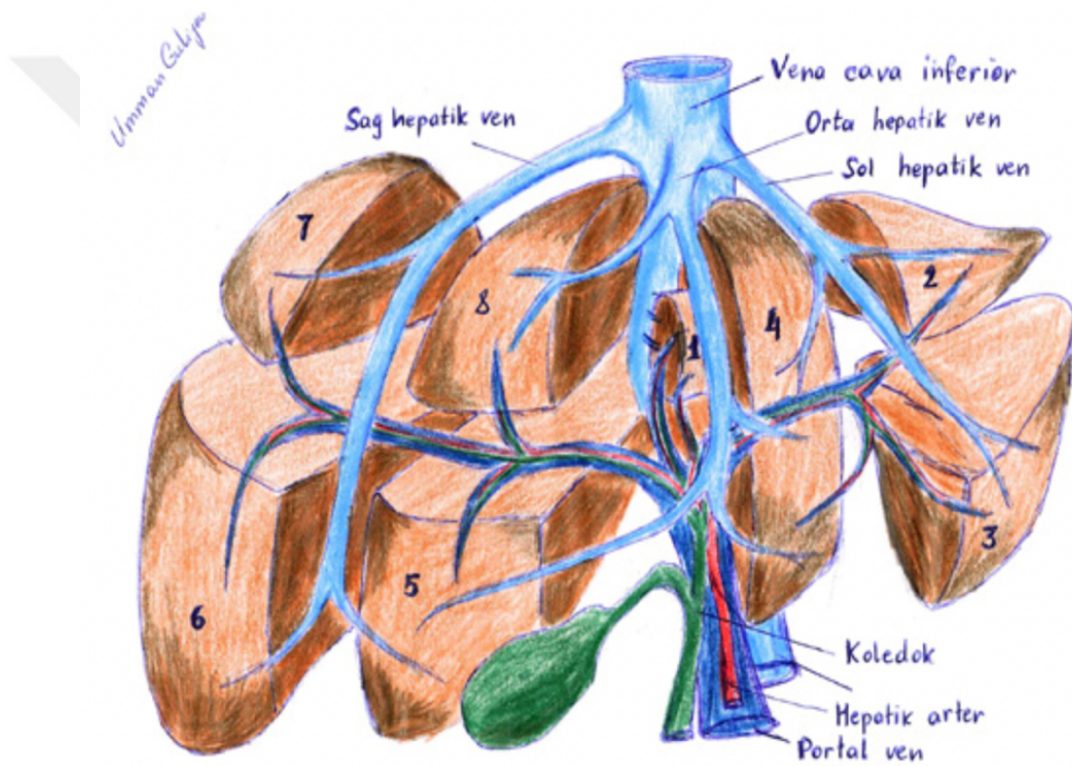
2.1 Karaciğer

Karaciğer, vücutta en geniş bez dokusu kütlesine sahip en büyük iç organdır. Ağırlığı yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluşturur ve yaklaşık 1,500 gramdır. Abdominal kavitenin sağ üst ve kısmen de sol üst kadranında yer alır ve göğüs kafesi tarafından korunmaktadır. Karaciğer, fibröz bağ dokusundan oluşan bir kapsül (Glisson kapsülü) ile sarılmıştır. Karaciğerin Glisson kapsülü, direkt olarak diyaframa ya da diğer organlara yapıştığı yerler dışında kalan kısmı seröz bir kılıf olan visseral periton ile çevrelenmiştir (105). Karaciğer çift kan akımı alan tek organdır. Portal ven karaciğer kan akımının yaklaşık %75'ini, hepatik arter ise yaklaşık %25'ini sağlamaktadır. Karaciğerin venöz drenajı hepatik venler tarafından gerçekleştirilmektedir. Karaciğerin morfolojik ve fonksiyonel anatomisi birbirinden farklılık göstermektedir (92).

Karaciğer, hayati öneme sahip fonksiyonları yerine getirerek vücudun sağlıklı işleyişini sağlayan ve vücuttaki kanın bileşimini düzenleyen önemli organdır (6). Karaciğer, sindirim sistemi ile venöz drenaj arasında bir köprü görevi üstlenir ve safra üreterek ekzokrin bir bez olarak işlev görür. Ayrıca, bazı maddeleri doğrudan kana vererek endokrin bir bez niteliği de taşır (137, 140). Karaciğerin etrafında Glisson kapsülü yer almakta olup, bu kapsül inferior tarafta, karaciğer portal veni ve hepatik arterden çift kan beslemesi alırken, hilum bölgesinde hepatik ven, lenfatikler ve safra kanalının çıktığı hilum bölgesinde kapsül kalınlaşır (62).

Karaciğer, bir dizi önemli fonksiyonu yerine getirirken, temel görevlerini şu şekilde sıralanabilir; sekresyon, ekskresyon, depo, fagositoz, detoksikasyon, konjugasyon, esterleştirme, metabolizma ve hemopoezdi. Bu görevleri, parankimasını oluşturan hepatositler aracılığıyla yerine getirir. Ayrıca, karaciğer parankiması son derece etkili bir rejenerasyon mekanizmasına sahiptir (32).

Karaciğerin sindirime temel katkısı, duodenumda yağların emülsiyon haline getirilmesi, hidrolizi ve emilimi için gerekli kompleks bir yapı olan safranin üretilmesidir. Ayrıca karaciğer, ince bağırsakta emilmiş olan besinlerin vücutta dağılmadan önce işlendiği organdır. Karaciğere giren kanın yaklaşık olarak %75'i; mideden, bağırsaklardan ve dalaktan kaynaklanan portal ven kaynaklı, besince zengin (ama O₂'ce fakir) kandır. Geri kalan kanın %25'i hepatik arter kaynaklı olup organlara O₂ sağlar (62).



Şekil 1. Karaciğerin subsegmental anatomisi (24).

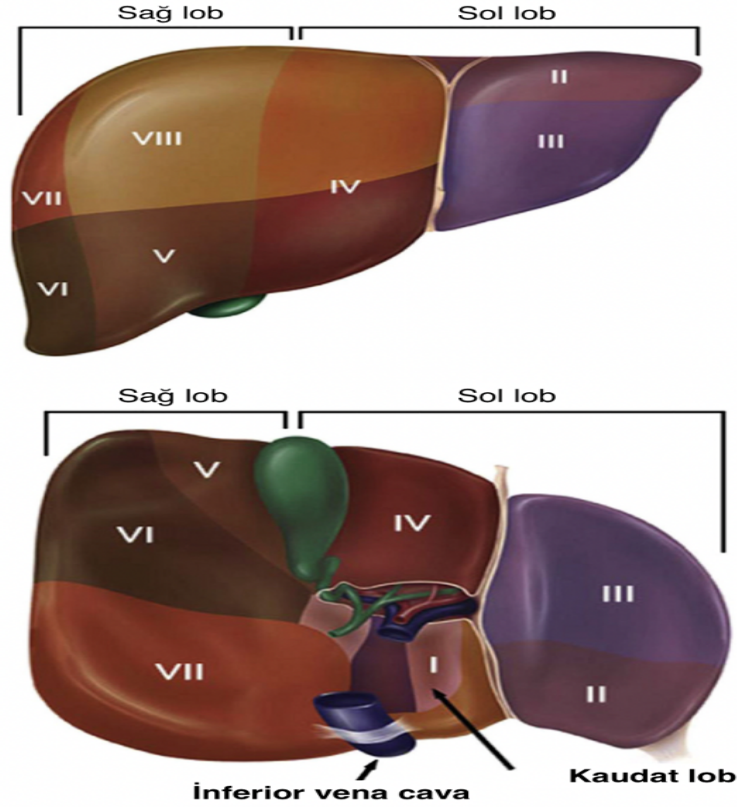
2.1.1 Karaciğer anatomisi

Karaciğer, derin oluklarla anatomik olarak iki büyük loba (sağ ve sol loblar) ve iki küçük loba (kuadrat ve kaudat loblar) ayrılır. Bu anatomik bölünme, karaciğer loblarının diğer abdominal organlarla ilişkisini sağladığı için sadece topografik önem

taşımaktadır. Kan desteği ve safra drenajına karşılık gelen fonksiyonel ya da cerrahi segmentler daha çok klinik önem taşımaktadır (105). Karaciğer, abdomen boşluğunun üst bölümünde sağ hipokondriak ve epigastrik bölgenin büyük bir bölümünü kapsar. Karaciğerin iki yüzü ve iki kenarı bulunmaktadır. Superiora bakan diyafragma ile komşu olduğu konveks yüz *fasia diyafragmatika*, inferior ve posteriora bakan iç organlarla komşu olduğu konkav yüz ise *fasia visseralis* olarak isimlendirilir (47, 72). Karaciğerin üst kısmında yer alan ve diyafram ile yakın temas halinde olan diafragmatik yüzde sağ ve sol lob görülebilirken, karaciğerin alt kısmında yer alan ve diğer yüzeylerini içeren visseral yüzde kaudal ve kuadrat yüzler de görülebilmektedir. Sol lob, sol hipokondriuma kadar uzanır. Sağ lobun en yüksek noktası dördüncü veya beşinci kostaya kadar yükselir. Bu nokta sağ medio-klavikular hat üzerinde, sağ meme başından 1 cm aşağıdadır. Ön yüzün küçük bir bölümü karın ön duvarı ile temastadır (62, 72).

Karaciğer, diafragmatik yüzündeki *areanuda* (çıplak alan) adı verilen alan dışında, dıştan seröz bir zar olan *tunica serosa* (periton) ile örtülüdür. Bu zara visseral periton adı verilir. Visseral periton, tek katlı yassı epitel olan mezotelyum ile altında bulunan ince bağ dokusundan oluşur. Visseral peritonun altında *tunica fibrosa* (Glisson kapsülü) denilen özel bir sıkı bağ dokusundan oluşan zar yer alır. Glisson kapsülü damarlar ile karaciğer içine girerek uzantılar gönderir. Gönderdiği uzantılar ile karaciğeri loblara, segmentlere ve lobüllere ayırır (47, 72).

Karaciğer *lobus hepaticus dexter* (sağ lob) ve *lobus hepaticus sinister* (sol lob) olmak üzere iki ana lobtan oluşur. Karaciğer loblarını *ligamentum falciforme hepatis* adı verilen bir bağ ayırır. Sağ lob büyük (tüm karaciğerin 5/6'sını oluşturur), sol lob ise küçüktür (1/6'sını oluşturur). Ayrıca sağ lobun *lobus caudatus* ve *lobus quadratus* olmak üzere iki lobu vardır. *Lobus caudatus* ve *lobus quadratus* anatomik olarak sağ lobun bir parçası olmakla birlikte fonksiyonel olarak sol lobun bir parçası olarak kabul edilir. Çünkü bu lobları *arteria hepatica sinistra* besler ve safra kanalları *ductus hepaticus sinister*'e açılır (47).



Şekil 2. Couinaud'nun fonksiyonel anatomiye dayalı segmental sınıflandırması ile karaciğerin sol ve sağ hepatik loblara fonksiyonel olarak bölünmesini gösteren karaciğerin ön ve arka yüzeyleri (117).

2.1.2 Karaciğerin embriyolojisi

Embriyoda karaciğer primordiumu, ön bağırsağın distal ucunda bir endodermal evajinasyon (çıkıntı) olarak 3. haftanın ortasında belirir. Hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu olarak bilinen bu çıkıntı, perikard boşluğu ve yolk sapı arasındaki mezodermal plağın hızlı polifere olabilen hücrelerden meydana gelir. Hepatik divertikül, hepatositleri oluşturmak için daha da proliferatif hale gelir ve bu hücreler karaciğer kordonları şeklinde düzenlenerek karaciğer parankiması şekillendirir. Karaciğer hücreleri septumun içine girmeye devam ederken, hepatik divertikülün orijinal sapı ortak safra kanalını (*duktus hepaticus communis*) meydana getirir. Ortak safra kanalından oluşan bir çıkıntı, sistik divertikülü oluşturur ve sistik divertikülden de safra kesesi ve sistik kanal (*duktus sistikus*) oluşur (105,109).

2.1.3 Karaciğer histolojisi

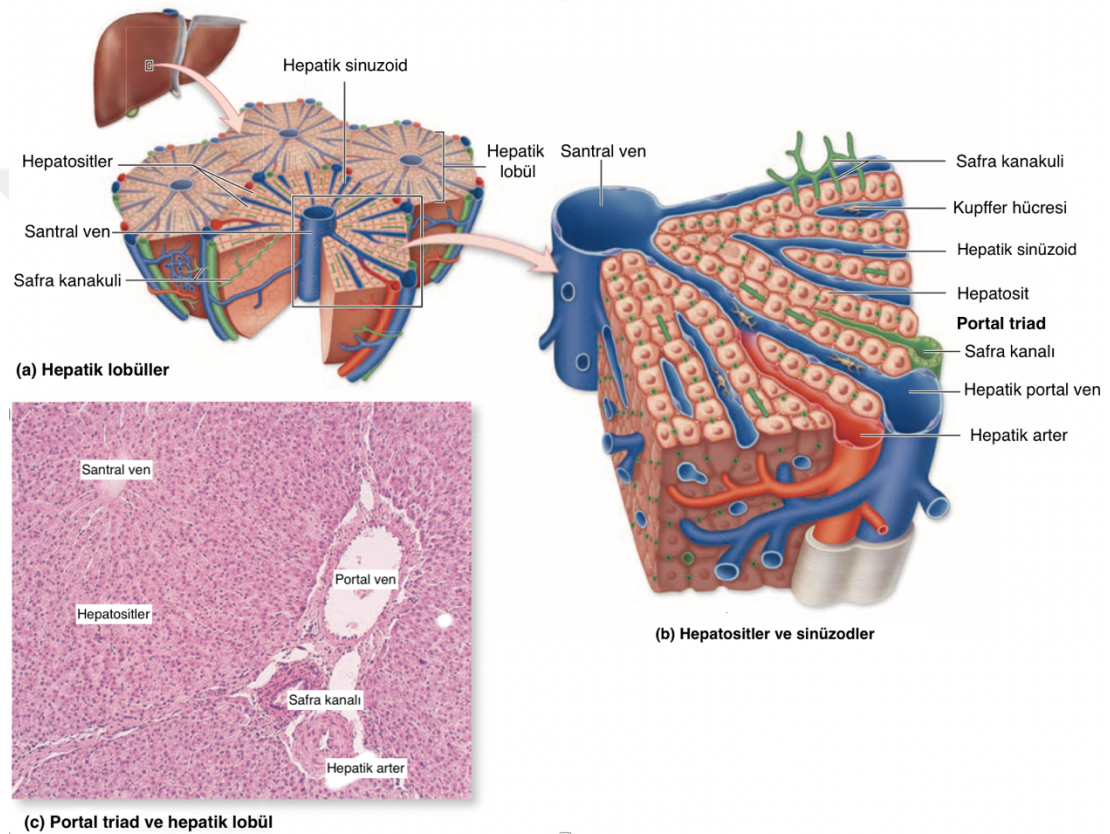
Yetişkin bireylerde karaciğerin büyük bir kısmı, hepatosit kordonlardan meydana gelmiş parankimadan ve parankimayı destekleyen “stroma” kısmından oluşur. Karaciğerin kalan diğer kısmı ise dıştan çevreleyen “tunika fibroza” veya “Glisson kapsülü” olarak isimlendirilen fibröz bağ dokusu özelliği gösteren bir kapsülle çevrelenmiştir. Bu kapsül, karaciğeri dış etkilere karşı koruma ve destekleme görevine sahiptir (105).

Karaciğer dokusu, ince bağ dokusu uzantıları ile bölünmüştür ve bu uzantılar ile karaciğeri küçük lobüllere ayırır. Karaciğer lobülleri karaciğerin yapısal ve fonksiyonel birimleri olarak kabul edilirler. Karaciğerdeki fibröz kapsül, poligonal şekilli lobüller oluşturur ve bu lobüller arasında üçgen şeklindeki aralıklar bulunur. Bu aralıklar Glisson üçgeni, Kiernan aralığı, *septum interlobulare* veya portal alan adını alırlar. Bu bölgede bağ dokusu, hepatik arterin ve portal venin birer dalını, safra kanalını ve lenf damarları ile sinir yapılarını içermekte olup, bölge “Portal triad” olarak adlandırılır (66).

Hepatosit kordonlarının arasında seyreden düzensiz lümenli kan kapillerleri karaciğer sinüzoidleri olarak adlandırılmaktadır. Karaciğer sinüzoidleri lobül üzerinde anastomoz yaparak santral vene dökülürler. Endotel hücreleri ve Kupffer hücreleri sinüzoidlerin duvarında yer alır. Sinüzoid endoteli ile hepatositler arasında yer alan alana “Disse aralığı” adı verilir. Karaciğer lobüllerinde bulunan perisinüzoidal alanda kan ile hepatositler arasında madde alışverişi yapılır.

Hepatositlerin birbirine komşu yüzeylerinde yer alan intersellüler alanda safra kanalikülleri yer alır. Hepatositlerde sentezlenen safra, birbirine komşu hepatositlerin karşı yüzeylerinde yerleşik olan safra kanaliküllerine salınmaktadır. Safra, kan akışının tersine bir yönde akmaktadır. Safra, safra kanaliküllerinden intralobüler (lobül içi) safra kanalcıklarına ya da kolanjiyollere akar. Daha sonra safra kanalikülleri lobülün periferinde yer alan tek katlı kübik epitel ile döşeli ve hepatik lobülün dışında yer alan Herring kanalları ile devam eder. Herring kanal safrayı, portal alanın 3 elemanından biri olan safra kanalcıklarına taşır. Safra kanalcıkları intrahepatik

(karaciğer içi) safra kanallarında birleşirler (4). Safra kanalikülleri ise karaciğer lobülleri kordonları boyunca birbirleriyle anastomoz yaparak karmaşık bir ağ oluşturur ve portal alanlarda sonlanırlar. Böylece safra, bu kanaliküller boyunca taşınır ve lobüller boyunca devam eden safra kanalları veya Herring kanalı olarak adlandırılan yapılar aracılığıyla perifere doğru taşınır (53, 105, 143).



Şekil 3. (a) Hepatik lobüller, (b) hepatositler ve sinüzoidler, (c) portal triad ve hepatik lobül (62).

2.1.4 Karaciğerde lobül yapısı

Karaciğerin fonksiyonel ünitesi, karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimlerdir. Karaciğer parankimi hekzagonal veya poligonal şekilli lobüllerden oluşur. Bu yapısal birimlerin temel yapısal elemanı hepatositlerdir. Bu lobüller 50.000-

100.000 adet bulunan, silindirik yapıda ve birkaç mikrometre (μm) uzunluğunda 0,7-2 μm çapında olan poligonal doku kitleleridir. Her lobülün ortasında santral ven (*vena centralis*) bulunur. Lobüllerin etrafını da Glisson kapsülünün devamı olan ince bir bağ dokusu sarar. Örneğin domuz gibi bazı hayvanlarda karaciğer yapısında bir bağ dokusu tabakası lobülleri birbirinden ayırırken insanlarda bu şekilde değildir.

Karaciğeri dıştan peritonun visseral yaprağı sarar (diyaframa temas ettiği alan hariç). Peritonun bu yaprağı bağ dokusu yapısındadır ve Glisson kapsülü adını alır. Damarlar ve sinirler etrafında hilustan karaciğere giren ve Glisson kapsülünün devamı olan ince bir bağ dokusu karaciğeri lobül denen birimlere ayırır. Glisson kapsülü terimi lobüller arasındaki bu bağ dokusunu da kapsar. Karaciğere giren-çıkan damar, sinir ve safra kanalları bu bağ dokusu içinde seyreder. Bu bağ dokusu parankimal hücrelere (hepatositler) destek olur ve sinüzoidlerin tutunmasını sağlar. Komşu lobüllerin lobülün birleştiği köşelerde diğer parankimal bölgelere kıyasla daha geniş bir bağ dokusu bulunur. Bu alana portal alan (Glisson üçgeni veya Kiernan aralığı) adı verilir. Portal alanlarda bir arteriyol (*a. hepatica*), bir venül (*v. porta'nın dalı*) ve bir safra kanalı bulunur. Bunların üçüne birden portal triad adı verilir.

Karaciğer lobülleri vena centralis ile bunun etrafındaki karaciğer sinüzoidleri (sinüzoidal tip kılcal damarlar) ve hepatik hücre plaklarından (hepatosit dizileri) oluşur. Kan, sinüzoidlerden lobülün merkezine doğru, hepatosit dizileri arasından geçerek akar. Karaciğer sinüzoidleri; kılcal damar endotel hücreleri ve bunlar arasında yer alan Kupffer hücreleri ile döşelidir. Endotel hücrelerinin arasında fenestra adı verilen açıklıklar yer alır. Bu sebeple sinüzoidlerde bulunan kan ile hepatositler sürekli temas halindedir. Sinüzoid duvarında makrofaj yapısında bulunan Kupffer hücreleri bulunur. Kupffer hücreleri sinüzoidlerden geçen kandaki bakteri ve yabancı maddeleri fagosite eder. Hepatik arter ve vena porta ile gelen kan sinüzoidlere ve oradan santral vene dökülür. Santral venler hepatik venlere (*v. hepaticus*), onlar da vena cava inferiora boşalır. Sinüzoidler arasındaki dokuyu karaciğer hücreleri olan hepatositler doldurur. Hepatositler genellikle iki sıra halinde, lobülün merkezinden dışa doğru ışınsal olarak dizilir. Bu diziler hepatik hücre plakları (Remark kordonları) olarak adlandırılır. Bu hücreler arasında safra kanalikülleri bulunur. Safra kanalikülleri de safra kanallarına dökülür. Sinüzoidlerde kan akışı portal alandan santral vene doğru

olup, periferden merkeze doğru bir akım bulunmaktadır. Safranın akış yönü ise, lobülün merkezinden perifere, yani portal alana doğrudur (62, 132).

Karaciğer parankimasının organizasyonu ile ilgili olarak kabul edilen üç histofizyolojik karaciğer lobül modeli vardır. Karaciğerin yapısı fonksiyonel birim bakımından klasik karaciğer lobülü, portal lobül ve karaciğer asinüsü olarak tanımlanmaktadır.

1. Klasik Karaciğer Lobülü: Ortalama 0,2x2 mm boyutlarında olup en küçük yapısal ve işlevsel biçimleri oluşturan lobül yapısıdır. Santral venin merkezde yer aldığı bu lobül yapısı altıgen şekilli olup, köşelerinde portal alanlar yer almaktadır. Lobüllerin sayısı yaklaşık 1 milyondur. Hepatositler merkezden perifere doğru hücre kordonları şeklinde ışınsal olarak uzanırlar. Kordonlar arası bölgede sinüzoidler yer alır. Kan akış yönü portal alanlardan yani periferden merkeze, santral vene (*vena centralis*) doğrudur.

2. Portal lobül: Hepatositlerde üretilen safranın akışı dikkate alınarak geliştirilen model olarak bilinir. İnterlobüler aralık veya *vena porta*'nın dallarını taşıyan 'periportal alan' merkez olmak üzere, komşu lobüllerin santral venlerini birleştiren köşeli ve çoğunlukla üçgen şekilli prizmalardan oluşur (31). Portal lobül, 3 klasik karaciğer lobülünün santral venlerinin birleştirilmesiyle oluşan üçgenden meydana gelir. Bu lobül ekzokrin bez yapısına daha uygundur. Bu lobulasyonda safra salgısı, merkezde yer alan portal kanaldaki safra kanalı içine doğrudur. Kan da merkezden perifere doğru akar (50).

3. Portal Asinüs: İki ya da daha fazla klasik lobülün portal alanları ve santral venlerinin birleştirilmesiyle elde edilen baklava dilimi şekilli alandır. Portal asinüsün yapısı, dejenerasyon, rejenerasyon, perfüzyon ve bazı maddelerin toksik etkilerini açıklayabilmek açısından önemlidir. Her bir portal alandan kan ile sinüzoidler boyunca farklı aralıklardaki kanın farklı besin ve oksijen içeriklerini vurgular (4, 19,105).

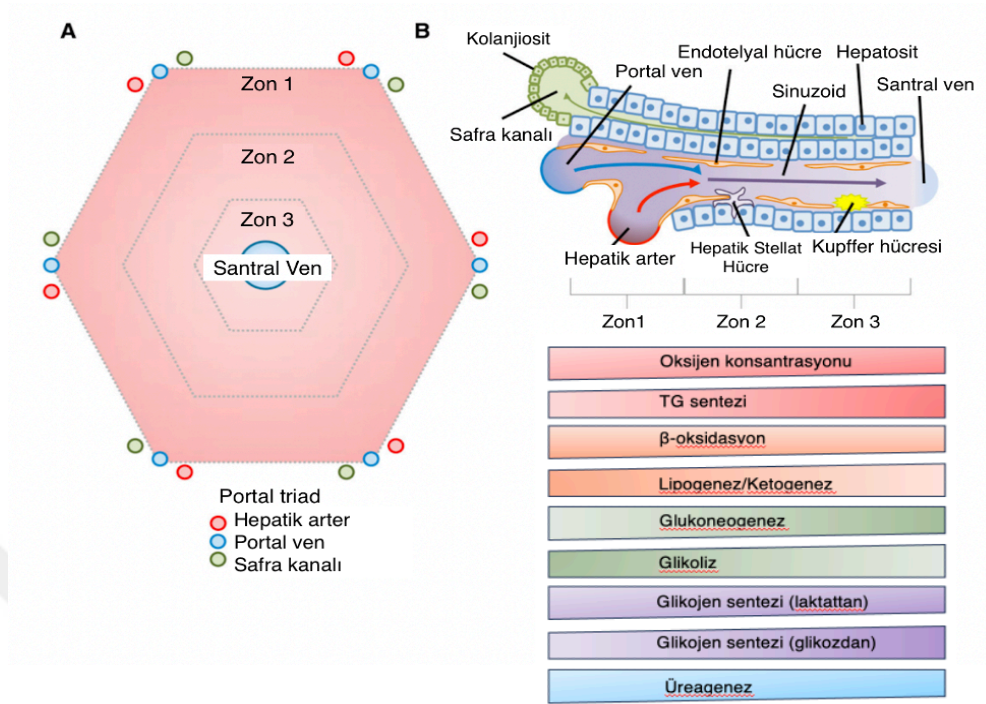
Periferik zon (zon I), kısa eksene ve portal venin ve hepatik arterin penetre edici dallarından gelen kan desteğine en yakın olan bölgedir. Bu bölge klasik lobüllerin periferine karşılık gelir. Bu zonda kan damarları lobülün periferinden merkezine doğru

ilerler, bu da periferik zonu oksijen ve besin maddeleri bakımından zengin bir kan kaynağına bağlar. Buradaki hepatositlerin metabolik açıdan çok aktif olmasına neden olur. Karaciğerin ana hücre tipi olan hepatositler yüksek metabolik aktiviteye sahip hücrelerdir ve glikojen ve lipid depolamak gibi birçok önemli fonksiyonu vardır. Glikojenin aha az olarak da iç zonlarda biriktiği bilinmektedir. Açlık durumunda glikojenin yeniden kana verilmesi söz konusu olduğunda ilk önce merkeze yakın konumdaki hücreler glikojeni boşaltmaktadır. Bu zonda glikojen tükenene kadar diğer zonlardaki hücrelerden glikojen desteği gerçekleşmez (64,105).

Ara zon (zon II), 1. ve 3. zonlar arasında yer almaktadır. Bu zon özellikle karaciğerin dejenerasyonunda, rejenerasyonunda ve toksik etkilere karşı önemli bir görev alır. (84, 105).

Santral zon (zon III), kısa eksenden en uzak ve terminal hepatik vene (santral ven) en yakın olan zondur. Bu zon, klasik lobülün terminal hepatik veni çevreleyen merkezi kısmına karşılık gelmektedir. Bu zonda santral ven çevresindeki dar bir bölgeyi oluşturan dinlenme evresindeki hücreler yer alır. Karaciğerde patolojik ve fizyolojik yağ birikimi santral zondaki hücrelerde başlar. Bazı durumlarda ise yağ depolanması periferik zonda daha fazla olur. Bu zon, oksijen ve besin içeriği en düşük olan kanı almaktadır (64, 105).

Bu zonlanma, karaciğer hücrelerinin vasküler perfüzyonunun derecesi ya da kalitesiyle ilişkili olarak karaciğer parankimasında dejenerasyon, rejenerasyon ve spesifik toksik etkilerin tanımlanmasında ve yorumlanmasında önemlidir. Sinüzoidal kan akışı oksijen konsantrasyonunu ve dolayısıyla hepatositlerin metabolik aktivitesini etkiler. Bu nedenle, oksijen ve besin maddeleri bakımından zengin kanın daha çok olduğu periferik zon (zon I), metabolik olarak en aktif zon olarak kabul edilir. Bununla birlikte, merkezi zon (zon III), daha az oksijen ve besin maddeleri alır, bu nedenle metabolik aktivitesi daha düşüktür.



Şekil 4. Karaciğer asinüsünün organizasyonu (30).

2.1.5 Karaciğerin damar yapısı

Karaciğere bir dakikada gelen kan miktarı 1500 mililitredir ve bu kan iki yolla gelir:

1. Portal ven: Karaciğer kan akımının %75-80'i portal ven (*vena porta hepatis*) yoluyla sağlanır. Portal ven splanknik alan denilen karın içi organların venöz kanını karaciğere getirir. *Truncus coeliacus*, *arteria mesenterica superior* ve *arteria mesenterica inferior*'un beslediği organların venöz kanını toplar. Portal ven karaciğere dalak, pankreas ve sindirim kanalından gelen kanı taşır.

2. Hepatik arter: Karaciğer kan akımının %20-25'i hepatic arter (*arteria hepatica propria*) aracılığı ile gelir. Bu arter *truncus coeliacus*'un bir dalı olan *arteria hepatica communis*'ten ayrılır. Hepatik arter oksijen bakımından zengin olan aort kanını (arteryel kanı) karaciğere getirir.

Portal ve hepatik venöz damarlarda ven kapakçıkları yoktur. Hepatik arter ve portal venden gelen kan, sinüzoidlerde birbirine karışır. Sinüzoid içerisindeki kan, lobül merkezindeki venüllerde toplanır. Her lobülün merkezinde bulunan bu venüller birleşerek sublobüler venleri oluştururken sinüzoidlerden merkezi venüle akan kan da toplayıcı venlerin ve hepatik venüllerin yolunu izleyerek *inferior vena cava*'ya geri döner. Hepatositler ile sinüzoidleri döşeyen endotel hücrelerinin arasında oluşan Disse aralığı, lenf sıvısının oluşmaya başladığı alandır. Sinüzoid ve hepatositlerin bazolateral bölgeleri arasında bulunan bu aralık hepatositler ve kan arasında alışverişe imkân sağlar.

2.1.6 Karaciğerin sinirlenmesi

Karaciğer hem sempatik hem de parasempatik sinirlerle uyarılır. Bu sinir ağları, *porta hepatis* bölgesinden portal alanlar yoluyla karaciğer içinde ilerler. Sempatik lifler, kan damarlarını inerve eder ve vazokonstriksiyon veya vazodilatasyon gibi kan damarı çapının değişmesine neden olabilirler. Bu, kan akışını ve dolayısıyla karaciğerin fonksiyonlarını etkileyebilir. Parasempatik lifler ise, büyük safra kanallarının duvarını inerve ederler. Bu kanallar, safra üretimini ve salınımını düzenler. Parasempatik sinirler, safra kesesinden salınan safra miktarını da kontrol edebilirler (72, 73).

Biliyer ağaç, karaciğerden duodenuma safra oluşumu ve taşınmasından sorumlu olan çok sayıda kanaldan oluşur ve tipik olarak portal venöz sistemi takip eder. Sağ ve sol hepatik safra kanalları karaciğerden çıkarlar ve birleşerek hepatik kanalı oluştururlar. Sağ kanal, tipik olarak bazı dallanma değişiklikleriyle birlikte kısa bir ekstrahepatik seyre sahiptir. Cerrahi açıdan karaciğer hilumunun değişken anatomisi çok önemlidir. Sol hepatik kanal sol karaciğeri drene eder ve daha uzun bir ekstrahepatik seyirle sol portal vene paralel olduğu için daha az değişken bir seyre sahiptir. Sol ve sağ hepatik kanallar hiler plakanın yakınında birleşerek ortak hepatik kanalı oluşturur. Ortak hepatik kanal kaudal olarak seyrederken, ortak safra kanalını oluşturmak üzere sistik kanal ile birleşir. Ortak safra kanalı hepatoduodenal ligamentin lateralinde pankreas başına doğru ilerleyerek Vater ampullası yoluyla duodenuma drene olur (45, 72, 117).

2.1.7 Karaciğer hücreleri ve fonksiyonları

Karaciğeri hepatosit adı verilen karaciğer hücreleri (parankimal hücreler) oluşturur. Bunun dışında parankimal olmayan hücreler olan Kupffer hücreleri, İto hücreleri (yıldız hücreleri), sinüzoid duvarında yer alan endotel hücreleri, Pit hücreleri, fibroblastlar, hepatik dendritik hücreleri ve kolanjiyositler (parankimal hücreler) gibi birçok hücre tipi mevcuttur (129).

Karaciğer parankiması çoğunlukla hepatositlerden oluşur ve bunlar toplam karaciğer hücrelerinin %80'ini oluşturur. Hepatositler; büyük, yuvarlak, merkezi çekirdekleri ve mitokondriyonlardan zengin eozinofilik sitoplazmaları ile büyük boyutta kübik ya da polihedral epitelyal hücrelerdir. Hücreler, genellikle iki çekirdekli ve yaklaşık %50'si normal kromozom sayısının 2-8 katı poliploidi gösterirler. Hepatositler 6 ya da daha fazla yüzeyli ve her düzlemde 20-30 µm çapındaki hücrelerdir. Bu hücreler, sindirim sistemi ile ilişkili hücreler arasında uzun ömürlü hücreler olup, ortalama yaşam süreleri 5 aydır. Hepatositler, karaciğer hastalıkları, cerrahi operasyon ya da hepatotoksik süreçler nedeniyle karaciğerin hasara uğradığı durumlarda, yüksek düzeyde rejenerasyon yeteneğine sahiptirler. Hepatosit sitoplazması genellikle eozinofiliktir. Rutin ve özel boyama teknikleriyle hepatosit sitoplazmasında mitokondriyon, granüllü endoplazmik retikulum (GER), düzgün yüzeyli endoplazmik retikulum (SER), serbest ribozomlar, Golgi kompleksleri, lizozomlar ve çok sayıda peroksizom gibi organeller tanımlanabilir (111).

Karaciğer parankiması küçük bir merkezi venin etrafında, yüzlerce hepatositin düzensiz tabakalar halinde ışınal sıralanmasıyla oluşan binlerce küçük (0.7 X 2 mm) hepatik lobüller halinde organize olur. Hepatosit plakaları retiküler liflerden oluşan ince bir stroma ile desteklenir. Her lobül 3-6 adet portal alan içerir, portal alanda besinden zengin, O₂ 'den fakir kan içeren ve portal venden dallanan bir venül, O₂ sağlayan ve hepatik arterden dallanan bir arteriyol, safra kanalından dallanan bir ya da iki küçük kübik epitel ile döşeli safra kanalcığı yer alır.

Portal venden gelen besin açısından zengin kan ve hepatik arterden gelen oksijenli kan, hepatik sinüzoidler olarak bilinen oldukça özelleşmiş kapillerler aracılığıyla hepatositlere yönlendirilir. Karaciğer lobüllerinde hepatositler, karaciğer sinüzoidleri ile ayrılan merkezi ven etrafında plakalar halinde düzenlenmiştir. Plazmadan emilimi artırmak için hepatositlerin apikal membranından, hepatositler ve sinüzoidal endotel arasında ince bir perisinüzoidal bölge olan Disse aralığına mikrovilluslar uzanır. Böylece, emilim ve salgıyı sağlamak için hücrelerin kanla temas ettiği yüzey alanı yaklaşık altı kat artırılır. Buna ek olarak hepatositler ve plazma arasındaki bu doğrudan temas; besinlerin, proteinlerin ve potansiyel toksinlerin tutulumunu ve salımını kolaylaştırır (7, 62).

Karaciğerin sahip olduğu damar ağı ve histolojik organizasyonu hepatositlerin çeşitli metabolik, ekzokrin ve endokrin işlevleri yerine getirmesini sağlar. Örneğin kan homeostazını korumak, protein ve lipid salgılamak, toksik metabolitlerin ve ksenobiyotiklerin temizlenmesi gibi hayati işlevleri yerine getirmesinde büyük kolaylık sağlar. Hepatosit, hormon ve safra üretir. Ayrıca doğuştan gelen bağışıklık tepkilerine aracılık eder (62, 105).

Hepatositlerin sinüzoidal (bazolateral) bölümü besinleri ve diğer kan bileşenleri işler ve plazma proteinlerini salgımlarken, hepatositlerin daha küçük olan apikal yüzeyleri safra kanaliküllerini oluşturur. Hepatositler, kanaliküller içine devamlı olarak safra asitleri (kolik asit gibi organik asitler), safra tuzları, elektrolitler, fosfolipidler, kolesterol ve bilirubinin bir karışımı olan safra salgımlarlar. Hepatosit plaklarında hepatositler dezmozomlarla ve bağlantı kompleksleriyle sıkıca tutunurlar. Sıkı bağlantılarla bağlanmış iki hepatositin apikal yüzeyleri, safra bileşenlerinin salgılanacağı kanalikülü oluşmak üzere sıralanır ve bir oluk meydana getirir. Hepatositlerin apikal membranlarından uzanan çok sayıda kısa mikrovillus içeriği ile bu kanaliküller 0,5-1 µm çaplı lümenleri ve geniş yüzey alanları ile özelleşmiş yapılardır.

Safra kanalikülleri, hepatosit tabakaları boyunca dallanmalar yapan karmaşık bir kanal ağı oluştururlar ve portal alanlarda sonlanırlar. Bu nedenle safra, klasik karaciğer lobülünde, kanın tersi yönünde yani lobülün merkezinden çevresine doğru ilerler.

Safra kanalikülü, safra iletim sisteminin ya da safra kanallarının en küçük dalıdır. Bunlar, kolanjiosit denilen kübik epitel hücrelerinden oluşan Herring kanallarına boşalırlar. Bu safra kanalları portal alanda kübik ya da prizmatik kolanjiositlerle ve belirgin bağ doku kılıfıyla çevrili safra kanalcıklarıyla birleşir. Bu kanallar genişleyip birleşerek, karaciğerden ayrılan sağ ve sol hepatik kanalları oluştururlar.

Sinüzoid duvarı (endotel hücreleri ve Kupffer hücreleri) ile hepatositler arasında kalan alana Disse aralığı (perisinüzoidal aralık, subendotelyal aralık) denir. Bu aralık lenfatik kanallara bağlanır. Disse aralığı lobülün periferinde Mall aralığı ile devam eder, Mall aralıkları portal alanda lenfatik kılcal damarların başlangıcını oluşturur. Karaciğer sinüzoidlerindeki fenestrataların çok geçirgen olması hem sıvı hem de proteinlerin Disse aralıklarına kolayca geçebilmelerine imkân sağlar. Bu sayede karaciğerdeki sıvının fazlası lenf kanallarına geçer ve karaciğerden uzaklaştırılır (44, 62).

Karaciğerin lobüllerinde sinüzoid duvarında yer alan Kupffer hücreleri Mononükleer Fagositik Sisteme (MFS) dahil makrofajlardır. Kupffer hücreleri, kandaki monositlerden köken alır. 1876 yılında Alman anatomist Karl Wilhelm von Kupffer tarafından özel bir boyama tekniği olan altın kloroid yöntemi ile Kupffer hücreleri gösterilmiştir. Kupffer hücreleri, karaciğer sinüzoidlerinin endotel hücrelerinin arasına yerleşmişlerdir. Endotel hücrelerin fenestrasyonları aracılığıyla Kupffer hücre uzantıları Disse aralığına uzanır ve burada hepatosit mikrovillusları ile temas halinde oldukları gözlemlenmiştir. Uzantıları sayesinde sinüzoid içerisindeki hücrelerle ve endotelde bulunan fenestralar yoluyla hepatosit ve yağ depolayan İto hücreleriyle iletişim kurarlar (4, 101, 105). Kupffer hücreleri, vücuda giren mikroorganizmaları fagosite etmek, yabancı maddeleri parçalamak ve bağışıklık yanıtlarını düzenlemek gibi görevler üstlenmesi ile vücudun savunma mekanizmaları açısından önemli bir rol oynar (4, 62).

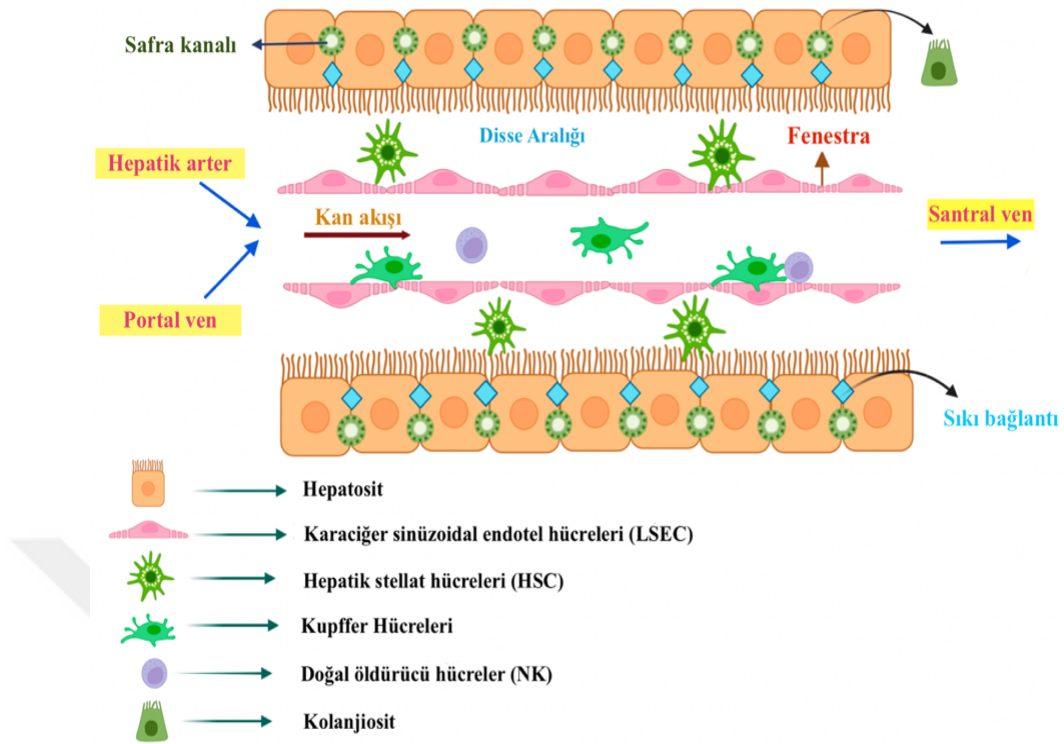
İto hücreleri (yıldızlı hücreler) veya hepatik stellat hücreler (HSC) olarak adlandırılan hücreler Disse aralığında bulunan mezenkim kökenli hücrelerdir. Karaciğerde bulunan tüm hücrelerin yaklaşık %5'ini İto hücreleri oluşturur. Bu hücreler perisinüzoidal aralıkta A vitamini ve yağda çözünen diğer vitaminleri

depolayan küçük yağ damlacıkları içeren hücrelerdir. Karaciğer vücudun 10 aylık ihtiyacını karşılayacak kadar A vitamini depolayabilir. İto hücreleri A vitaminini retinol olarak salgılayarak, retinol da retinadaki opsin ile birleşerek rodopsini meydana getirir. Bu hücreler fetal dönemde kan yapımını (hemopoez) sağlayan kök hücreler olarak görev yapar. İto hücreleri karaciğerdeki bir patoloji ya da inflamasyon durumunda A vitamini depolarını kaybeder. Akabinde miyofibroblast yapısında bir hücreye dönüşerek, tip I ve tip III kollajen sentezleyerek karaciğer fibrozisine sebep olurlar. Bu fibrotik durum ileri aşamalarda siroza yol açar. Yine bu hücrelerin kasılmasıyla sinüzoidler daralacağından portal hipertansiyon meydana gelebilir. Bu hücreler ayrıca laminin, proteoglikanlar, büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgılamaktadır. Disse aralığında artmış olan kollajen lif birikimi ve hücre dışı matriks, sinüzoidlerdeki endotel hücrelerindeki fenestrasyonlarda kayıplara neden olmaktadır (4, 62).

Karaciğer sinüzoidinin endotel hücreleri (LSEC'ler), karaciğer parankiması haricinde en çok görülen hücre tipidir. Endotel hücrelerinin ince, soluk sitoplazmaları ve çekirdekçiği olmayan küçük, füziform, koyu boyanan çekirdekleri vardır. Bu hücreler, karaciğerdeki sinüzoidlerin (kapillerlerin genişlemiş hali) iç yüzeyini kaplayan hücrelerdir ve hepatositlerle yakın temas halindedirler. Endotelyal bazal membranın bütünlüğünün tam olmaması ve endoteldeki fenestratalar kan ve hepatositler arasındaki değiş tokuşu kolaylaştırır (7, 84).

Kolanjiositler, ekstra ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen özel epitel hücreleridir. Toksik metabolitlerin hepatositlerle temizlenmesi, sindirim ve ksenobiyotikler için gerekli olan safranin salgılanması ve modifikasyonu ile kan homeostazını korumak için proteinlerin ve lipidlerin salgılanması gibi hayati işlevleri yerine getirirler.

Doğal öldürücü (NK) hücreler, Pit hücreleri olarak da adlandırılmakta olup sinüzoid duvarında yer alırlar. Bu hücreler, kan dolaşımı yoluyla karaciğere giren patojenler ve tümör hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli maddeleri izlemek ve bunlara yanıt vermek için stratejik olarak konumlandırılmışlardır (7).



Şekil 5. Karaciğer lobülünün anatomisi (7).

2.1.8 Karaciğer fizyolojisi

Albüminler, lipoproteinler, glikoproteinler gibi birçok dolaşımda görev alan plazma proteinin karaciğer salgılamaktadır. Kandan çeşitli besinlerin ve vitaminlerin (vitamin A, D ve K) alınması, depolanması ve vücuda dağıtılmasında karaciğer önemli rol almaktadır. Karbonhidratların, proteinlerin, yağların, hormonların ve yabancı kimyasalların metabolize edilmesi görevini yapar. Bunlara ek olarak, karaciğer demirin depolanmasında, metabolizmasında ve homeostazında görev almaktadır. Karaciğer, demir transferinde ve metabolizmasında önemli rol oynayan transferin, haptoglobin ve hemopeksin dahil olmak üzere hemen hemen bütün proteinleri sentezlemektedir.

Bunların yanı sıra, karaciğer çeşitli metabolik yollarda görev almaktadır. Örneğin; kanın depolanması ve filtrasyonu, kan glukoz düzeyinin düzenlenmesi ve lipid proteinlerinin düzeyinin düzenlenmesi gibi birçok görevi yerine getirir. Çok

sayıda toksik madde ve ilaçların indirgenmesinde ya da konjuge edilmesinde de rol oynar. Aynı zamanda karaciğer safra üretimini sağlaması itibariyle ekzokrin bir organdır. Safra tuzları ve fosfolipidleri de üretir. Son olarak, karaciğer endokrin fonksiyonlarına da katkıda bulunur (105).

2.1.9 Karaciğer fonksiyonları

Karaciğerin fonksiyonları metabolik ve diğer olmak üzere iki grupta incelenebilir. Karaciğerin metabolik fonksiyonları şunlardır:

1. Safra yapımı
2. Üre yapımı
3. 25-hidroksivitamin D₃ sentezi
4. Karbonhidrat depolanması ve salgılanması
5. Kolesterol metabolizması
6. Yağ metabolizması ile ilgili fonksiyonlar
7. Bazı polipeptit hormonların inaktivasyonu
8. Adrenal korteks ve gonad hormonlarının redüksiyon ve konjugasyonu.

Karaciğerin diğer fonksiyonları ise şunlardır:

1. Plazma proteinleri ve pıhtılaşma faktörlerinin yapımı: Plazma proteinleri albümin, fibrinojen (FI), protrombin (FII) ve diğer pıhtılaşma faktörlerinin sentezi karaciğerde gerçekleşir. Karaciğerde plazma proteini ve pıhtılaşma faktörleri oluşumu için K vitamini gereklidir. K vitamini eksikliğinde kan pıhtılaşması bozulur.
2. Detoksifikasyon: Zehirden arındırma anlamına gelen bu işlemde vücut için zararlı olan maddeler zararsız hale getirilir.
3. Bağışıklık ve fagositoz: Karaciğerde bulunan ve fagositoz yapan hücrelere Kupffer hücreleri denir. Kanlanması çok iyi olduğundan karaciğer Kupffer hücreleri kandaki mikroorganizmaları sinüzoid duvarında fagosit eder. Karaciğer çeşitli bakteri, parazit ve zararlı maddelerin vücuda girmesini önleyen ve onları temizleyen büyük bir filtre görevi görür.

Karaciğerin sindirim sistemine en önemli katkısı safra salgılanmasıdır. Safranin iki önemli fonksiyonu vardır:

1. Yağların sindirim ve emilimini kolaylaştırır. Bu işlem içeriğinde bulunan safra tuzları ile gerçekleştirilir.
2. Çeşitli yıkım ürünlerinin atılmasında rol oynar. Hemoglobin yıkımının bir sonucu olarak oluşan bir pigment ve kırmızı kan hücrelerinin (eritrositlerin) yıkımı sonucu oluşan bilirubin, safra yoluyla atılarak vücudun metabolik atıklarından kurtulmasına yardımcı olur. Ayrıca karaciğerde sentezlenen kolesterolün bir kısmı bu yolla atılır (47).

2.1.9.1 Karaciğerde karbonhidrat metabolizması

Karaciğerin karbonhidrat metabolizması ile ilgili birçok fonksiyonu bulunmaktadır.

1. Hayvan hücrelerinin temel polisakkariti olan glikojenin depo edilmesi ve parçalanması
2. Glukoneogenez
3. Galaktoz ve fruktozun glukozu dönüşürülmesi
4. Glukozun direkt oksidasyonu (glukozun pentoz fosfat yolunda yıkımı)
5. Karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden çok sayıda önemli kimyasal türevlerinin formasyonu. (60, 91)

2.1.9.2 Karaciğerde yağ metabolizması

Yağ metabolizmasına özgün fonksiyonlar şöyle sıralanabilir:

1. Yağ asitlerinin oksidasyonu
2. Kolesterol sentezi ve plazma kolesterol düzeyinin denetimi
3. Triglicerid, fosfolipid ve lipoprotein sentezi
4. Ketojenezis
5. Karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi (40, 60)

2.1.9.3 Karaciğerde protein metabolizması

Protein metabolizmasına ait fonksiyonlar önemli bir rol oynar. Bunlar şöyle özetlenebilir:

1. Amino asitlerin deaminasyonu
2. Üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından ayrılması
3. Plazma proteinlerinin sentezlenmesi
4. Metabolik olaylar için önemli amino asitlerin ve bazı maddelerin birbirine dönüşümleri (60).

2.1.10 Karaciğer rejenerasyonu

Karaciğer rejenerasyonu oldukça karmaşık bir süreçtir. Karaciğer rejenerasyonu fiziksel travma, enfeksiyon, enflamatuar süreçler, doğrudan toksisite ve immünolojik saldırılar da dahil olmak üzere tek başına veya kombinasyon halinde meydana gelen çok çeşitli yaralanma türleri tarafından tetiklenebilir. Yaralanmaların çeşitliliği ile orantılı olarak, karaciğer rejenerasyonunu tetikleyen biyokimyasal mekanizmalar da çeşitlidir. Yaralanmaya verilen yanıt yalnızca yaralanmanın türüne değil, aynı zamanda büyüklüğüne de bağlıdır. Örneğin, sıçan modelinde %30 kısmi hepatektomi sonrası karaciğer büyümesi, %70 hepatektomi sonrası görülen hiperplazinin (hepatosit proliferasyonu ile karaciğer büyümesi) aksine, ağırlıklı olarak hepatosit hipertrofisi (hepatosit hacim artışı ile karaciğer büyümesi) ile gerçekleşmektedir. Karaciğer rejenerasyonunun tetikleyicileri, hepatik ve ekstra-hepatik kaynaklardan gelen, senkronize veya metakronize olarak hareket eden hepatik mitojenler olarak adlandırılan çok sayıda sitokin, hormon ve büyüme faktörüdür. Mitojenlerin birden fazla reseptör veya hücre içi sinyal yolu üzerinde etkili olmasıyla bu tetikleyiciler oluşur. Sonrasında ise parankimal hücreler (hepatositler ve kolanjiositler) ve parankimal olmayan hücreler Kupffer hücreleri (KC), hepatik stellat hücreler (HSC), karaciğer sinüzoidinin endotel hücreleri (LSEC) arasındaki etkileşimle daha da artar. Bunlara ek olarak rejenerasyonu aynı zamanda karaciğerin sağlığında önemli ölçüde etkiler. Dolayısıyla, steatoz, steatohepatit, fibroz, siroz veya biliyer ağaç tıkanıklığı

karşısında karaciğer rejenerasyonu, sağlıklı karaciğer dokusundakinden çok daha farklıdır (20).

Karaciğer kütlesinin yaklaşık %80'ini oluşturan hepatositler normalde bölünmez durumdadır. Ancak çeşitli etkenleri takiben hücre döngüsüne yeniden girerler. Kısmi hepatektomi (PH), sıçanlarda, farelerde ve ayrıca zebra balıklarında proliferasyonun *in vivo* deneysel bir modeli olarak karaciğer rejenerasyonunu incelemek için en yaygın yaklaşımdır (26).

Karaciğer rejenerasyonu, daha önce kaybedilmiş olan yapısal veya fizyolojik bütünlüğün yeniden kurulmasıdır. PH sonrasında karaciğer, bir progenitör hücrenin aktivasyonu olmaksızın sağlam hepatositlerle yeniden oluşur. Bununla birlikte, kemik iliği hücreleri karaciğer kütlesinin yenilenmesi sırasında endotelial ve parankimal olmayan hücrelerin yaklaşık %20'sini üretebilir. Karaciğer rejenerasyonu farklı moleküler yolların etkileşimi ile gerçekleşir. PH'yi takiben, eksiz edilen karaciğer miktarı farklı proliferatif yolların aktivasyonunu belirler. Rezeksiyon karaciğerin 1/3'ünü etkilediğinde, hepatositler hacimlerini genişleterek ve hipertrofiyi başlatarak hızla tepki verir. Ancak, rezeksiyon kütlenin 2/3'ünü etkilerse, hepatositler S fazına girer, çoğalır ve hiperplaziyi indükler. PH karaciğerin %80-90'ını etkilerse bu durumda sağlam hepatositler karaciğeri yeniden oluşturmak için yeterli değildir. Bu durumu kompanse etmek üzere biliyer epitel hücreleri aktive olarak işlevsel hepatositlere dönüşür (26).

2.2 Gıda Katkı Maddeleri

Gıda katkı maddeleri uzun yıllardır lezzetlendirme, renklendirme, gıdaların faydalı raf ömrünü uzatma ve gıda güvenliğini artırma amacıyla kullanılmaktadır. Tatlandırıcı sistemler tuzlu gıda üretiminde çok önemlidir. Tatlandırıcılar, özellikle çok lezzetli olmayan gıdalarda gerekli lezzet arttırmayı sağlayarak önemli bir besinsel rol oynayabilir. Serbest amino asit oranı yüksek veya protein hidrolizatlarından oluşan gıdalar ve bileşenler, çeşitli gıdaların duyu niteliklerini geliştirmek için yüzyıllardır birçok kültürde yemek pişirmede kullanılmaktadır (108).

Avrupa Birliği lkelerinde kullanımına izin verilen 300'n üzerinde gıda katkı maddesi bulunmaktadır. Gıda katkı maddelerine ilişkin 1332/2008 sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü tarafından sağlanan tanıma göre gıda katkı maddeleri "normalde kendi başına bir gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bir bileşeni olarak kullanılmayan, besleyici değer olsun ya da olmasın, söz konusu gıdanın üretimi, işlenmesi, hazırlanması, muamelesi, paketlenmesi, taşınması veya depolanması sırasında teknolojik bir amaçla gıdaya bilinçli olarak eklenmesi sonucunda kendisinin veya yan ürünlerinin doğrudan veya dolaylı olarak söz konusu gıdanın bir bileşeni haline gelen veya gelmesi doğal olarak beklenen herhangi bir madde" anlamına gelir (36).

2.2.1 Lezzet arttırıcılar

Lezzet arttırıcılar, gıdanın tadını doğrudan değiştirmeyen ancak ağızda tat reseptörlerini uyararak özellikle tuzun azaltılması durumunda ortaya çıkan lezzet kaybını telafi etmeye ve lezzeti arttırmaya yardımcı olur. Bu tür lezzet arttırıcılar umami tadı algılayan reseptörleri uyararak gıdanın lezzet dengesini değiştirir ve bu tat düşük sodyumlu ürünlerin lezzetini arttırır (121). Bu lezzet artışını, büyük miktarlarda doğal olarak oluşan glutamik asit içeren bezelye ve domates gibi bileşenlerle elde etmek mümkündür. Ayrıca, glutamat ile sinerji içinde işlev gören nükleotidler gibi diğer bileşenlerle birlikte kullanıldığında bu etki daha da artabilir (27).

Güncel kullanımda, monosodyum glutamat, maya özütleri, hidrolize bitkisel proteinler (HVP), peptidler, acı engelleyiciler, yüksek oranda nükleotid içeren bileşenler (disodyum guanilat, disodyum inosinat), otlar ve baharatlar, soya sosu, glisin ve mentol, mentil laktat ve diğer yan ürünler gibi tuz arttırıcı türler mevcuttur. Bu bileşenler, birincil tat, tat iyileştirme veya spesifik tada dayalı bir tat profili oluşturmak için kullanılabilir. HVP ve bazı maya ürünleri, genellikle gıdalarda hem temel tat hem de zenginleştirme boyutunu arttıran bileşenlerdir. Öte yandan, MSG, guanilat, inosinat gibi bileşenler ve diğer tuzlar genellikle lezzet arttırıcılar olarak kullanılır ve genellikle tat artırma boyutunda etkilidirler (16).

2.2.2 Umami tat bileşenleri

Tat, insan tat alma sisteminin, tükürükte çözünmüş olarak yutulan gıdadan gelen moleküllere ve iyonlara verdiği bir yanıt olarak üretilen bir duydur. Son on yılda tat algılama ve hücre biyolojisi üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Çözünmüş moleküller ve/veya iyonlar, tüm dil boyunca dağılmış yüzey proteinlerine (tat reseptörleri) bağlanabilir veya gözenek benzeri proteinlerle (iyon kanalları) etkileşime girerek tat hücrelerinde elektriksel değişikliklere ve yedinci, dokuzuncu ve onuncu kranial sinirler aracılığıyla tat algısının gerçekleştiği beyne giden kimyasal sinyallere neden olabilir (106). Tat, lezzetten farklıdır. Tat algısı, suda çözünen maddelerin ağız boşluğundaki duysal tat alma bölgelerine temas ederek ortaya çıkar. Lezzet algısı, koku alma duyusuna bağlıdır. Koku sinyalleri, uçucu maddelere maruz kalındığında burun epitelinin özelleşmiş bir bölgesindeki nöronlar tarafından üretilir. Hem tat hem de koku sinyalleri, tat veya lezzet algısını oluşturmak için orbitofrontal ve serebral korteksin diğer bölgelerinde entegre edilir. Bunun sonucunda beynin tat alma bölgesine ulaşan sinyaller aracılığıyla tat algısı oluşur (61).

Umami tadı, soya sosu, peynir ve fermente edilmiş Asya gıdaları gibi birçok geleneksel gıdada uzun zamandır tanımlanmıştır. "Umami" kelimesi, "hoş tuzlu tat", "ağız doluluğu" veya "lezzetli" anlamına gelen Japonca bir kelimeden (うま味) gelmektedir. Umami tadı, 2002 yılında diğer 4 temel tat olan tatlı, ekşi, tuzlu ve acı ile 5. temel tat şekli olarak veya monosodyum glutamat benzeri tadı tanımlanmak için yaygın bir şekilde kabul görmüştür (128, 146). Bu kabul, esas olarak mGluR4 ve heteromerik T1R1+T1R3 reseptörü gibi glutamat için G proteinine bağlı reseptörlerin tanımlanmasına bağlanmıştır. Umami bileşenleri gıda baharatları için çok önemlidir ve gıda üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Umaminin iki önemli özelliği sinerjizm ve acılığın bastırılması gibi diğer tatlarla olan etkileşimidir (68, 128, 146).

Monosodyum glutamat (MSG) umami tadına sahip olduğu bildirilen ilk moleküldür (10). MSG'nin yanı sıra, bazı serbest L-amino asitler, çift fonksiyonlu asitler, peptitler ve bunların türevleri veya reaksiyon ürünleri de dahil olmak üzere bir dizi maddenin umami tadını ortaya çıkardığı bulunmuştur (61). Umami bileşenleri sıçanlarda yağ birikimini, kilo alımını ve plazma leptin seviyelerini azaltmak da dahil

olmak üzere çok sayıda etki gösterirler (69, 93). Ayrıca, gastrointestinal fonksiyonları düzenledikleri ve diyetlerindeki sodyum alımını azaltarak yetişkinlerde inme ve koroner kalp hastalığı riskini azalttıkları bulunmuştur (5, 93, 138). Umami bileşenlerinin gıdalardaki tat artışına neden olmaları ve sağlığa yönelik iyileştirme işlevleri, yeni umami maddeleri bulmak ve tat özelliklerini değerlendirmek yolunda daha fazla araştırmaya neden olmuştur (71, 82).

2.3 Monosodyum Glutamat (MSG)

2.3.1 Monosodyum glutamat ve tarihçesi

Glutamat açısından zengin olan mayalanmış garum, antik Yunan ve eski Roma'da kullanılmaktaydı (M. Ö 9. yüzyıl). Garum, Antik Roma döneminde afrodizyak olduğuna inanılan ve yemeklerde kullanılan bir tür balık sosudur. Roma'da daha yaygın olmasına rağmen Antik Yunanistan'dan geldiği bilinmektedir (142). 1800'lü yılların sonlarında bir aşçı Paris'te pahalı ve yenilikçi restoranlardan birini açtıktan sonra bu tadı; tuzlu, ekşi, tatlı ve acı tatlarla birleştirerek çeşitli yemekler hazırladı. Ancak, kendisi bu özgün tadın kimyasal kaynağını bilmiyordu (102).

1866 yılında Karl Heinrich Ritthausen adlı bir kimyager Almanya'da buğday glutenini sülfürik asit ile işleyerek glutamik asidin (Kombu) keşfedilmesine ve tanımlanmasına yol açmıştır (17). 1908 yılında Profesör Kikunae Ikeda, deniz yosunu *Laminaria japonica*'dan beyaz kristal toz olarak ekstrakte ettiği tada umami adını vermiştir. Umami Japonca "hoşa giden tat" anlamına gelir (88). Bu ifade Profesör Kikunae Ikeda tarafından umai "lezzetli" emi" tat" anlamına geldiği için özellikle seçilmiştir. İnsan dilindeki tat tomurcukları, beş ana tattan biri olan umami tadını algılamak için L-glutamat alıcılarına sahiptir (15). Suzuki kardeşler, Ikeda'nın "monosodyum glutamat" adını verdiği madde çeşidi için patent başvurusunda bulunmasının ardından 1909 yılında Ajinomoto (lezzet özü) adı altında ticari kullanım için MSG üretmeye başlamıştır. Glutamatların ve serbest amino asitlerin sayısı, bazı yiyeceklerin baharatlanmasından veya olgunlaştırılmasından sonra önemli ölçüde artar. Örneğin; özellikle daha uzun olgunlaşmayla tadı ve dokusu iyileşen ve amino asit konsantrasyonunu artıran birkaç peynir çeşidi gibi. Amerika Birleşik Devletleri'nde,

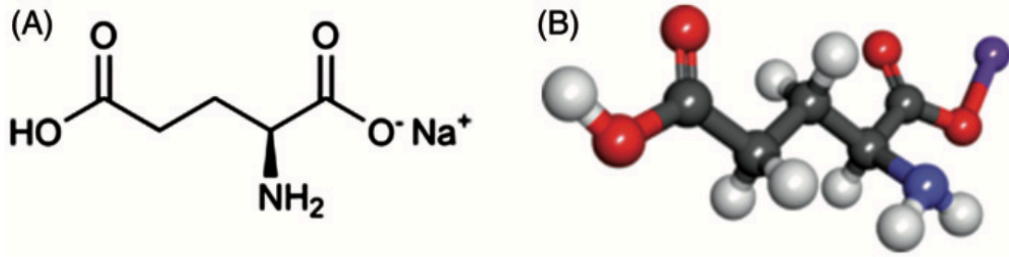
1957'den beri, şeker kamışı ve diğer karbonhidrat kaynaklarından (mısır gibi) elde edilen MSG'yi üretmek için genetik olarak manipüle edilmiş bakteriler kullanılmaktadır. Bu bakteriler hücre duvarları aracılığıyla glutamik asit salgılar. Glutamik asit daha sonra kristalleştirilmekte, asitlendirilmekte, yoğunlaştırılmakta, filtrelenmekte ve monosodyum tuzuna dönüştürülmektedir (51, 99, 113).

2.3.2 Monosodyum glutamatın yapısı, kimyasal ve fiziksel Özellikleri

Monosodyum glutamat, esansiyel olmayan bir amino asit olan L-glutamik asidin sodyum tuzu olarak gıda endüstrisinde işlenmiş gıdalarda lezzet arttırıcı ve stabilizatör olarak yaygın bir kullanım alanına sahiptir (46). Glutamik asit, çeşitli gıdalardaki proteinlerin baskın bir bileşenidir. Ara metabolizmada önemli bir bağlantı olarak serbest glutamik asit, canlı vücudun organ ve dokularında yüksek miktarlarda bulunur. Bu nedenle serbest glutamik asit, et, balık, kümes hayvanları, anne sütü ve sebzeler dahil olmak üzere hemen hemen tüm gıdalarda yer almaktadır (75).

Glutamat (MSG)'ın Japonca “umami” olarak bilinen özel bir tadı vardır ve “beşinci tat” (tatlı, tuzlu, acı ve ekşiden sonra) olarak bilinir. Ayrıca birçok ülkede “tuzlu” veya “Çin tuzu” adıyla bilinir (46, 56). Sodyum tuzu olarak yaygın bilinen monosodyum glutamatın (MSG) kimyasal formülü $C_5H_8NaO_4$ 'tür (112).

MSG, 169,11 g/mol moleküler kütleye ve 232 °C erime noktasına sahip beyaz, kokusuz ve kristal bir tozudur. Sodyum ve serbest glutamat oluşturmak üzere ayrışır. Alkolde az çözünür, ancak sudaki çözünürlüğü 25°C'de 385.000 mg/l'dir. Monosodyum glutamat ayrıca yağda veya organik çözücülerde çözünür (112).



Şekil 6. MSG'nin kimyasal (A) ve moleküler (B) yapısı (123).

Gelişmiş ülkelerde ortalama monosodyum glutamat alımının 0.3-1.0 g/gün olduğu tahmin edilmektedir. Monosodyum glutamat (MSG) 'ın tüketim için güvenli olduğuna dair raporlara rağmen çeşitli çalışmaların sonuçları potansiyel toksisitesini göstermektedir. Bu yan etkiler timus, beyin, pankreas, testis, karaciğer ve böbrek gibi farklı organlarda gösterilmiştir. MSG kullanımı obezite, hipertansiyon, baş ağrısı, astım, nörotoksik etkiler gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkilendirilmiş ve üreme organları üzerinde zararlı etkilerinin de olduğu gösterilmiştir. Organ veya hücre tipinden bağımsız olarak monosodyum glutamat kaynaklı hasarın mekanizması oksidatif stresin indüklenmesi ile açıklanmaktadır. Böylece hücre içinde reaktif oksijen türlerinin seviyeleri artmakta, oluşan bu türler hücre proteinlerine, lipidlere, polisakkaritlere ve nükleik asitlere zarar vererek birçok hücresel aktivitede bozulmaya neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, MSG kullanımı sonucu karaciğerlerde artmış sitoplazmik asidofili ve piknotik çekirdekler ile karakterize nekroz odak alanı olduğu gösterilmiştir. Hepatositler, çekirdek kaybı ile dejenerasyon ve nekroz göstermiştir. Ayrıca portal alanda lenfoid hücre kümelenmeleri ve periportal alanda kanama gözlenmiştir. Kupffer hücreleri ile hepatik sinüzoidlerde belirgin olarak yaygın tıkanıklık saptanmıştır (78).

Glutamat, çoğu dokuda birçok peptit ve proteinin önemli bir bölümünü düzenleyen doğadaki aminoasitler olarak bilinir. Monosodyum glutamat (MSG), kalite, tat ve dayanıklılık gibi gıda endekslerinin korunması için bir katkı maddesi olarak kullanılır. Birçok ülkede baharat ve tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Paketlenmiş gıdalarda etikette belirtilmeksizin kullanılabilir. MSG'nin gıdalarda kullanımı konusunda dünya çapında bir tartışma vardır.

Yapılan çalışmalarda MSG'nin oksijen radikalleri ve hidrojen peroksit üretimi ile oksidatif stresi tetikleyerek oksidatif DNA hasarına, hücre zarlarının peroksidasyonuna ve hücre ölümüne yol açabileceğini gösterilmiştir. Vitaminler, mineraller dahil olmak üzere dahili antioksidanlar reaktif oksijen türlerini veya lipidlerin peroksidasyonunu engelleyebilir. Çeşitli çalışmalar MSG'nin insan ve hayvan dokuları üzerindeki toksik etkilerini rapor etmiştir. MSG böbrek fonksiyonlarında, karaciğerde ve lipid profilinde değişikliğe neden olabilir. MSG etkisi ile ovaryumlarda gözlenen histopatolojik bulgular, kadınlarda infertilitenin nedeni olabilecek hücresel hipertrofi, dejeneratif ve atrofik değişiklikleri içermektedir. (104).

Glutamat, memelilerin merkezi sinir sisteminde iyonotropik (iGluR) ve metabotropik (mGluR) glutamat reseptörleri aracılığıyla etki gösteren uyarıcı bir nörotransmitterdir. iGluR belirli katyonlara geçirgen iyon kanalları oluştururken, mGluR çeşitli ilişkili G proteinleri aracılığıyla hücre içi sinyal mekanizmalarını aktive eder. Sekans homolojileri, farmakolojik özellikleri ve ikinci mesajcı bağlantıları temelinde, mGluR Grup I (mGlu1 ve mGlu5 reseptörleri), Grup II (mGlu2 ve mGlu3 reseptörleri) ve Grup III (mGlu4, mGlu6, mGlu7 ve mGlu8 reseptörleri) olarak sınıflandırılmıştır. Son veriler farklı nöronal olmayan hücrelerde glutamat reseptörlerinin ekspresyonunu göstermiştir. Glutamat, insan ve kemirgen lenfositlerinde hücre içi kalsiyum iyonu konsantrasyonunu artırmıştır. Bununla birlikte, lenfositler üzerindeki glutamat reseptörlerinin kesin işlevi büyük ölçüde bilinmemektedir. Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile indüklenen nörotoksisite, çeşitli nörodejeneratif hastalıklarla ve yüksek konsantrasyonlarda tüketildiğinde monosodyum glutamat (MSG) şeklinde glutamat alımından sonra eksitotoksisite ile ilişkilendirilmiştir. Eksitotoksinler tarafından indüklenen nöronal hücre ölümünün kesin mekanizması hala bilinmemektedir. Ancak, glutamat kaynaklı toksisitenin nekroz ve apoptoz yoluyla gerçekleşebileceğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır (131).

Nakanishi ve arkadaşlarının (2008) yaptığı bir çalışmada, MSG ile muamele edilen 6 ve 12 aylık farelerde hepatoselüler karsinomun gelişmesine yol açan NASH

(Alkole bağılı olmayan steatohepatit) ve NAFLD (Alkole bağılı olmayan yağlı karaciğer hastalığı) gibi karaciğer patolojilerinin oluştuğunu gösteren bulgular bulunmuştur. Farelerin MSG ile muamelesinin, insan NAFLD'sine benzeyen steatoz ve steatohepatit ile obezite ve diyabeti indüklediğini ve preneoplastik lezyonlarla NASH oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara göre, MSG'nin güvenlik profilinin yeniden incelenmesini ve potansiyel olarak gıda zincirinden çekilmesini önermişlerdir (94). Tawfik ve arkadaşları, sıçanlarda 0,6 ve 1,6 mg/g vücut ağırlığı dozlarında MSG'nin, karaciğer ve böbrek dokusunda oksidatif stresi artırdığını ve buna bağılı olarak karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir (127).

2.3.3 Monosodyum glutamat ve obezite

Obezite, aşırı kalori tüketimi ve/veya enerji kullanımında azalma ile ortaya çıkan çok fazla vücut yağına veya yağ dokusuna sahip olmak olarak tanımlanmaktadır. Obezite, serebral düzeyde işlevsiz bir tokluk merkezi, enerji alımı ve harcaması arasındaki dengesizlik ve yağ dokularında yağ şeklinde anormal, aşırı enerji birikimi olarak ortaya çıkan genetik farklılıklar ile tanımlanmaktadır. MSG tüketimi ile obezite arasındaki ilişki, MSG alımının hücrel lipogenezin artmasına ve son nokta obezitesine yol açtığı gösterilmiştir (23, 99).

MSG, daha önce gıda güvenliği yetkililerinden güvenli onayı almıştır. ABD Gıda ve Tarım Örgütü (FDA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi 1988 yılında MSG'nin L glutamik asit ve amonyum, kalsiyum, monosodyum ve potasyum tuzlarının kabul edilebilir günlük alım sınırını 30 mg/kg 1 doz olarak tanımlamıştır (103). MSG alımı son yıllarda küresel olarak hızla artmış, bu da her yaştan, cinsiyetten, ırktan ve milletten insanı etkileyen aşırı kilo ve obezite salgını nedeniyle sağlık endişelerini artırmıştır (18). Araştırmalara göre oral MSG uygulaması, azot oksit ve serotonin üretip salgılayarak vagal afferentleri (gastrik ve hepatik dallardan, çölyaktan) dolaylı olarak aktive edecek ve ilk MSG dozunu gastrointestinal lümene iletecektir. Otonomik innervasyon ve gastrointestinal sistemin kendi işlevi aracılığıyla, bu tür bir uyarım adiposit yağ metabolizmasını etkiler (97). MSG tüketimi ayrıca lipid ve glikoz metabolizması, oksidatif stres, kardiyovasküler

ve pıhtılaşma sistemleri, karaciğer, böbrek, dalak ve doğurganlık, nöron kaybı ve mikrobiyotada işlev bozukluğu dahil olmak üzere metabolizmada çok çeşitli anormalliklerle ilişkilendirilmiştir (54).

2.3.4 Monosodyum glutamat ve oksidatif stres

Oksidatif stres, çoğunluğu oksijen radikalleri ve diğer reaktif oksijen türleri (ROS) olan hücrelerde serbest oksijen radikallerin (SOR) aşırı üretimi veya azalan eliminasyonundan kaynaklanır. Beslenme metabolizması ve hormonlar gibi çeşitli hücre dışı ve hücre içi faktörler, sitokinler ve detoksifikasyon süreçleri oksidatif strese katkıda bulunur. Bu nedenle kronik monosodyum glutamat (MSG) alımında olduğu gibi glutamatın aşırı renal metabolizması reaktif oksijen türleri (ROS) kaynağı olabilmektedir (1).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu radikaller, hem normal metabolizmanın yan ürünleri olarak hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle hücrelerde oluşabilirler. Serbest oksijen radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren veya azaltan katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi bazı endojen antioksidan enzimlerden oluşan savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (57). O_2^- ve OH^- gibi ROS'lar kararsız serbest radikallerdir. Reaktivitelerini, komşu moleküllerden bir elektron alma veya komşu moleküllere eşleşmemiş elektronlarını verme ve böylece termodinamik olarak kararlı bir durum elde etme kapasitelerine borçludurlar. Buna karşın, H_2O_2 veya ONOO- kararlı radikal olmayan oksidanlardır. ROS başlangıçta biyolojik tehlike olarak görülürken, artık düşük seviyelerde ikinci haberciler olarak da hareket ettikleri ve fizyolojik sinyal yollarında, gen ifadesinin düzenlenmesinde, mikroorganizmalara karşı konak savunmasında, bağışıklık yanıtlarında ve vazodilatasyonda önemli bir rol oynadıkları açıktır. Bununla birlikte, ROS seviyelerinin kontrolsüz bir şekilde yükselmesi toksiktir ve doku hasarına yol açabilecek oksidan/antioksidan dengesinin bozulması olarak tanımlanan "oksidatif stresi" teşvik eder (7).

Oksidatif stresin hastalığa katkıda bulunduğu iki ana mekanizma vardır. Birincisi, oksidatif stres sırasında özellikle •OH, ONOO⁻ ve HOCl⁻ gibi reaktif türlerin üretimini içerir. Membran lipidleri, yapısal proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenleri doğrudan oksitleyerek hücre fonksiyonlarını bozabilir ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Oksidatif stresin ikinci mekanizması anormal redoks sinyalıdır. Oksidanlar, özellikle fizyolojik stimülasyon üzerine hücreler tarafından üretilen hidrojen peroksit (H₂O₂), ikinci sinyal olarak hareket edebilir. Oksidatif streste, H₂O₂'nin fizyolojik olmayan üretimi redoks sinyalinin kaybolmasına neden olabilir (56).

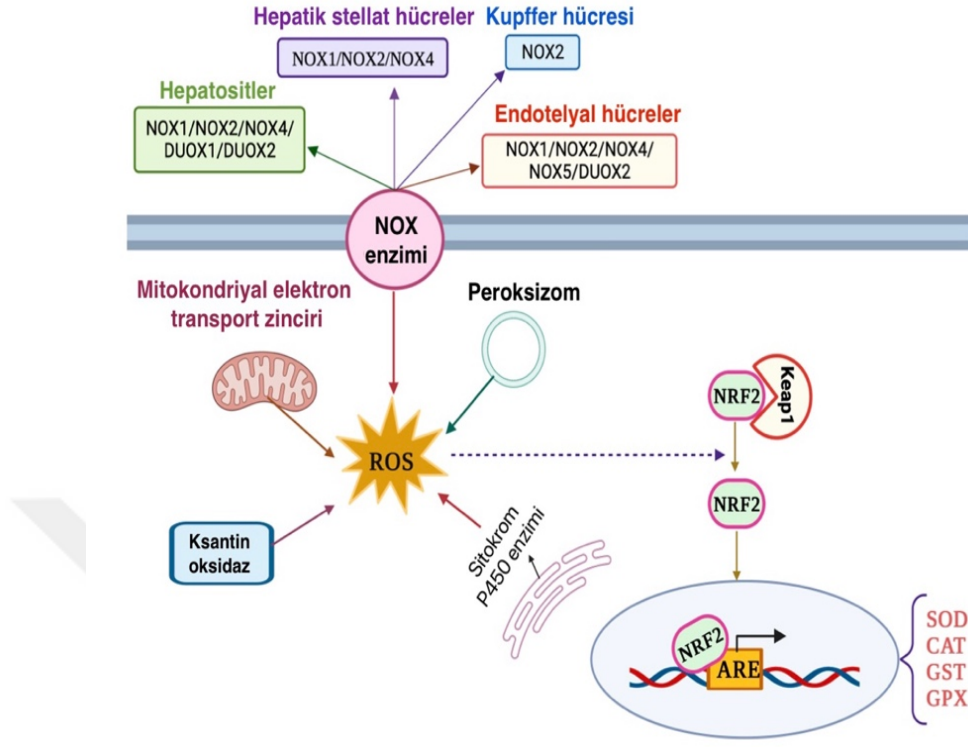
Oksidatif stres, çeşitli karaciğer hastalıklarının patofizyolojisinde aktif rol oynar. Örneğin, serbest radikaller alkole bağlı olmayan steatohepatit (NASH), siroz ve karaciğer kanserinin başlamasına ve ilerlemesine yol açmaktadır. Mitokondriyal ROS, diğer mutasyonları tetikleyerek kanser hücrelerinde metastatik süreçleri etkiler. ROS, ayrıca normal biyolojik süreçleri ve fizyolojik fonksiyonları destekleyen sinyal molekülleri olarak da çalışır. Örneğin, ROS büyüme faktörü sinyalleme, otofaji, hipoksik sinyalleşme, bağışıklık tepkileri ve kök hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli olarak görev alır (1).

ROS, normal hücresel metabolizma tarafından üretilir. Karaciğer, metabolik ve detoksifikasyon faaliyetleri nedeniyle önemli bir ROS üretim bölgesidir. Diğer organlarda olduğu gibi karaciğerde de endojen ROS'un ana kaynağı, mitokondriyal solunum zinciri yoluyla ve peroksizomlar, ksantin oksidazlar, sitokrom P450 oksidazlar ve NADPH oksidazlar (NOX'lar) dahil olmak üzere diğer kaynaklardan üretilir (1). NADPH oksidaz (NOX), ROS üretiminden sorumlu ana enzimdir. Yapılan çalışmalar, endoplasmik retikulum (ER) stresi sırasında NOX tarafından ROS üretiminin arttığını göstermektedir. NOX ailesi, Nox1–5 ve Duox-1 ve -2'den oluşur. Bu proteinler, süperoksit üretmek için NADPH'nin oksidasyonunu destekler ve çeşitli dokularda biyolojik rollere sahiptir. Hepatositler ve hepatik stellat hücreler (HSC'ler) NOX1, NOX2 ve NOX4'ü eksprese ederken, karaciğerler ağırlıklı olarak NOX2'yi eksprese eder. Yukarıdakiler arasında NOX4, en güçlü ROS üreten enzimdir. NOX4 esas olarak H₂O₂ üretir. Diğer NOX enzimlerinden farklı olarak NOX4, genişletilmiş

bir ekstrasitoplazmik döngüye sahiptir ve bu döngü nedeniyle enzim, H_2O_2 üreten bir enzimden O_2^- üreten enzime dönüşebilir. NOX4'ün üçüncü ekstrasitoplazmik döngüsündeki korunmuş bir histidin, enzimin H_2O_2 üreten aktivitesinden sorumludur. Ek olarak, NOX4, doğrudan p22 phox ile etkileşime girer ve bu etkileşim, H_2O_2 üretimi için bir ön koşuldur. NOX4'te korunan C-terminal dehidrojenaz alanı, yapıcı elektron transfer aktivitesine sahiptir. Tam uzunluktaki NOX4 proteininde, enzimin N-terminal transmembran kısmı ROS üretir ve bunun zarın karşı tarafında zar boyunca elektron taşınmasını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (7, 144).

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) en yaygın kronik karaciğer hastalığıdır. NAFLD, aşırı alkol tüketimi veya otoimmün hastalık, ilaca bağlı durumlar veya viral hepatit dahil olmak üzere karaciğer hücrelerinde yağ birikmesi (>5%) olarak tanımlanır. Alkole ilişkili karaciğer hastalığı (ALD) ve NAFLD, kronik karaciğer hastalığının en yaygın nedenleridir. Yağlı karaciğer/steatoz, steatohepatit, fibroz, siroz ve hepatosellüler karsinom ortak semptomlar içerseler de, bazı farklılıklar mevcuttur. Hepatositlerin yağlı dejenerasyonu, NAFLD'de ALD'ye göre daha sık görülür (144). NAFLD, basit steatozdan steatohepatit, fibroz, siroz ve daha sonra insülin direnci, hepatik oksidatif stres ve lipotoksisite etkisi ile hepatosellüler karsinom (HCC)'a ilerler. NAFLD'nin ilk aşamalarında basit hepatik steatoz meydana gelir. Hepatositlerde az miktarda yağ birikimi vardır. Ayrıca iltihabi hücre infiltrasyonu ve hepatosit hasarı izlenmez. Hepatositlerin %5'inden fazlasında yağ birikiminin meydana gelmesi ile karaciğerin metabolizması bozulmaya yol açar (1).

Karaciğer hücreleri, ROS'u önlemek ve açığa çıkan hasarı onarmak için güçlü antioksidan enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalara sahiptir. Antioksidan enzimler, süperoksit iyonunu hidrojen peroksit (H_2O_2) ve glutatyon peroksidaza (GPx) dönüştürerek ortadan kaldıran sitozolik ve mitokondriyal süperoksi dismutazı (SOD) içerir. Peroksiredoksinler (Prx), tioredoksinler (Trx) ve glutaredoksinler (Grx) ve peroksizomal katalaz (CAT) ile görev alırlar. Ek olarak, indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan moleküller karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur; A vitamini, C vitamini, E vitamini, bilirubin, ubiquinon ve ürik asit ROS'u ortadan kaldırır ve azaltılmış protein ve lipid rezervlerini geri kazandırır (1).

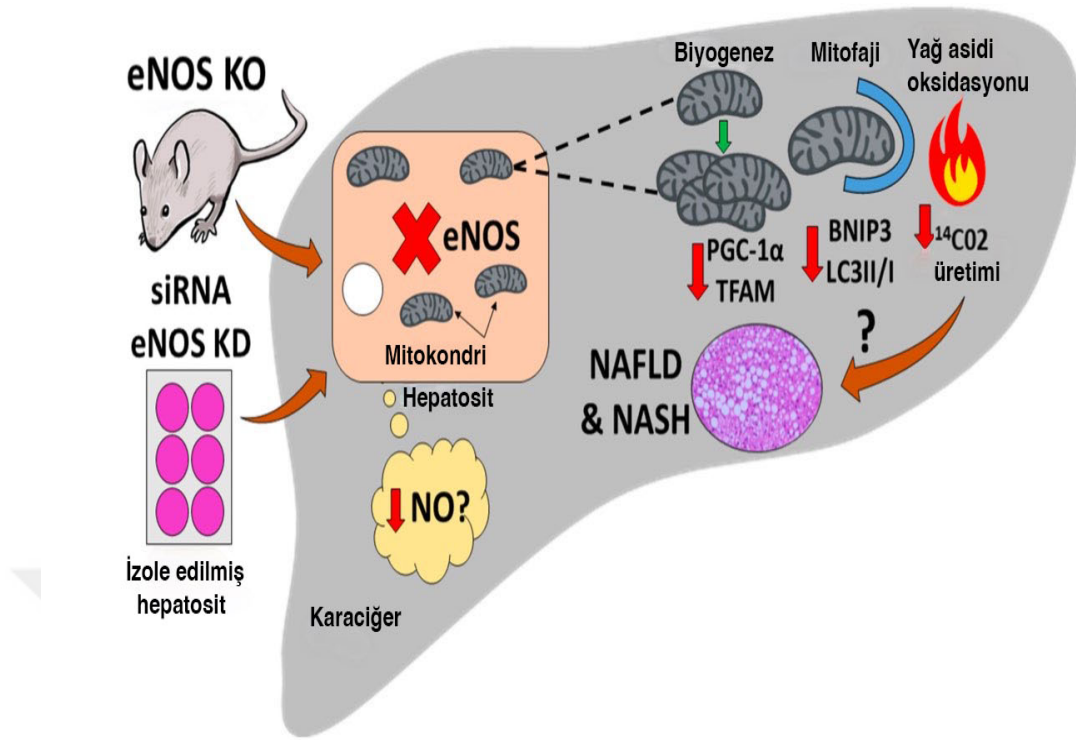


Şekil 7. Karaciğer hücrelerinde ROS üretiminin ve NRF2 sinyal yolunun ana kaynakları (7).

Nitrik Oksit (NO), reaktif oksijen bileşikleri gibi oksidatif stres artışına neden olabilen bir diğer biyolojik moleküldür. Çok sayıda fizyolojik ve patofizyolojik işlevi tanımlanmıştır. NO, nörotransmisyonu, vasküler tonusu, gen transkripsiyonunu, mRNA translasyonunu ve post-translasyonel modifikasyonu düzenlemek gibi birçok farklı işlevi ve moleküler hedefi olan otokrin ve parakrin bir sinyaldir. NO'nun biyolojik rolü genellikle konsantrasyona bağlıdır ve üç izoformdan oluşan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından üretilir: Nöronal NOS (nNOS), indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotelyal NOS (eNOS). Her üç izoform, oksijen, indirgenmiş nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADPH) ve tetrahidrobiopterin (BH4) temel substratlar ve kofaktörler olarak kullanıldığında, L-arginin'i L-sitrüline dönüştürerek NO üretimini katalize eder. Bu izoformlar, hücre tipi ve dokuya özgü ekspresyonu göstermektedir. nNOS; merkezi ve periferik sinir sistemi hücrelerinin yanı sıra çeşitli organların epitel

hücrelerinde, pankreas hücrelerinde ve vasküler düz kaslarda eksprese edilmektedir. iNOS başlangıçta enzim makrofajlarda tanımlanmıştır; ancak, uygun uyaran tanımlandığında iNOS ifadesinin herhangi bir hücre tipinde indüklenebileceği gösterilmiştir. iNOS tarafından makrofajlar indüklendiğinde sitotoksositeye yol açan bir bağışıklık savunma mekanizması olarak üretilir. eNOS öncelikle vasküler endotelial hücrelerde eksprese edilmektedir. Burada NO üretimini hızla artırmak ve kan akış gerilimdeki artışlara yanıt olarak vazodilatasyona neden olmak için luminal plazma membranında bulunur. Endotel hücrelerinde güçlü bir vazodilatör olarak ilk keşfinden bu yana, eNOS'un çeşitli dokularda önemli düzenleyici işlevler sağladığı gösterilmiştir. Kardiyomiyositlerde, trombositlerde, insan plasentasında ve böbrek epitel hücrelerinde de üretildiği gösterilmiştir (28).

eNOS'un aktivitesi, olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilen çoklu bölgelerdeki fosforilasyon ile kontrol edilir. İki uyarıcı bölge (S615, S1177), üç inhibitör bölge (S114, T495, Y657) ve eNOS aktivitesi üzerindeki etkisi belirlenemeyen iki bölge (Y81, S633) dahil olmak üzere yedi fosforilasyon bölgesi karakterize edilmiştir. Özellikle, eNOS'un AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), serin/treonin protein kinaz (Akt) ve protein kinaz A (PKA) tarafından S1177 ve S615 fosforilasyonu yoluyla aktive edilmesidir. Bu veriler eNOS aktivitesinin hem dış uyaranlar (Akt, PKA) hem de hücrenin iç metabolik durumu (AMPK) tarafından modüle edilebilme yeteneğini göstermektedir. Birçok NAFLD terapötüğü, yağ asidi inhibisyonu, artan yağ asidi oksidasyonu ve mitokondriyal biyogenezin uyarılması üzerindeki iddia edilen faydaları nedeniyle AMPK aktivasyonunu hedeflemektedir. Bazı çalışmalar, eNOS'un metabolik faydalarını AMPK'ya bağlı bir şekilde gösterebileceği ve metabolizmanın enerji durumunun bozulduğu senaryolarda obezite/NAFLD gibi önemli bir rol oynayabileceği fikrini desteklemektedir (25).

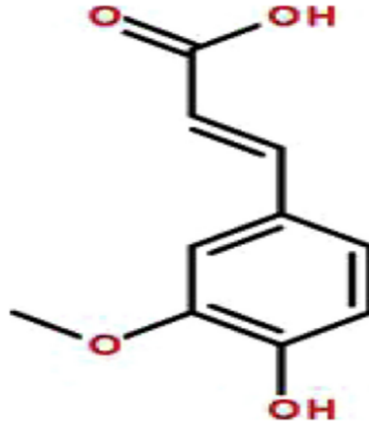


Şekil 8. Hepatoselüler endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) gelişiminde oynayabileceği potansiyel rolün şematik gösterimi (25).

2.4 Ferulik Asit

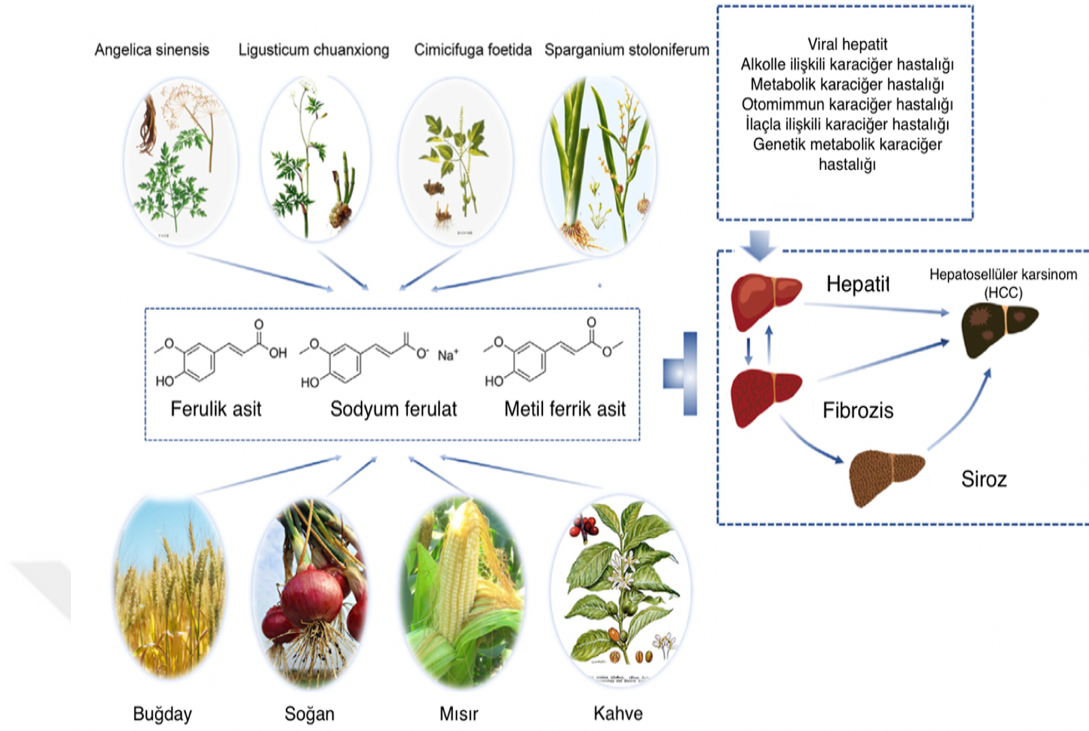
Ferulik Asit (FA), bitkilerde sıklıkla bulunan fenolik asit olup kimyasal formülü [(E)-3-(4-hidroksi-3-metoksi-fenil) prop-2-enoik asit]'dir (Şekil 8). FA, kuru fasulye, buğday kepeği, mısır kepeği, patlıcan ve enginar gibi bitkilerde yüksek miktarda bulunan yenilebilir bir fitokimyasaldır. Ferulik asit (FA), antimikrobiyal, antikanser ve antidiyabetik etkilere ek olarak antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (145). Hücre duvarındaki polisakkaritlere ve proteinlere bağlanarak hücre duvarının iskeletine katılır. FA, karaciğer hücrelerini koruyucu antimikrobiyal, antiinflamatuvar, düşük konsantrasyonda antioksidan, yüksek konsantrasyonda veya metal iyonları varlığında antitümör ve immün modülatör gibi geniş terapötik etkilere sahiptir. Yapılan bilimsel çalışmalar, FA'nın NAFLD'yi iyileştirme etkisine sahip olduğunu göstermiştir (67). Yapılan bir çalışmada, 5 haftalık erkek C57BL/6J farelerde, yüksek yağlı diyet (HFD) ile indüklenen alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı

(NAFLD) üzerindeki FA'nın koruyucu etkisi ve potansiyel mekanizması araştırılmış ve sonuç olarak FA aktivitesinin HFD ile indüklenen NAFLD'yi önlediği HFD+FA grubunda lipid ve hepatik steatozun azalmasıyla mikroskopik düzeyde gösterilmiştir (75).



Şekil 9. Ferulik asitin kimyasal yapısı (67).

Ferulik asitin nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, inflamasyon ve ayrıca bakteriyel ve viral enfeksiyonların tedavisinde önemli rol oynadığı yapılan bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir. Pepsin gibi sindirim enzimlerinin yapıları ve özellikleri üzerinde bir etki yaratması nedeni ile özel tıbbi amaçlı gıda ürünlerinin formülasyonlarında önemli bir bileşen olabileceği düşünülmektedir (87).



Şekil 10. Ferulik asit ve türevlerinin ilişkili olduğu hastalıklar (118).

Ferulik asit ve türevleri yaygın olarak bulunur ve karaciğer hasarını çeşitli şekillerde engelleyerek karaciğeri koruyabilir. Hepatit-karaciğer fibrozu/karaciğer sirozu-karaciğer kanseri üçlemesi, viral enfeksiyon, toksik maddeler ve ilaçlar, alkolik hepatit, alkolik olmayan steatohepatit, kolestatik siroz, otoimmün karaciğer hastalığı, genetik metabolik hastalıklar vb. dahil olmak üzere çeşitli hasar faktörleri, hepatosit nekrozuna veya apoptozuna neden olur, çeşitli sitokinleri serbest bırakır, hepatik stellat hücreleri ve Kupffer hücrelerini aktive eder ve kronik inflamasyona yol açar. Karaciğer fibrozu, bir dereceye kadar geri döndürülebilir olan enflamatuar stimülasyon ve hasar onarımının erken aşamasıdır. Patojenik faktörler ortadan kaldırıldığında, aktive olmuş olan hepatik stellat hücrelerinde apoptoz meydana gelmiş, kollajen sentezi azalmış ve yıkımı artmış, karaciğer yapısı ve fonksiyonu iyileşmiştir. Hasar ve kronik inflamasyon devam ederse, sonunda karaciğer sirozu ve karaciğer kanserine dönüşebilir. Ferulik asit birçok yönden karaciğer hastalıklarının birçok türü üzerinde koruyucu bir etki oluşturmaktadır (118).

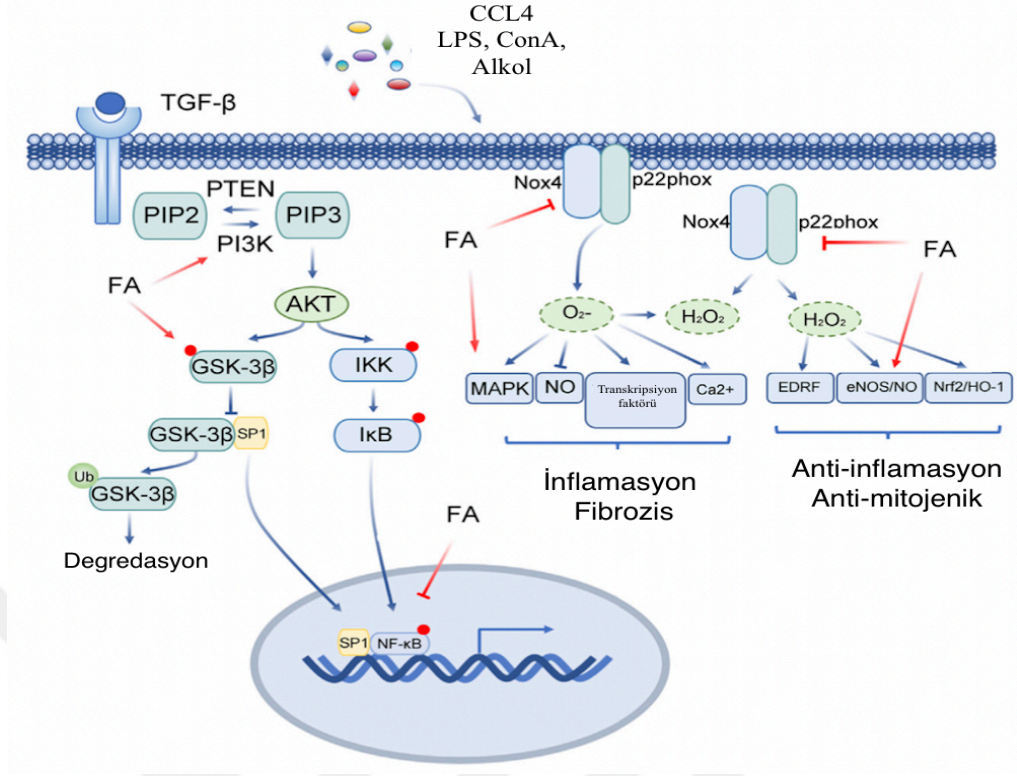
Bir antioksidan olarak FA'nın potansiyel mekanizması, FA'nın sadece serbest radikalleri nötralize etmesi değil, aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu da inhibe etmesidir. Ek olarak, FA'nın süperoksit dismutazın (SOD) antioksidan fonksiyonunu arttırdığı kanıtlanmıştır. FA'nın (1 µM), ROS üretimini ve CAT ve SOD seviyelerini düzenleyerek H₂O₂ ile muamele edilmiş morfolojisi epitel olan HEK293 hücre hattı hücrelerini koruyabildiği yapılan çalışmalarda bildirmiştir. FA'nın doza bağımlı olarak Nrf2 ve HO-1 ekspresyonunun nükleer translokasyonunu desteklemesi, antioksidan özelliği ile paralel bir bulgu olmuştur. FA'nın hem oksijenaz-1(HO-1) ekspresyonunu düzenleyerek lipid peroksidasyonunu ve hücrel apoptozu önlediği gösterilmiştir (119).

Ferulik asit çeşitli fizyolojik işlevler sergiler, örneğin fenolik çekirdeği ve uzatılmış yan zinciri nedeniyle hem antiinflamatuvar hem de antioksidan özelliklere sahiptir. FA, güçlü antioksidan potansiyelini açıklayan rezonans stabilize bir fenoksi radikalini kolayca oluşturur. FA'ya terapötik açıdan bakıldığında, serbest radikal oluşumu, antioksidasyon ve antiinflamasyon üzerindeki yararlı etkileri, güçlü bir antioksidan olarak önemli bir rol oynamasını sağlayan ROS oluşumunu engelleyerek hareket eder. FA'nın iyileştirici veya tedavi edici özelliği öncelikle kimyasal yapısını oluşturan aromatik halkaya bitişik hidroksil ve metoksi gruplarına bağlıdır (55, 115, 147, 148).

FA'nın antioksidan ve antiapoptotik mekanizmalarla *in vivo* iskemi reperfüzyonunun neden olduğu bozulmuş öğrenme ve hafızaya karşı koruyucu etkiler gösterdiği gösterilmiştir. Ayrıca, Alzheimer hastalığı modeli oluşturulmuş fareye oral FA tedavisi, β-sekretazı modüle ederek amiloidojenik amiloid β-protein öncüsü metabolizmasını azaltır. Bu da FA'nın Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı umut verici bir bileşik olduğunu düşündürmektedir (89, 115) Yukarıdaki biyoaktivitelere ek olarak, FA'nın antioksidan etkisi kanser, kardiyovasküler hastalık ve diyabet dahil olmak üzere çeşitli akut ve kronik patolojilere karşı doğrulanmıştır. Çeşitli çalışmalar, FA'nın uygun bir ilaç dağıtım sistemine kapsüllenmesinin, düşük çözünürlük ve düşük stabilite nedeniyle FA biyoaktivitelerini artırdığını bildirmiştir. Carbone ve çalışma arkadaşları, FA ve Lavandula esansiyel yağlarının birlikte verilmesinin iyileşmede hücre

proliferasyonunu ve göçünü desteklediğini göstermiştir. Çalışmalar, FA'nın bol miktarda farmakolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Kanseri, kardiyovasküler hastalıklar, inflamasyon, diyabet, nörolojik bozukluklar, karaciğer yaralanmaları, akciğer yaralanmaları, tümörler gibi birçok hastalıklar üzerinde terapötik etkisi olduğu gösterilmiştir. FA'nın çok çeşitli hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için terapötik potansiyele sahip olduğu açık olsa da ilgili ayrıntılı moleküler mekanizmalar iyi anlaşılmamıştır (139).

Ayrıca FA, insülin duyarlılığını ve lipid profillerini iyileştirme, kan basıncını düşürme, mezenterik arterlerin vasküler yeniden şekillenmesini önleme ve vasküler fonksiyonu geliştirme üzerinde faydalı etkilere sahiptir (139). Yapılan bir çalışmada, FA'nın hücre içi ROS'u, proapoptotik proteinleri, SMAC/Diablo ve Bad proteinlerini azaltıp MAPK sinyal yolunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, FA'nın oksidatif hasardan kaynaklanan nörodejeneratif hastalıklar için potansiyel bir terapötik aday olarak umut verici olduğunu ve bu konuda daha fazla araştırmanın teşvik edilmesi gerektiğini göstermektedir (95).



Şekil 11. Ferulik asidin diğer faktörlerin aracılık ettiği karaciğer hasarında çok hedefli rolü (118).

Kısaltmalar: FA, Ferulik asit; CCL4, karbon tetraklorür; LPS, lipopolisakkarit; Con A, concanavalin A; TGF-β, Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 1; PIP2, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat; PTEN, Fosfataz ve Tensin Homologu; PIP3, Fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfat; PI3K, Fosfatidilinositol-4,5-Bisfosfat 3-Kinaz; AKT, Protein Kinaz B; IKK, Nükleer Faktör Kappa B Kinaz İnhibitörü; IκB, Nükleer Faktör Kappa B Kinaz İnhibitörü; GSK-3β, Glikojen Sentaz Kinaz 3 Beta; SP1, Sp1 Transkripsiyon Faktörü; Nox4, NADPH Oksidaz 4; P22phox, Sitokrom B-245 Alfa Zinciri; MAPK, Mitojenle Aktive Olan Protein Kinaz; NO, Nitrik Oksit; EDRF, Alfa Hemoglobin Stabilize Edici Protein; eNOS, Nitrik Oksit Sentaz 3; Nrf2, NFE2 Benzeri BZIP Transkripsiyon Faktörü 2; HO-1, Heme Oksijenaz 1.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Bu çalışmada, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi (ACU-DEHAM)’nden temin edilen genç yetişkin (7 haftalık) 200-250 g ağırlığında 40 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Deneysel çalışma öncesi Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu’ndan onay alındı (HDK-2022/75).

3.1.1 Deney grupları

Bu çalışmada, genç yetişkin (7 haftalık) Wistar albino erkek sıçanlar (n=40, 200-250 gr) kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edebilmek için, çalışma gruplarında ihtiyaç duyulan sıçan sayısı %80 güç, 0,05 istatistiksel anlamlılık ve 0,6 etki büyüklüğünde ANOVA güç analizi kullanılarak hesaplanmış ve toplam 5 gruptan meydana gelen çalışma için her grupta 8 adet sıçan olması gerektiği belirlenmiştir (14). Sıçanlar deney süresi boyunca $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, standart aydınlık/karanlık (12/12 saat) döngüsü olan laboratuvar ortamında (Acıbadem Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı) tutuldu. Sıçanlar rastgele 5 gruba (n:8/grup) ayrıldı. Deney grubundaki tüm sıçanlara standart sıçan yemi ve çeşme suyu ad libitum verildi.

Bu çalışmadaki deney grupları şu şekildedir:

1.Kontrol (K) grubu (n:8): Bu gruptaki sıçanlara 38 gün boyunca 1 ml distile su oral gavaj yöntemi ile günde bir defa olmak üzere deney süresi boyunca her gün verildi.

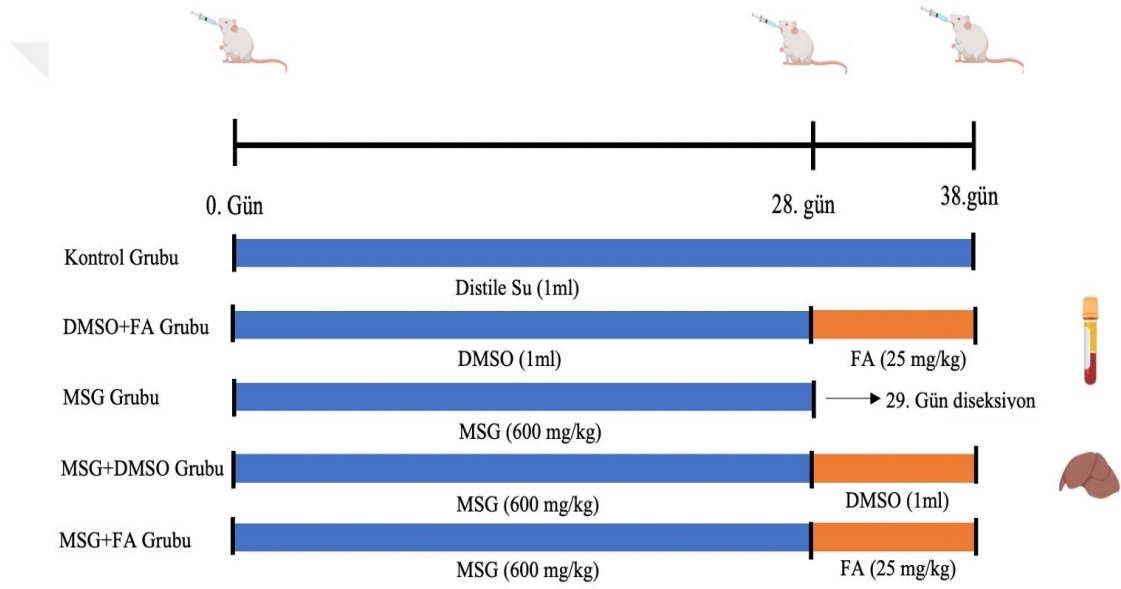
2. Ferulik Asit (FA) grubu (n:8): Bu gruptaki sıçanlara deneyin ilk 28 günü 1 ml dimetil sülfoksit (DMSO) solüsyonu oral gavaj yöntemi ile verildi. Deneyin son 10 gününde ise FA solüsyonu günde bir defa 25 mg/kg dozunda oral gavaj yöntemi ile verildi (58, 136).

3.Monosodyum Glutamat Grubu (MSG) grubu (n:8): Bu gruptaki sıçanlara MSG ile karaciğer hasarı oluşturmak amacıyla 28 gün boyunca günde bir kez MSG solüsyonu 600 mg/kg dozunda oral gavaj yöntemi ile verildi (8,12).

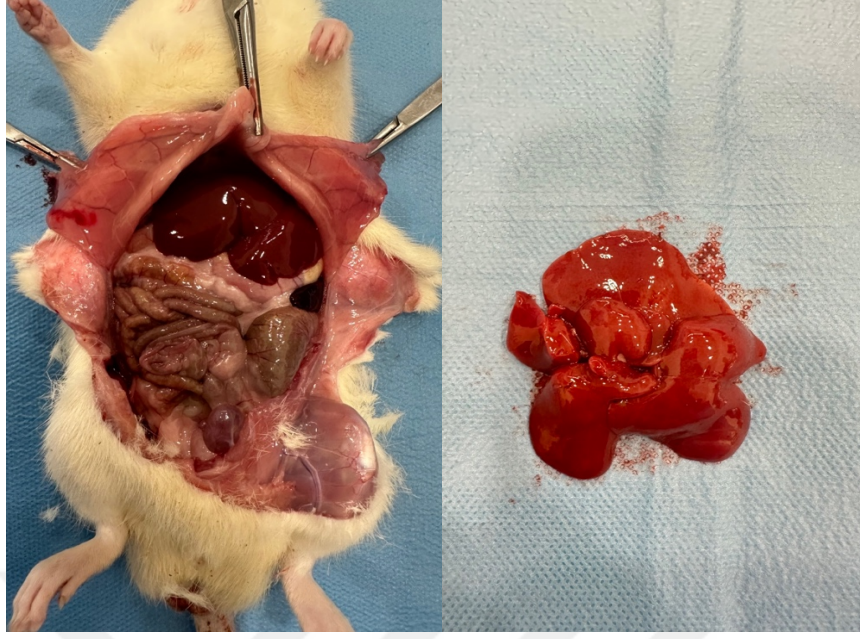
4.MSG+DMSO grubu (n:8): Bu gruptaki sıçanlara deneyin ilk 28 günü günde bir kez MSG solüsyonu 600 mg/kg dozunda oral gavaj yöntemi ile verildi. Deneyin son 10 gününde ise DMSO günde bir defa oral gavaj yöntemi ile verildi (8, 12).

5. MSG+FA grubu (n:8): Bu gruptaki sıçanlara deneyin ilk 28 günü günde bir defa MSG solüsyonu 600 mg/kg dozunda oral gavaj yöntemi ile verildi. Deneyin son 10 gününde ise FA 25 mg/kg dozunda olmak üzere günde bir defa oral gavaj yöntemi ile verildi (12, 58).

Tablo 1. Deney hayvanları gavaj uygulaması.



29. günde ve 39. günde ketamin (9 cc/kg) ve ksilazin (7 cc/kg) derin anestezisi altında sakrifiye edilen sıçanlardan alınan karaciğer doku örnekleri histokimyasal, immünohistokimyasal ve geçirimli elektron mikroskopik düzeyde incelenmek üzere hazırlandı. Karaciğer doku örnekleri ve kalpten alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için kullanıldı.



Resim 1. Diseksiyonu yapılan bir sıçan görüntüsü ve karaciğer dokusu.

3.2 Yöntem

3.2.1 Işık mikroskopik düzeyde doku preparasyonu

Deney hayvanlarından alınan karaciğer dokuları %10'luk tamponlu formalin (Katalog No: HT501128, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) solüsyonunda fiksasyon edildi. 72 saat fiksasyon sonrası dokular bir gece çeşme suyunda bekletildikten sonra aşağıdaki tabloda belirtilen basamaklara göre doku takip işlemi gerçekleştirildi (Thermo Citadel 2000, Massachusetts, U.S.A.) (63, 76).

Deney gruplarına ait karaciğer doku örnekleri belirtilen doku takibi aşamalarının akabinde parafin bloklar içerisine gömüldü (Thermo Histostar, Massachusetts, U.S.A.). Daha sonra parafin doku bloklarından rotary mikrotom (Thermo-Shandon™ Finesse™ ME+-Massachusetts, U.S.A.) ile 5 µm kalınlığında elde edilen kesitler histolojik boyamalar için lamaların üzerine alındı.

Tablo 2. Karaciğer dokusuna uygulanan histolojik doku takip basamakları.

Basamak	Süre
%70 etil alkol	1 saat 30 dakika
%80 etil alkol	1 saat 30 dakika
%90 etil alkol	1 saat 30 dakika
%96 etil alkol	1 saat 30 dakika
%100 etil alkol	1 saat 30 dakika
%100 etil alkol	1 saat 30 dakika
Ksilen	1 saat
Ksilen	1 saat
Parafin	12 saat
Parafin	3 saat

Kesitlere, karaciğerde genel histolojik değerlendirme yapmak amacıyla hematoksilen-eozin ve kollajen lif içeriği açısından değerlendirmeye yönelik Masson'un trikrom boyası uygulandı. Ayrıca doku kesitlerinde glikojeni göstermek amacı ile Periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu uygulandı. Boyanmış olan kesitler doku hasarının derecesini belirlemeye yönelik olarak hepatositlerde steatoz ve vakuolizasyon, sitoplazmada glikojen içeriği, parankimada iltihabi hücre infiltrasyonu ve bağ dokusu dağılımı bazında değerlendirildi. Hematoksilen-eozin ile boyanmış olan karaciğer kesitlerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler (hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidlerde genişleme, lökosit infiltrasyonu) 0 ile 3 arasında (0; hasar yok, 1; hafif derecede hasar, 2; orta derecede hasar, 3; şiddetli hasar) maksimum skor 9 olacak şekilde skorlandı. Periodic acid-Schiff reaksiyonu uygulanmış olan karaciğer kesitlerinde hepatositlerdeki glikojen boyanma yoğunluğu kantitatif olarak Image J (1.44 software, National Institutes of Health) programı kullanılarak hesaplandı.

3.2.3. Hematoksilen ve eozin (H&E) boyaması

Karaciğer doku kesitleri içeren lamalar genel histolojik değerlendirme için öncelikle 40 dakika boyunca ksilende bekletilerek parafin uzaklaştırıldı. Ardından dokuların su almasını sağlamak için azalan etil alkol serilerinde (%100, %90, %70) 10'ar dakika bekletildi. Distile sudan geçirildikten sonra kesitler %70 alkol'e daldırıp çıkartıldı. Daha sonra karaciğer dokuları 10 dakika boyunca hematoksilen solüsyonunda (J.T Baker, Pensilvanya, U.S.A.) bekletildi. Bu aşamayı takiben 7 dakika boyunca akarsu (çeşme suyu) altında tutuldu. Sonrasında 1 dakika %70 etil alkol uygulaması sonrası karaciğer doku kesitleri eozinde (HistoplusTM) 5 dakika bekletilerek boyandı. Ardından kesitler sırasıyla birer dakika süreyle %70, %90, ve %100 olmak üzere yükselen konsantrasyonda etil alkol serisinde bekletilerek sudan arındırıldı. En son aşamada 2 kere 1'er dakika ksilende tutulan doku kesitlerinin şeffaflandırılması sonrası, lamalar kapatma solüsyonu olan entellan ile kapatılıp ışık mikroskopunda inceleme yapıldı (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) (14).

3.2.4 Masson'un trikrom boyası

Karaciğer dokusundaki lif içeriğini/dağılımını tespit etmek amacıyla Masson'un trikrom boyası uygulandı. İlk aşama olarak karaciğer doku kesitleri 40 dakika süre boyunca ksilende bekletilerek parafinin uzaklaşması sağlandı. Sonrasında doku kesitleri 10 dakikalık periyotlarla azalan konsantrasyonda etil alkol serilerinde (%100, %90, %70) bekletilip distile suda çalkalandı. Kesitler 1 saat boyunca 56°C'de Bouin solüsyonu içerisinde etüvde bekletildi. Ardından akarsu altında 10 dakika bekletilen kesitler sonra Weighert demirli hematoksilen (Merck, New York, U.S.A.) solüsyonunda 10 dakika bekletildi. Tekrardan akarsuda 10 dakika yıkanan kesitler distile suda çalkalanıp Beibrich Scarlet-asit fuksin solüsyonunda tutuldu. Distile suda çalkalanan kesitler Fosfomolibdik asit-Fosfotungistik asit (Katalog No: 79560, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) solüsyonunda 10 dakika süreyle bekletildi. Takiben distile suda yıkama olmaksızın direkt olarak kesitler 5 dakika anilin mavisi (Katalog No: B8563, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) solüsyonunda tutuldu. Sonrasında kesitler distile suda çalkalandıktan sonra 2 dakika %1'lik asetik asit (Katalog No: 33209, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) solüsyonunda

bekletildi. Bütün basamaklar tamamlandıktan sonra kesitler distile su ve ardından yükselen konsantrasyonda etanol serisinden geçirildi. En son aşamada kesitler ksilenden geçirildikten sonra kapatma solüsyonu olan entellan ile kapatılıp ışık mikroskobunda inceleme yapıldı (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) (14).

3.2.5 Periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu

Karaciğer hepatositlerin sitoplazmasındaki glikojen içeriğini değerlendirmek için dokulara PAS reaksiyonu uygulandı. Lamlara alınan kesitler 30 dakika boyunca ksilende bekletilerek parafin uzaklaştırıldı. Takiben 5'er dakika boyunca azalan konsantrasyonda etil alkol serilerinden (%100, %90, %70) geçirilen kesitler distile suda çalkalandıktan sonra periyodik asitte (Katalog No:8222880100, Merck, New York, U.S.A.) 20 dakika tutuldu. Sonrasında 5 dakika boyunca kesitler akarsuda bekletilip distile suda çalkalandı. Ardından kesitler Schiff reaktifinde 20 dakika tutulup 12 dakika boyunca sülfüroz asit solüsyonunda (Merck, New York, U.S.A.) bekletildi. Karaciğer doku kesitleri akarsu altında 5 dakika bekletilip distile suda çalkalandıktan sonra dokudaki suyu uzaklaştırmak için yükselen konsantrasyonda etil alkol serisine (%70, %90, %100) alındı. Şeffaflandırma işlemi için 3 dakika boyunca 2 kere ksilende bekletilen kesitler entellan kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Akabinde kesitler ışık mikroskobunda incelendi (Zeiss A1 Axio Scope, Germany) (14).

3.2.6 eNOS immünfloresan boyaması

%4'lük paraformaldehit (PFA) (Katalog No: 1040051000, Merck, New York, U.S.A.) ile 1 gün fikse edilmeyi takiben rutin doku takibi aşamalarından geçerek parafine gömülen karaciğer doku örneklerinden rotary mikrotom (Thermo-Shandon™ Finesse™ ME+-Massachusetts, U.S.A.) ile ardışık olarak 5 µm kalınlığında lisanli lamlara kesit alındı. Alınan kesitler 20 dakika ksilende bekletilerek azalan konsantrasyonda etil alkol serilerinden (%100, %90, %70) geçirildi. Daha sonra kesitler mikrodalga fırınında ısıtılmış sitrat tamponu içerisinde ısıtıldı ve 30 dakika boyunca soğumaya bırakıldı. Plastik şale içerisine konulan sitrat tamponu mikrodalga ile ısıtıldı ve kesitler 20 dakika boyunca tamponun buharında bekletilerek 15 dakika boyunca soğumaya bırakıldı. Bir sonraki basamakta distile su ile 2 kere 5 dakika

olacak şekilde yıkama yapıldı. Kesitlerin distile su ile yıkama işleminden sonra spesifik olarak bağlanmayı önlemek için kesitler %10 tamponlu keçi serumunda (Life Technologies, U.S.A.) 1 saat boyunca inkübe edildi. Ardından Anti-eNOS (Ab-1177) NOS3 primer antikoru (Katalog No: A01604-1, Boster Bio, Pleasanton CA, U.S.A) uygulanarak +4 °C’de nemli ortamda 1 gece boyunca inkübe edildi. Daha sonra kesitler PBS solüsyonu ile 3 kere 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Oda sıcaklığında 1 saat boyunca floresan işaretli keçi anti-tavşan sekonder antikorunda (1:1000) (Katalog No: A32740, Invitrogen, U.S.A.) kesitler bekletildi. Tekrardan PBS solüsyonu ile 3 kere 5 dakika olacak şekilde yıkama yapıldı. Kesitlere 4’6-Diamidino-2-fenilidol (DAPI) içeren gliserollü kapatma solüsyonu (Katalog No: AR1176, Boster Bio, Pleasanton CA, U.S.A) damlatılarak 5 dakika bekletildi. DAPI uygulaması sonrası yıkama için 3 kere 5 dakika olacak şekilde PBS kullanıldı. Son olarak floromount (Katalog No:0100-35, Southern Biotech, Birmingham, AL, U.S.A) kullanılarak kapatma işlemi yapılarak kesitler konfokal mikroskobu (Zeiss LSM 700, Oberkochen, Germany)) ile incelendi. Image J (1.44 software, National Institutes of Health) programı kullanılarak elde edilen görüntülerdeki ışıma yoğunluğu hesaplandı (81, 110, 141).

3.2.7 Biyokimyasal incelemeler

Malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD), toplam antioksidan kapasite (TAS), toplam oksidan kapasite (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri biyokimyasal yöntemleri kullanılarak karaciğer dokusunda ölçüldü. Deney hayvanlarına ait serum örneklerinde ise aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkali fosfataz (ALP) ve total bilirubin (TBLB) düzeyleri ölçüldü.

3.2.7.1 Karaciğer dokusu biyokimyasal analizleri

3.2.7.1.1 Doku malondialdehit (MDA) seviyelerinin ölçülmesi

Oksidan hasarın bir göstergesi olan MDA düzeyini ölçmek için doku örnekleri, ağırlıklarının 10 katına denk gelen miktarda %10’luk triklorik asit (TCA) solüsyonu

ile homojenizasyonu takiben 3,000 devir ve +4 °C’de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrılıp 10,000 devirde 8 dakika daha santrifüje edildi. $1.56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı kullanılarak lipid peroksidasyon düzeyi MDA cinsinden spektrofotometrik ölçümle ifade edildi. Tüm ölçümler gram doku başına nanomol olarak ifade edildi (nmol/g). Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı (21).

3.2.7.1.2 Doku glutatyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi

Doku örnekleri ağırlıklarının 10 katına denk gelen miktarda %10’luk TCA eklenerek her bir tüp 30 saniye boyunca homojenize edildikten sonra 3.000 rpm’de ve +4 °C’de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar her birinden 2 ml olacak şekilde plastik tüplere nakledilerek bir kez daha 9.000 rpm’de 8 dakika santrifüj edildi. Doku homojenatları uzun cam tüplere 250 µl aktararak üzerlerine 1000 µl Na_2HPO_4 ve 125 µl DTNB eklenecek. Ardından tüpler 10 dakika boyunca karanlık ortamda folyo ile sarısı şekilde oda ısısında bekletilerek elde edilen renk değişimi spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen absorbans dokudaki endojen antioksidan GSH miktarı düzeyi olarak µmol/g olarak ifade edildi. Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı (21).

3.2.7.1.3 Doku süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü

Bu incelemede, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali oluşturulması baz alınmıştır. Süperoksit radikallerinin 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazdiyum klorür (I.N.T.) ile reaksiyona girerek kırmızı formazan rengi oluşturmasını takiben, doku örneğinin reaksiyondaki inhibisyon derecesi ile SOD aktivitesi ölçülür. Bu amaçla, otomatik cihaz tarafından Reaktif 1’den 150 µl alındı. Daha sonra örnekten 5 µl alındı. Akabinde küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 340 nm yapıldı. Bir sonraki aşamada Reaktif 2’den 45 µl karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra ikinci okumada 340 nm’de absorbansın ölçülmesiyle SOD düzeyleri belirlendi. Tüm doku örnekleri Relassay marka ticari kit (Relassay, Turkey) ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı (35).

Tablo 3. Doku süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1'a	Karışık Substrat
Ksantin (I.N.T.)	0,05 mmol/l- 0,025 mmol/l
Reaktif 1b	Tampon Çözeltisi
CAPS EDTA	40 mmol/l, ph 10.2 0,94 mmol/l
Reaktif 2	1 mmol / L
Ksantin Oksidaz	Sulandırma (10 ml distile su ile)

3.2.7.1.4. Total antioksidan kapasite (TAS) ve total oksidan kapasite (TOS) seviyelerinin ölçülmesi

TAS ve TOS düzeylerinin tespit edilmesindeki çalışma prensibi, numunedeki oksidanların ferrik iyonla tümleşik ferröz iyon-şelatör kompleksini oksitlemesine dayanmaktadır. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan çoğaltan moleküller ile uzar. Ferrik iyon asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturur. Spektrofotometrede ölçülen rengin koyuluğu numunedeki oksidan moleküllerinin toplam miktarını verir. Total antioksidan kapasitenin (TAS) ölçümü, Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey). Çalışma prensibi, numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal solüsyonunu, renksiz ABTS formuna çevirir. 660 nm absorbansdaki değişim total antioksidan miktarıyla ilişkilidir. Kitin kalibrasyonu E vitamini benzeri Trolox Equivalent adı verilen stabil antioksidan standardı ile yapıldı. Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl alındı. Numuneden 18 µl alınmayı takiben küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 660 nm yapıldı ve ardından reaktif 2'den 45 µl karıştırılıp inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660 nm'de absorbans ölçülmesiyle TAS düzeyleri belirlendi. Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı (34).

Tablo 4. Total antioksidan kapasitenin (TAS) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	Tampon Çözeltilisi
Asetat Tamponu	0.4 mol/L pH 5.8
Reaktif 2	Prokromojen Çözeltilisi
ABTS	30 mmol/L
Standard Trolox	1 mmol / L
Kalite Kontrol Seviye 1 Trolox	0.5 mmol / L
Kalite Kontrol Seviye 2 Trolox	2.0 mmol / L

Total oksidan kapasitenin (TOS) ölçümü, Relassay marka ticari kit ile yapıldı (Relassay, Turkey). Kitin kalibrasyonu hidrojen peroksit ile yapıldı ve sonuçlar litre başına düşen mikromol hidrojen peroksit olarak verildi ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv. /L). Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 μl alındı, numuneden 45 μl alındı ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530 nm yapıldı. Ardından reaktif 2'den 15 μl karıştırıldı ve inkübatörde 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530 nm'de absorbans ölçülmesiyle TOS düzeyleri belirlendi. Numuneler Relassay kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı (33).

Tablo 5. Total oksidan kapasitenin (TOS) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	Tampon Çözeltisi
H ₂ SO ₄	25 mM pH1.75
Reaktif 2	Substrat Çözeltisi
H ₂ SO ₄	25 mM pH1.75
Ferröz iyon	5 mM
O-dianisidine	10nM
Standard H ₂ O ₂	10 µmol/L
Kalite Kontrol Seviye 1 H ₂ O ₂	5 µmol/L
Kalite Kontrol Seviye 2 H ₂ O ₂	20 µmol/L

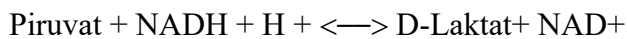
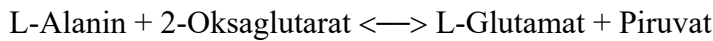
3.2.7.1.5 Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri

Oksidatif stresin bir belirteci olarak gösterilen oksidatif stres indeksi (OSİ), total oksidan kapasite (TOS), total antioksidan kapasite (TAS)'ye bölünerek hesaplanabilir. Oksidatif molekül artışına yanıt olarak antioksidan moleküllerin artışının gerçekleşmesi, oksidatif hasar yönünden sadece TOS ölçümü değerlendirmesini yanıltıcı hale getirebilmektedir. TOS/TAS oranındaki değişimin karşılaştırılması sayesinde, oksidatif hasar için yanıltıcı olabilecek antioksidan reaktif yanıt devreden çıkarılarak, doğru bir karşılaştırma mümkün olmaktadır TOS seviyelerinin TAS seviyelerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edilmiştir (48, 120).

3.2.8.2 Serumda biyokimyasal analizler

3.2.8.2.1 Serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin ölçülmesi

Serum alanin aminotransferaz (ALT) ölçümü Otto Scientific marka ticari kit ile yapıldı. Çalışma prensibi, alanin aminotransferaz enziminin L-Alanin ve 2-Oksaglutarat arasındaki transaminaz reaksiyonunu katalize etmesine dayanmaktadır. Oluşan piruvat, Laktat Dehidrogenaz (LDH) varlığında laktata indirgenir. NADH, NAD'a oksitlenir. Bu amaçla, birim zamanda NADH'nin azalma hızı 340 nm'de ölçüldü. Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 200 µl alındı. Daha sonra numuneden 25 µl alınmasını takiben küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 340 nm'de yapıldı. Akabinde Reaktif 2'den 50 µl karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra ikinci okuma 660 nm'de absorbans ölçülmesiyle ALT düzeyleri belirlendi. Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

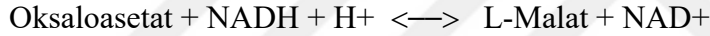
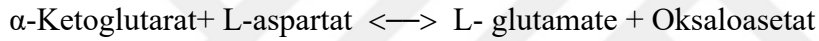


Tablo 6. Serum alanin aminotransferaz (ALT) ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	Tris Tampon Çözeltilisi
L-Alanin-LDH	500 mmol/l-1200 U/L
Reaktif 2	Substrat Çözeltilisi
NADH	0,18 mmol/l

2-Oksaglutarat	15 mmol/l
----------------	-----------

Serum aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin ölçümü Otto Scientific marka ticari kit ile yapıldı. Çalışma prensibi, AST bu denge reaksiyonunu katalize eden enzimdir. Oksaloasetat artışı, malat dehidrogenaz (MDH) tarafından katalize edilerek ölçülür. 2. reaksiyonda NADH, NAD'a oksitlenir. NADH'deki azalma orano spektrofotometrik olarak ölçülür. Oksaloasetat oluşum hızıyla ve dolayısıyla AST aktivitesiyle doğru orantılıdır. Ölçüme yönelik olarak, otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 200 µl alındı. Akabinde numuneden 25 µl alındı, daha sonra küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 340 nm'de yapıldı ardından Reaktif 2'den 50 µl karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra ikinci okuma 660 nm' de absorbans ölçülmesiyle AST düzeyleri belirlendi. Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.



Tablo 7. Serum aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	Tris Tampon Çözeltilisi
L-Aspartat-MDH	200 mmol/l-600 U/L
Reaktif 2	Substrat Çözeltilisi
NADH	0,18 mmol/l
α -Ketoglutarat	12 mmol/l

3.2.8.2.2 Serum alkali fosfataz (ALP) aktivitesinin ölçülmesi

Serum alkali fosfataz (ALP) aktivitesinin ölçümü Otto Scientific marka ticari kit ile yapıldı. Çalışma prensibi, Mg ve Z iyonlarının varlığında p-nitrofenil fosfatın, fosfatazlar tarafından hidrolize edilerek fosfat ve p-nitrofenol oluşturulmasına dayanmaktadır. Bu reaksiyonda AMP, geçici fosfat alıcısı olarak görev yapar. Renkli p-nitrofenolün salınımı ALP aktivitesi ile doğru orantılıdır. Bu amaçla, otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 200 µl alındı. Daha sonra numuneden 5 µl alındı ve ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 405 nm'de yapıldı ardından Reaktif 2'den 50 µl karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra ikinci okuma 700 nm'de absorbans ölçülmesiyle ALP düzeyleri belirlendi. Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışıldı.

Tablo 8. Serum alkali fosfataz (ALP) aktivitesinin ölçümü için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	AMP Tampon Çözeltilisi
Magnezyum asetat	2mmol/l
Zinc sülfat	0.5 mmol/l
EDTA	
Reaktif 2	Substrat Çözeltilisi
Pnitrofenilfosfat	50 mmol/l

3.2.8.2.3 Serum total bilirubin (TBLB) seviyelerinin ölçülmesi

Total bilirubin (TBLB) konsantrasyonu Otto Scientific marka ticari kullanılarak spektrofotometre yardımıyla (Mindray BS400) belirlendi. Bu ölçümlerin çalışma prensibi; kafein hızlandırıcının varlığında total bilirubinin sülfanilik asitle birleşmesine dayanmaktadır. Oluşan kırmızı azobilirubin boyasının renk yoğunluğu

bilirubin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Çalışma adımları sıralanacak olunursa; otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl alındı. Daha sonra, numuneden 15 µl alındı ve küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 510 nm'de yapıldı ardından Reaktif 2'den 75 µl karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra ikinci okuma 510nm'de absorbans ölçüldü ve TBLB düzeyleri belirlendi.

Tablo 9. Total bilirubin (TBLB) konsantrasyonu için örnek hazırlama tablosu.

Reaktif 1	AMP Tampon Çözeltilisi
Sulfanilik asit	29 mmol/l
HCL	0,17 mol/l
Reaktif 2	Substrat Çözeltilisi
Sodyum Nitrit	25 mmol/l

3.2.9 Geçirimli elektron mikroskopik düzeyde inceleme

Geçirimli elektron mikroskopik düzeyde inceleme için karaciğer doku örnekleri %2,5'lük 0,1 M PBS tamponlu (pH 7,2) glutaraldehit fiksatif (Katalog No: A0589, PanReach AppliChem, Chicago, IL, U.S.A.) içerisinde 4°C'de 4 saat süre ile fikse edildi. PBS tamponu ile yıkamadan sonra %1'lik osmiyum tetroksitle (Katalog No:19134, Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, U.S.A.) doku örneklerine 1 saat postfiksasyon uygulandı. Örnekler, yükselen konsantrasyonda etil alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildikten sonra saf propilen oksitten (Katalog No:82320, Sigma Aldrich, Burlington, MA, U.S.A.) geçirilerek 60°C'deki etüvde Epon 812'ye gömüldü. Ultramikrotomda alınan yarı ince kesitlerin (1 µm) toluidin mavisi boyası ile boyanması sonrası, yer tayini yapılmasını takiben bakır gridler üzerine alınan yaklaşık 60 nm kalınlığındaki ince kesitler *uranylless* solüsyonu ile (Katalog No:22409, EMS, Hatfield, PA, U.S.A.) ile

kontrastlandı. Kontrastlama sonrası kesitler, geçirimli elektron mikroskopunda (Thermo Fischer Scientific TALOS L 120 C, The Netherlands) incelendi.

3.2.10 İstatistiksel analiz

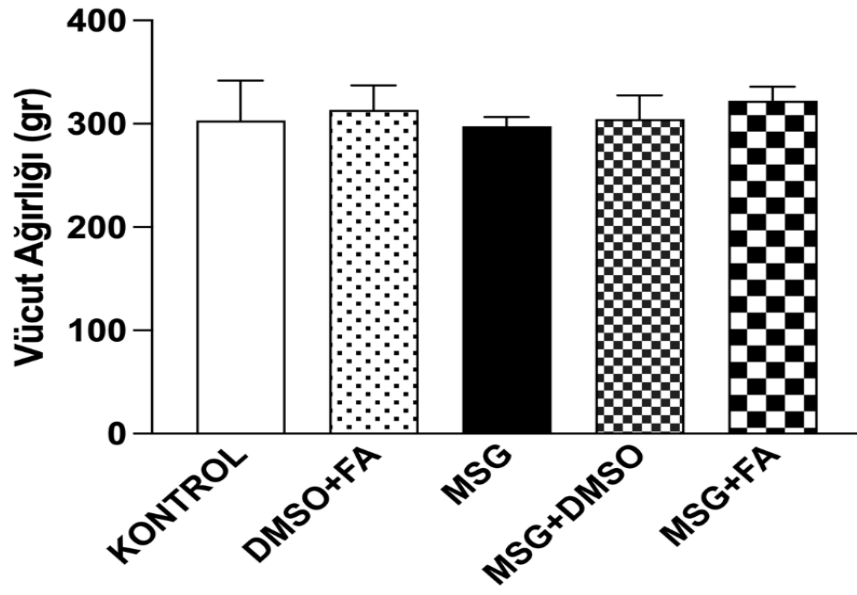
İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) uygulaması kullanıldı. Tüm veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Parametrelerin değerlendirilmesinde tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ve Student t testi kullanılıp $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4 BULGULAR

4.1 Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlıkları (g) ve Rölatif Karaciğer Ağırlıklarının (g) Değerlendirilmesi

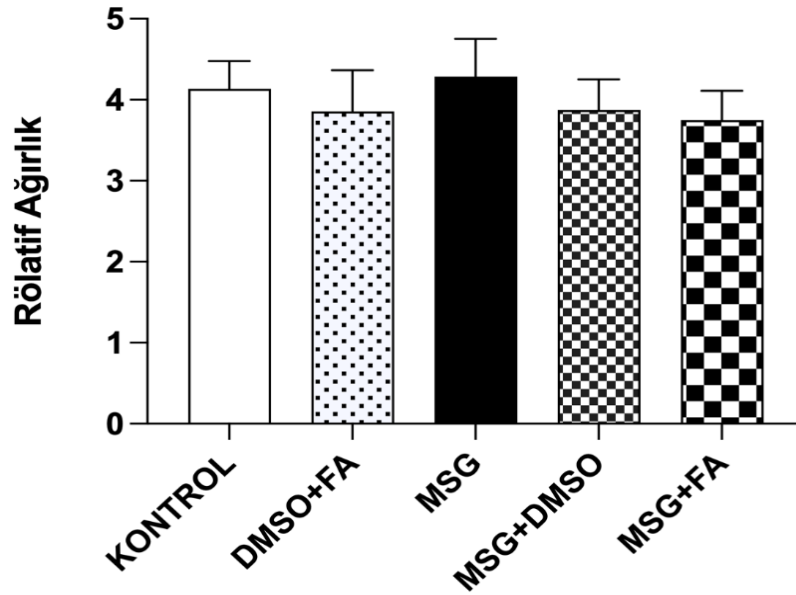
Deney gruplarına ait sıçanların vücut ağırlık değişimlerini saptamak için deney süresince her gün vücut ağırlığı ölçümleri yapılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanların ortalama ağırlığı $303,2 \pm 14,63$ g olarak belirlenirken sıçan ağırlıkları DMSO+FA grubunda $313,4 \pm 8,45$ g, MSG grubunda $297,6 \pm 3,33$ g, MSG+DMSO grubunda $304,4 \pm 7,69$ g, MSG+FA grubunda ise $322,1 \pm 5,16$ g olarak belirlendi. MSG, DMSO+FA ve MSG+FA gruplarındaki deney hayvanlarının ağırlıkları Kontrol grubundaki hayvanların ağırlıkları ile karşılaştırıldığında deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmedi (Şekil 12).

Deney gruplarına ait sıçanların karaciğer ağırlıkları da değerlendirmeye alınarak rölatif karaciğer ağırlıkları hesaplanmıştır. Rölatif ağırlık şu şekilde hesaplanmıştır: Karaciğer Ağırlığı $\times 100$ /Vücut Ağırlığı (83) Kontrol grubundaki sıçanların rölatif ağırlığı $4,13 \pm 0,11$ g, DMSO+FA grubunda $3,85 \pm 10,16$ g, MSG grubunda $4,28 \pm 0,17$ g, MSG+DMSO grubunda $3,87 \pm 0,13$, MSG+FA grubunda ise $3,74 \pm 0,12$ g olarak belirlendi. Bütün deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Şekil 13).



Şekil 12. Deney gruplarındaki sıçanların vücut ağırlıklarının değişimi.

Deney grupları arasında hayvan ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 13. Deney gruplarındaki sıçanların rölatif karaciğer ağırlıklarının değişimi.

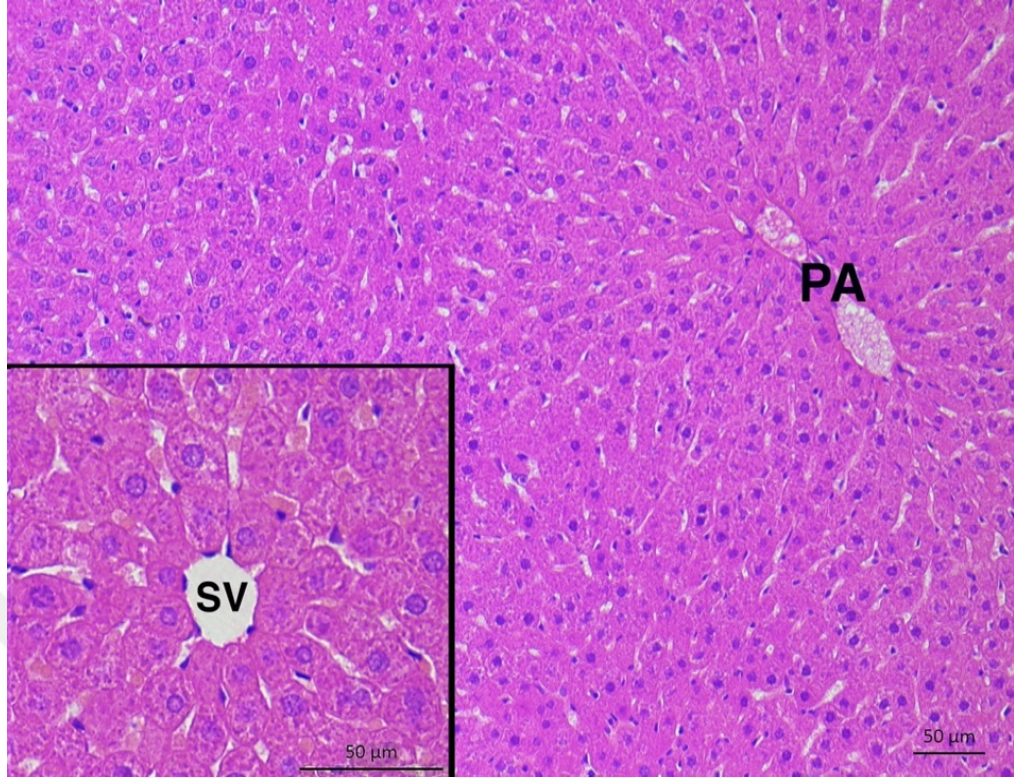
4.2 Morfolojik Bulgular

Her deney grubundan alınan karaciğer doku kesitleri ışık mikroskopik düzeyde incelendi. Bu incelemeler sonucunda; H&E boyalı Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde normal karaciğer morfolojisi gözlemlendi. Kesitlerde hepatositlerin merkezdeki santral venler etrafından ışınal yayılım göstererek hepatosit kordonları oluşturduğu görüldü. Hepatosit kordonlarının aralarında bulunan sinüzoidlerin normal histolojik yapıda olduğu belirlendi. Hepatositler bir ya da iki adet olmak üzere büyük ve yuvarlak çekirdeklere sahip olup, eozinofilik sitoplazmaları mevcuttu (Resim 2). DMSO+FA grubuna ait kesitlerde, Kontrol grubuna benzer olarak santral venler etrafında düzenli olarak yerleşen hepatosit kordonları gözlemlendi (Resim 3). Kontrol grubu ile MSG grubu kıyaslandığında hepatositlerde yoğun dejenerasyon ve vakuolizasyon izlenirken sinüzoidal alanlarda genişleme olduğu gözlemlendi. Ek olarak periportal alanda lökosit infiltrasyonu ve tüm parankimada vazokonjesyon gözlemlendi (Resim 4). MSG+DMSO grubunda, MSG grubuna benzer olarak karaciğer parankimasında hepatositlerde vakuolizasyon, genişlemiş sinüzoidlerde vazokonjesyon ve parankimada lökosit infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 5). Tedavi grubu olan MSG+FA grubunda ise MSG grubu ile karşılaştırıldığında parankimada normale yakın bir morfoloji izlenirken, hepatositlerde dejeneratif bulguların ve parankimadaki lökosit infiltrasyonunun oldukça azaldığı gözlemlendi (Resim 6). Tüm gruplara ait bu morfolojik bulgular yapılmış olan histopatolojik skorlamaya da yansdı. Tüm deney gruplarının histopatolojik skorlama değerleri Kontrol grubunda $0,62 \pm 0,18$, DMSO+FA grubunda $2,00 \pm 0,35$, MSG grubunda $6,66 \pm 0,42$ ve MSG+DMSO grubunda $7,00 \pm 0,40$, MSG+FA grubunda $2,71 \pm 0,65$ olarak belirlendi. MSG ve MSG+DMSO grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik skor istatistiksel olarak arttığı (sırasıyla ^{***} $p < 0,001$, ⁺⁺⁺ $p < 0,001$) gözlemlendi. MSG+FA grubu ile MSG grubu karşılaştırıldığında ise histopatolojik skorun istatistiksel anlamda azaldığı (^{***} $p < 0,001$) gözlemlendi (Şekil 14).

Doku kesitlerine karaciğer parankimasında bulunan bağ dokusu ve kollajen liflerin dağılımını belirlemek için Masson'un trikom boyası uygulandı. Kontrol grubunda periportal alanda ve santral ven çevresinde normal seviyede bağ dokusu

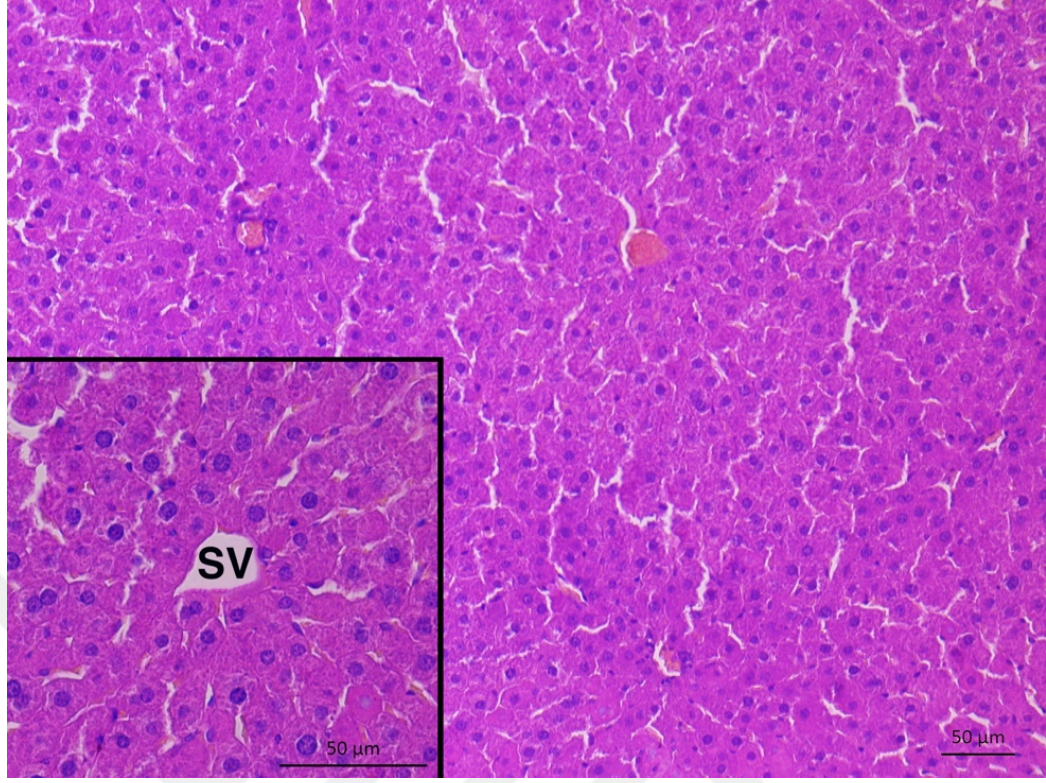
içeriği izlendi (Resim 7). DMSO+FA grubunda da Kontrol grubuna benzer şekilde bağ dokusu yapılanması (Resim 8) seyrederken, MSG grubunda özellikle periportal alanda ve santral ven çevresinde bağ dokusu içeriğinde yoğun artış gözlemlendi (Resim 9). MSG+DMSO grubuna ait kesitlerde de MSG grubuna benzer bir bağ dokusu yapılanması izlenirken (Resim 10), tedavi grubu olan MSG+FA grubunda periportal alanda ve santral ven çevresinde bağ dokusu içeriği MSG ve MSG+DMSO gruplarına kıyasla daha azalmıştı (Resim 11).

Hepatositlerde glikojen içeriğini belirlemek amacıyla yapılan PAS boyamasında Kontrol grubuna ait kesitlerde hepatosit sitoplazmalarında glikojen varlığının belirteci olan belirgin PAS-pozitif (+) reaksiyon gözlemlendi (Resim 12). DMSO+FA grubu kesitlerinde Kontrol grubuna yakın şekilde hepatosit sitoplazmalarında PAS+ reaksiyon mevcuttu (Resim 13). Hasar grubu olan MSG grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde hepatosit sitoplazmalarında PAS+ reaksiyonda belirgin olarak bir düşüş seyrettiği gözlemlendi (Resim 14). MSG+DMSO grubu PAS pozitivitesi açısından MSG grubuna benzer düzeyde azalmış bir reaksiyon şiddeti göstermekte idi (Resim 15). MSG+FA grubuna ait kesitlerde ise hepatosit sitoplazmalarında belirgin PAS+ reaksiyon gözlemlendi (Resim 16). PAS-pozitif reaksiyon yoğunluğu değerleri Kontrol grubunda 78111 ± 5111 , DMSO+FA grubunda 80254 ± 5254 , MSG grubunda 22217 ± 5217 , MSG+DMSO 25275 ± 5275 , MSG+FA grubunda 51222 ± 5222 olarak saptandı. MSG grubu, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PAS-pozitif reaksiyon yoğunluğunda istatistiksel olarak azalma (^{***} $p < 0,001$) gözlemlendi. Aynı zamanda MSG+DMSO grubu ile DMSO+FA grubu karşılaştırıldığında PAS-pozitif reaksiyon yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu (⁺⁺⁺ $p < 0,001$) gözlemlendi (Şekil 15).



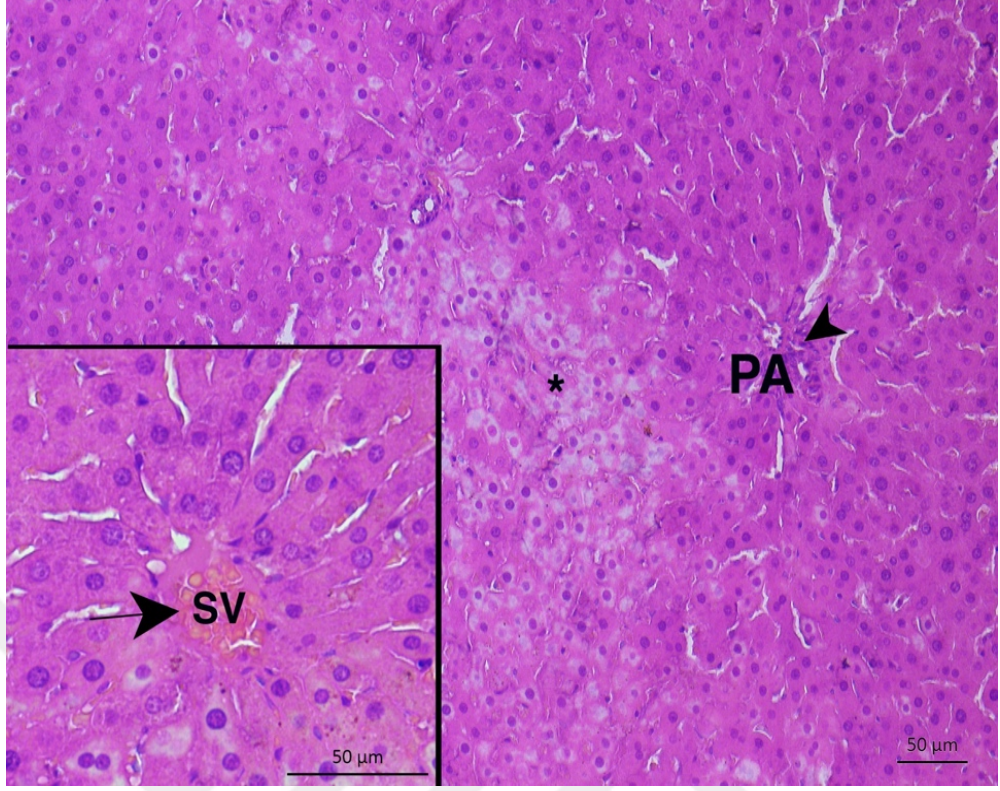
Resim 2. Kontrol grubuna ait ışık mikrofrafı.

Santral venden ışınsal olarak uzanan hepatosit kordonları ve aralarında sinüzoidal alanların yer aldığı normal bir karaciğer parankima yapısı görülmektedir. SV: Santral ven, PA: Periportal alan (H&E boyaması).



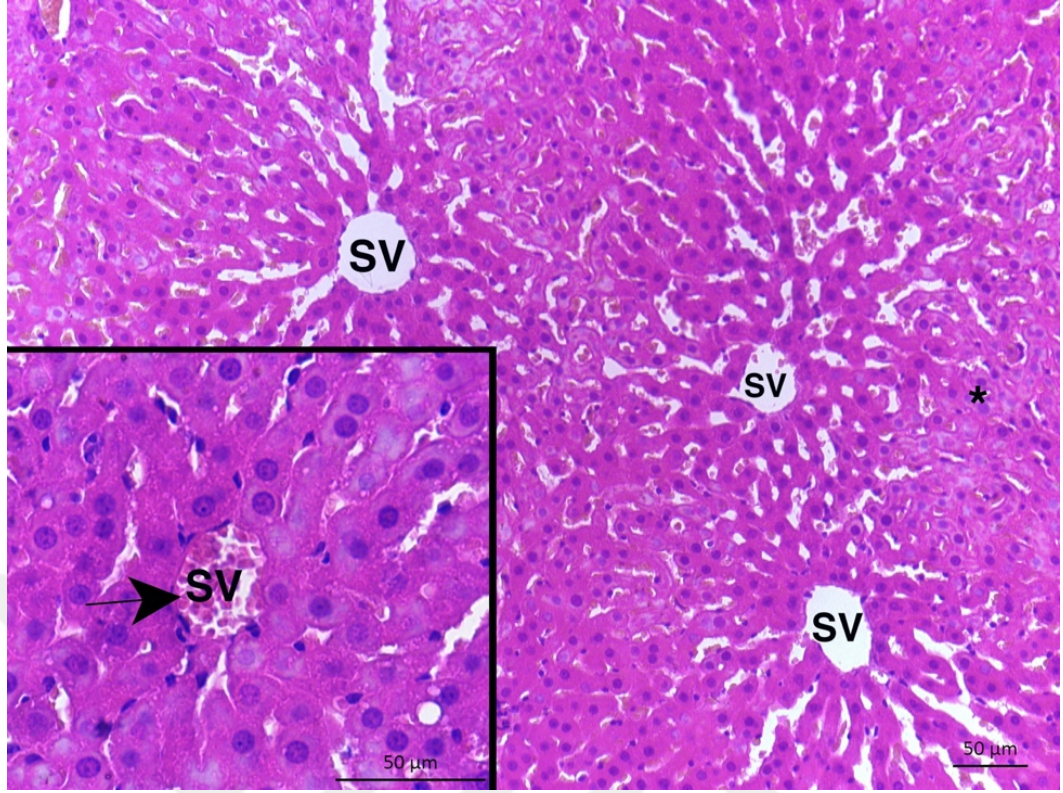
Resim 3. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrografı.

Karaciğer parankiması genel olarak normale yakın yapıyı yansıtmaktadır. SV: Santral ven (H&E boyaması).



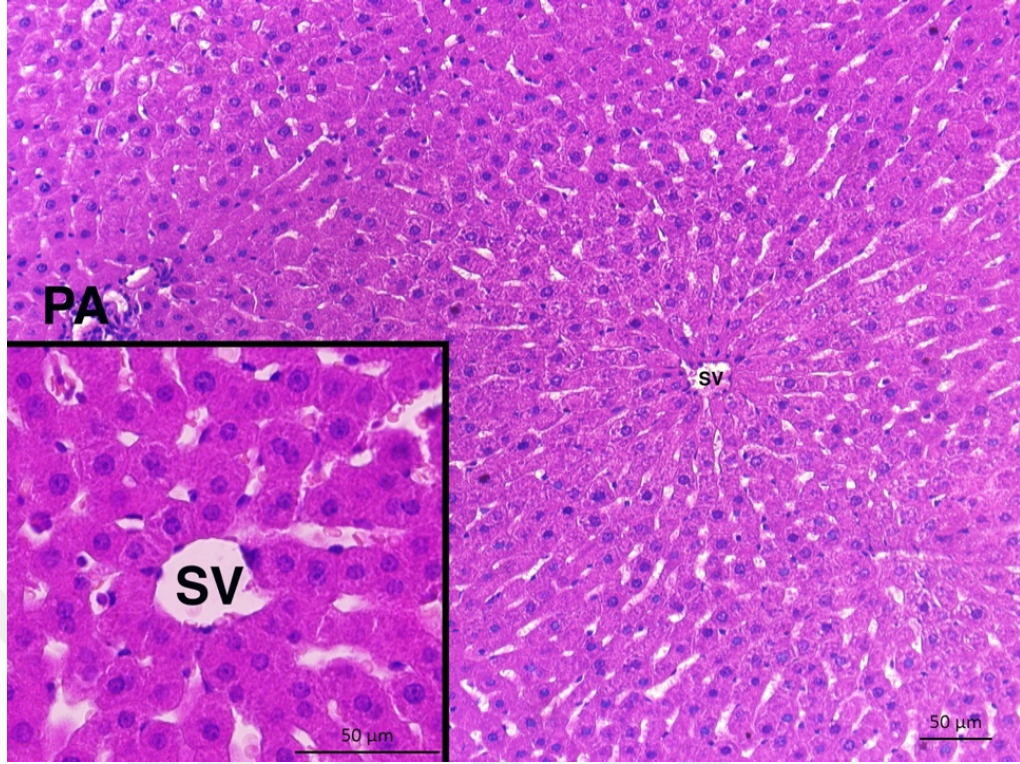
Resim 4. MSG grubuna ait ışık mikrofrafı.

Karaciğer parankimasında dejenere olmuş hepatositler (*), periportal alanda lökosit infiltrasyonu (▴), sinüzoidlerde genişleme izlenmektedir. İnset: Santral vende vazokonjesyon (→) görülmektedir. SV: Santral ven, PA: Periportal alan (H&E boyaması).



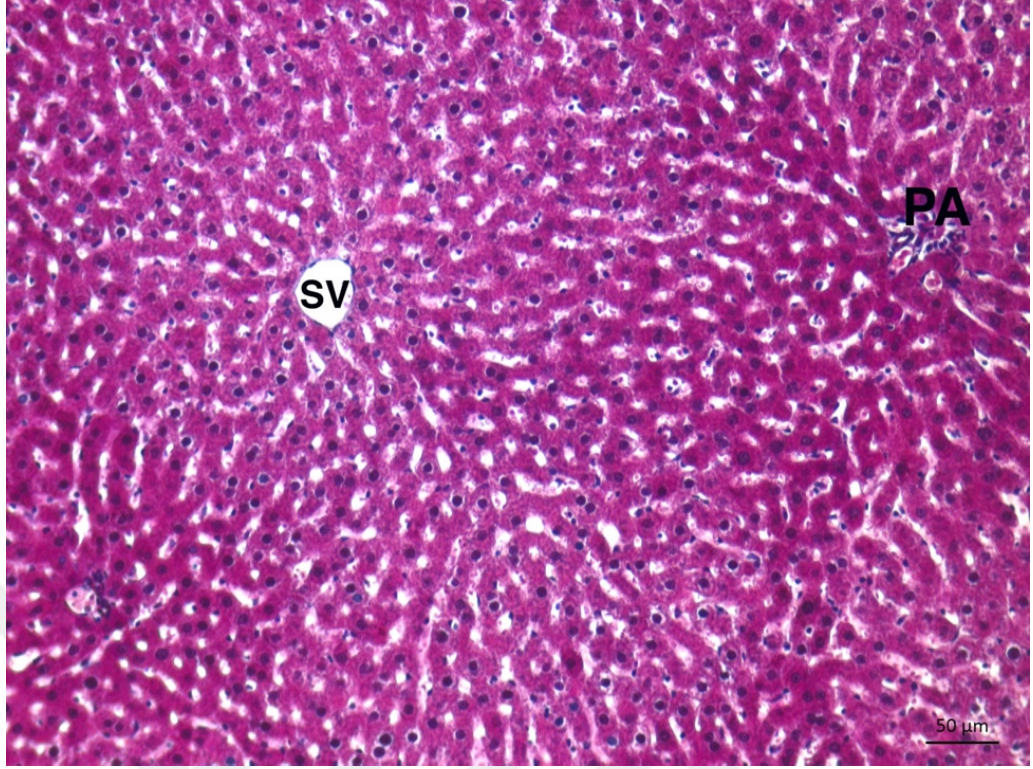
Resim 5. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrografı.

Karaciğer parankimasında ışınsal olarak dizilen hepatosit kordonlarında dejenerasyon (*), sinüzoidlerde genişleme görülmektedir. İnset: Santral vende vazokonjesyon (→) görülmektedir. SV: Santral ven (H&E boyaması).



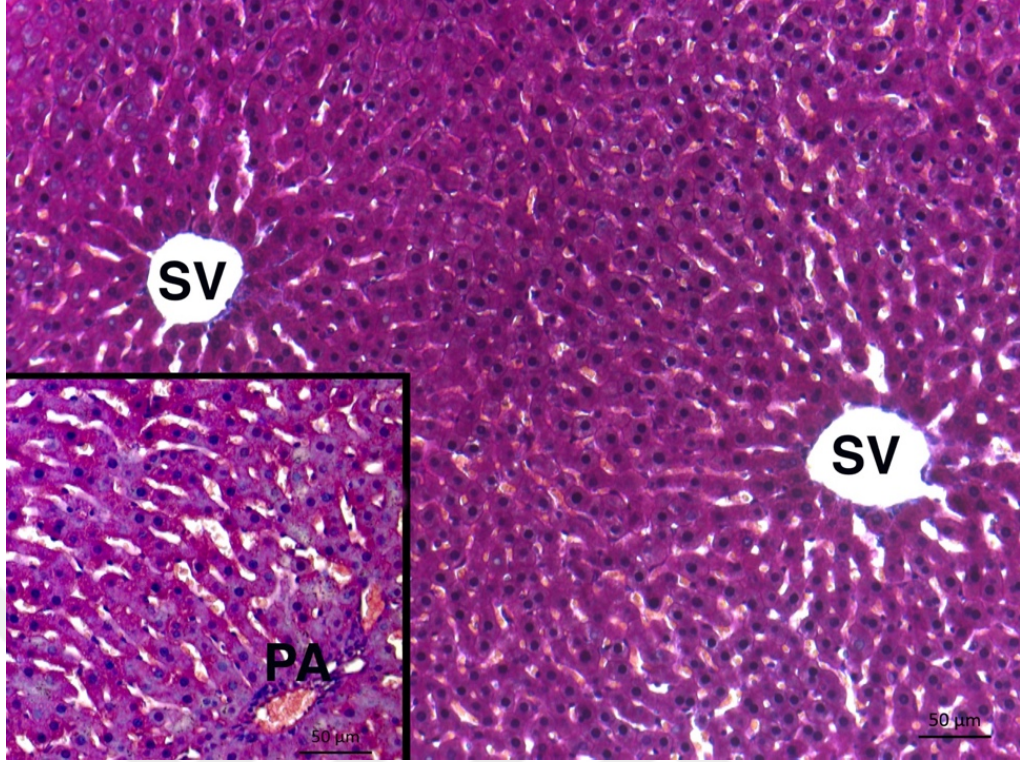
Resim 6. MSG+FA grubuna ait ışık mikrosafı.

Hepatositlerde yer yer vakuolizasyon eşliğinde dejeneratif bulgular izlenirken normale yakın bir karaciğer yapısı görölmektedir. İnset: Normal yapıyı yansıtan hepatosit kordonları ve sinüzoidler izlenmektedir. SV: Santral ven, PA: Peripoortal alan (H&E boyaması).



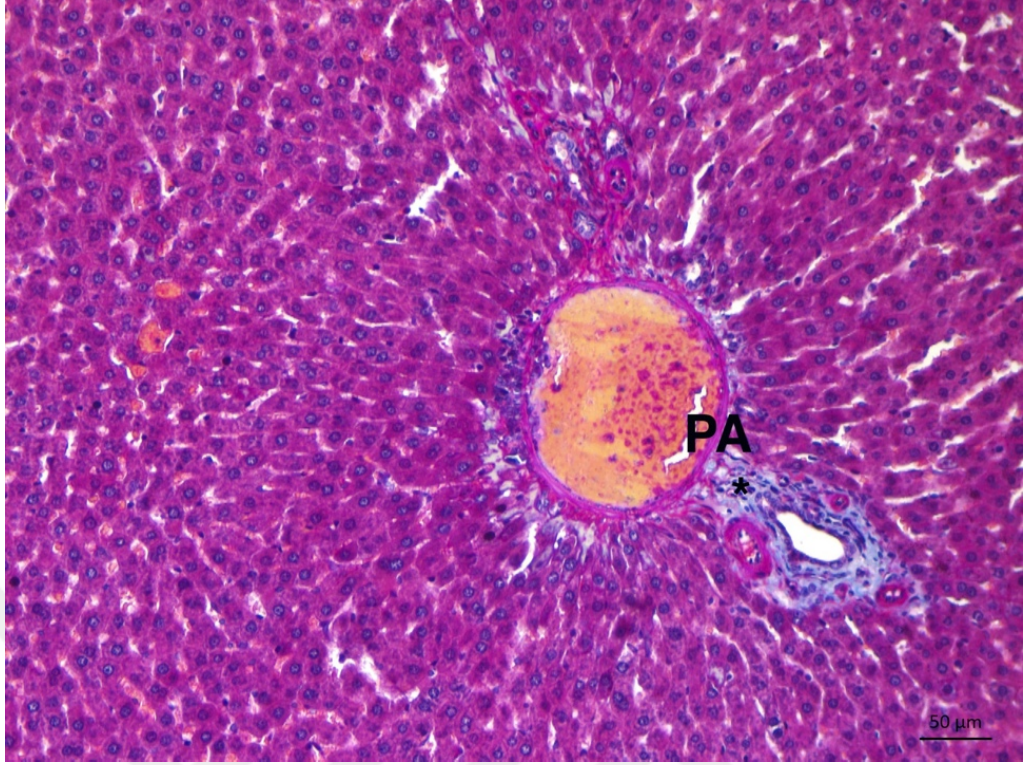
Resim 7. Kontrol grubuna ait ışık mikrofafi.

Karaciğer parankimasında normal bağ dokusu dağılımı gözlemlenmektedir. SV: Santral ven, PA: Periportal alan (Masson'un trikrom boyası).



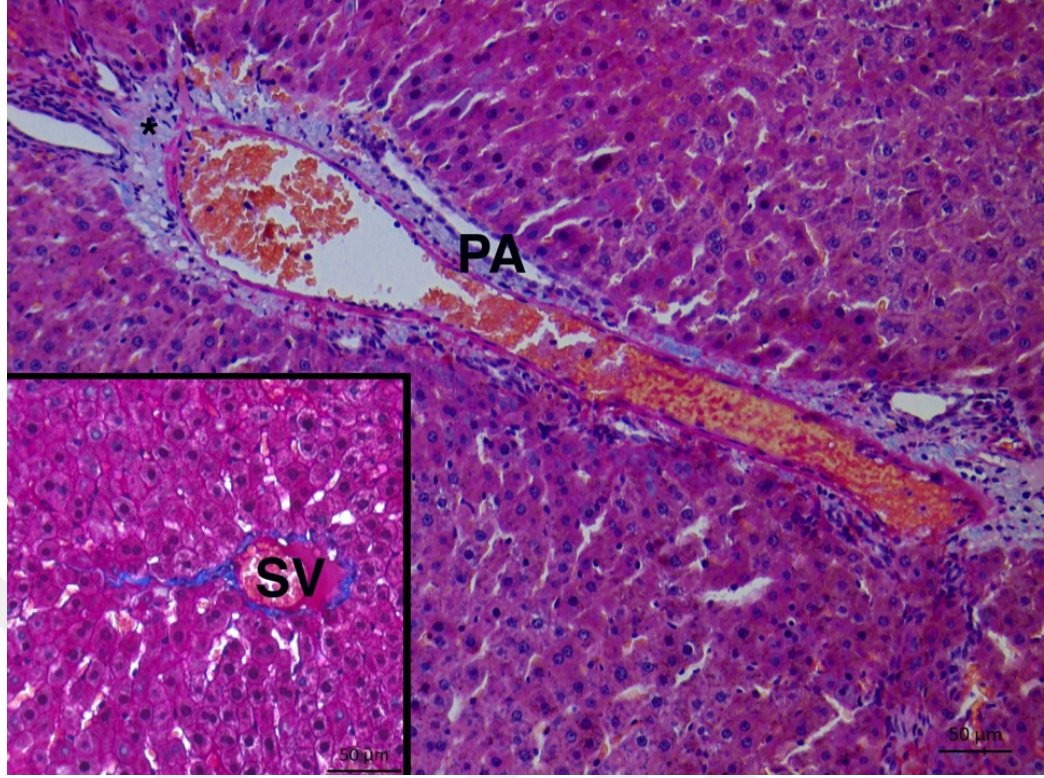
Resim 8. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrografı.

Karaciğer parankimasında Kontrol grubuna benzer düzeyde bağ dokusu dağılımı bulunmaktadır. SV: Santral ven, PA: Periportal alan (Masson'un trikrom boyası).



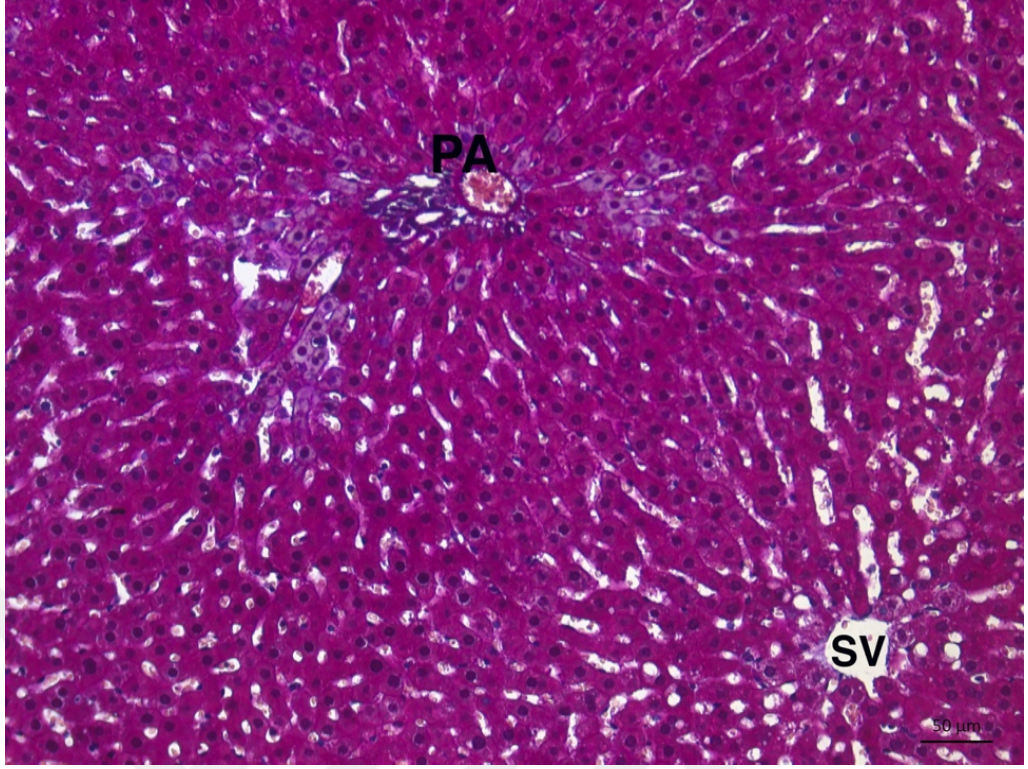
Resim 9. MSG grubuna ait ışık mikrofrafı.

Karaciğer parankimasında periportal alanda yoğun olarak bağ dokusu artışı görülmektedir. PA: Periportal alan (Masson'un trikrom boyası).



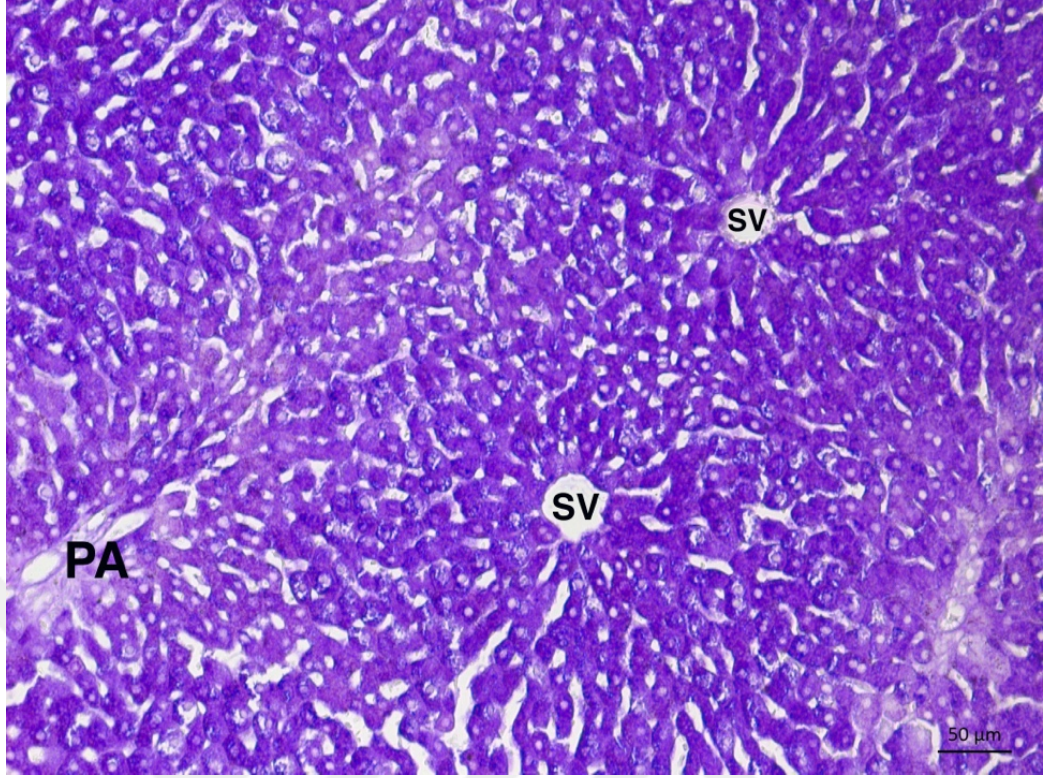
Resim 10. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrofrafı.

Karaciğer parankimasında periportal alanda yoğun bağ dokusu artışı görülmektedir. İnset: Santral ven çevresinde bağ dokusu artışı gözlenmektedir. PA: Periportal alan (Masson'un trikrom boyası).



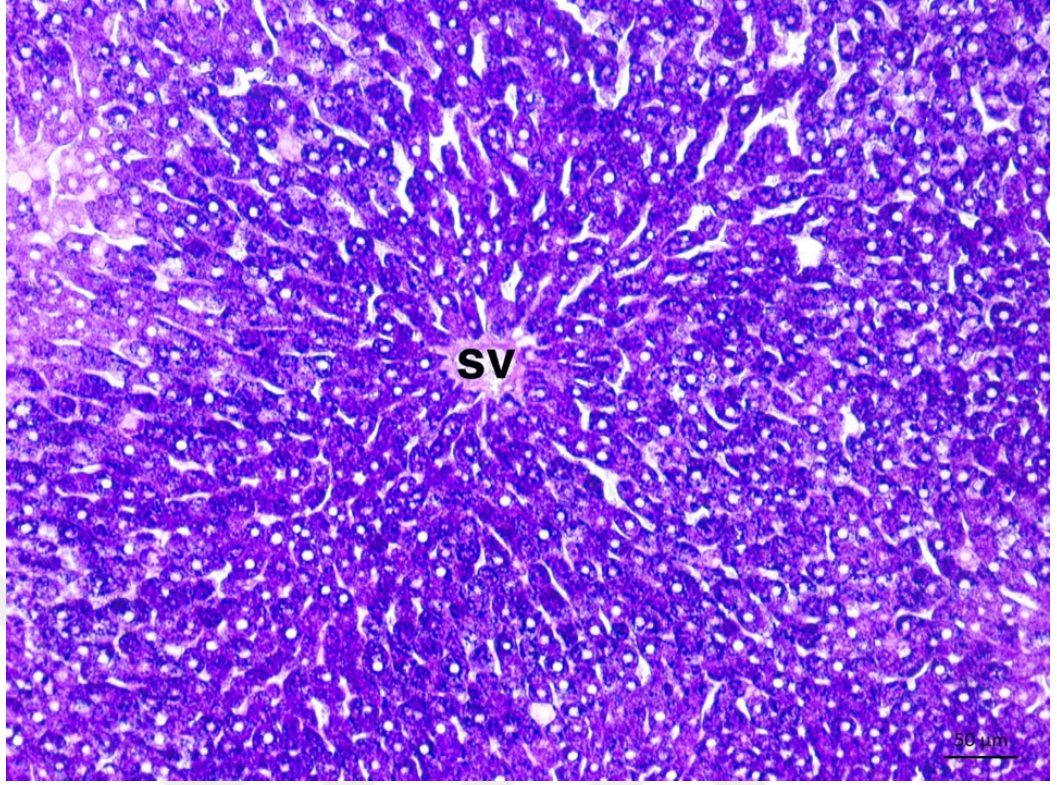
Resim 11. MSG+FA grubuna ait ışık mikrofrafı.

Santral ven ve portal alan çevresinde normale yakın düzeyde bir bağ dokusu dağılımı görülmektedir SV: Santral ven, PA: Periportal alan (Masson'un trikrom boyası).



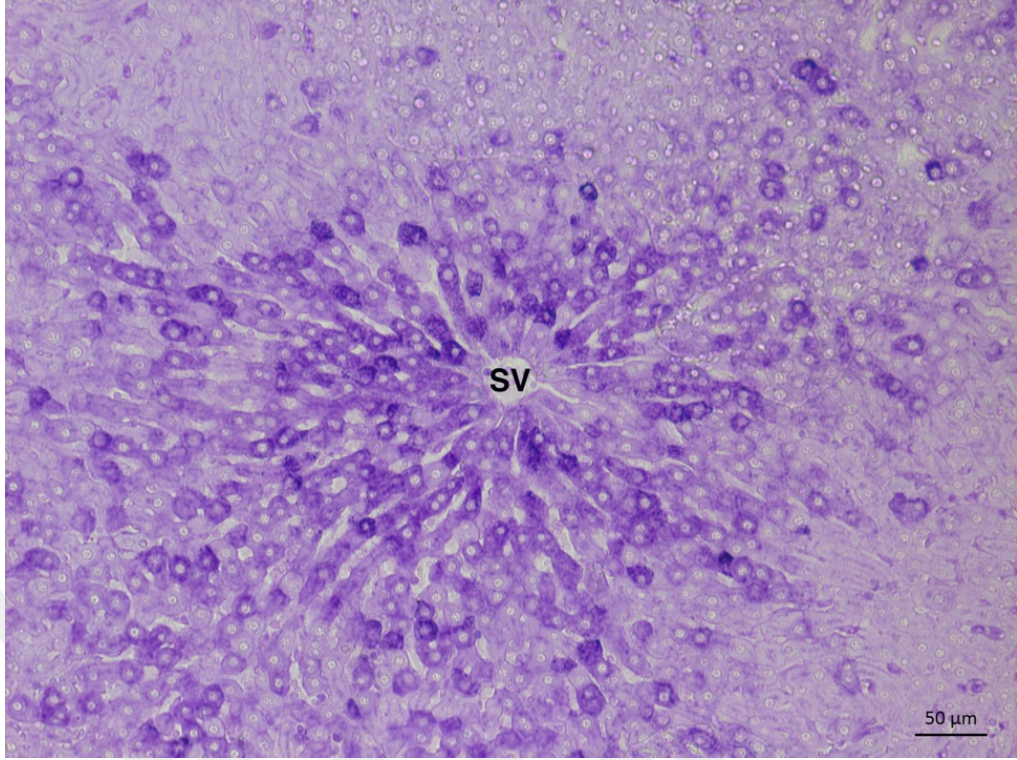
Resim 12. Kontrol grubuna ait ışık mikrofrafı.

Hepatositlerdeki yoğun glikojen içeriği eşliğinde belirgin PAS+ reaksiyon görülmektedir. SV: Santral ven, PA: Periportal alan (PAS reaksiyonu).



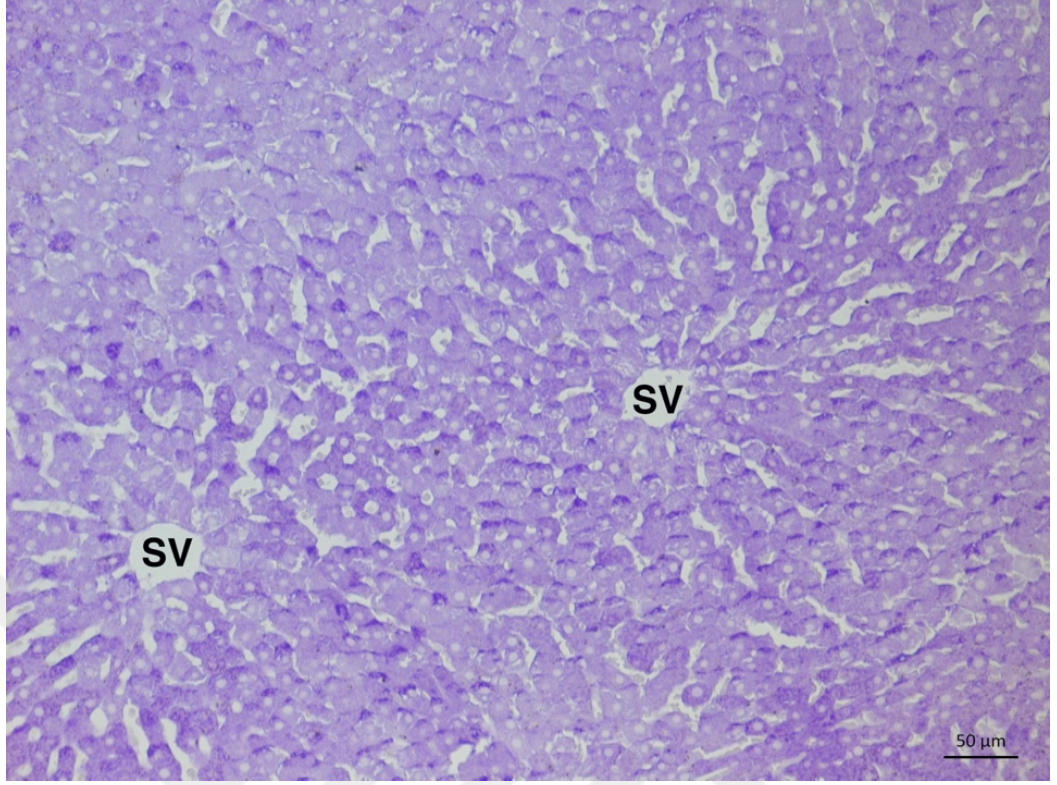
Resim 13. DMSO+FA grubuna ait ışık mikrofrafı.

Hepatositlerde normale yakın derecede glikojen glikojen içeriğini yansıtan PAS+ reaksiyon gözlemlenmektedir. SV: Santral ven (PAS reaksiyonu).



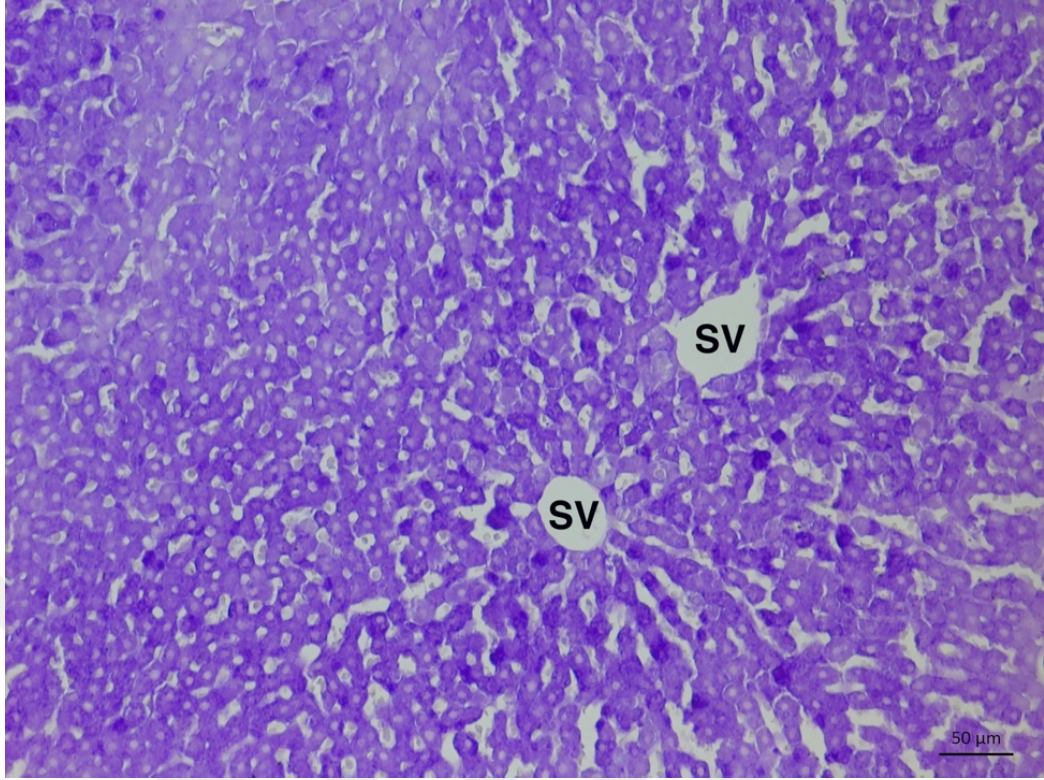
Resim 14. MSG grubuna ait ışık mikrografı.

Karaciğer parankimasında azalan şiddette PAS+ reaksiyonu eşliğinde hepatositlerde glikojen kaybı görülmektedir. SV: Santral ven (PAS reaksiyonu).



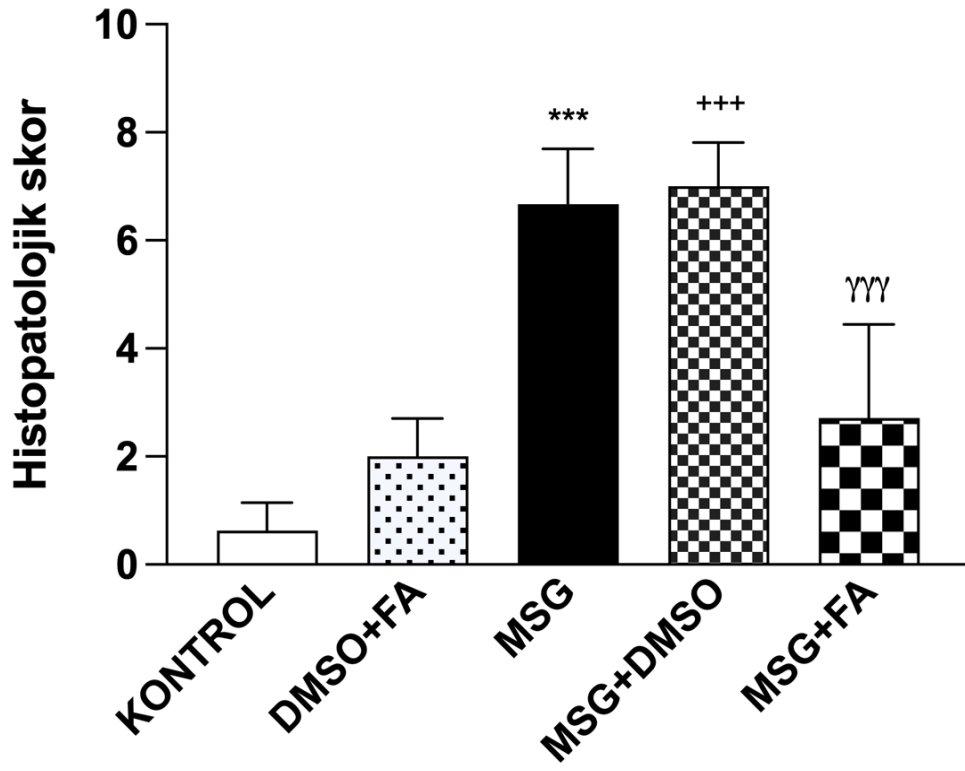
Resim 15. MSG+DMSO grubuna ait ışık mikrografı.

Hepatosit sitoplazmasındaki glikojen içeriğinin belirgin olarak azalmış olduğu azalan şiddette PAS+ reaksiyonu ile izlenmektedir. SV: Santral ven (PAS reaksiyonu).



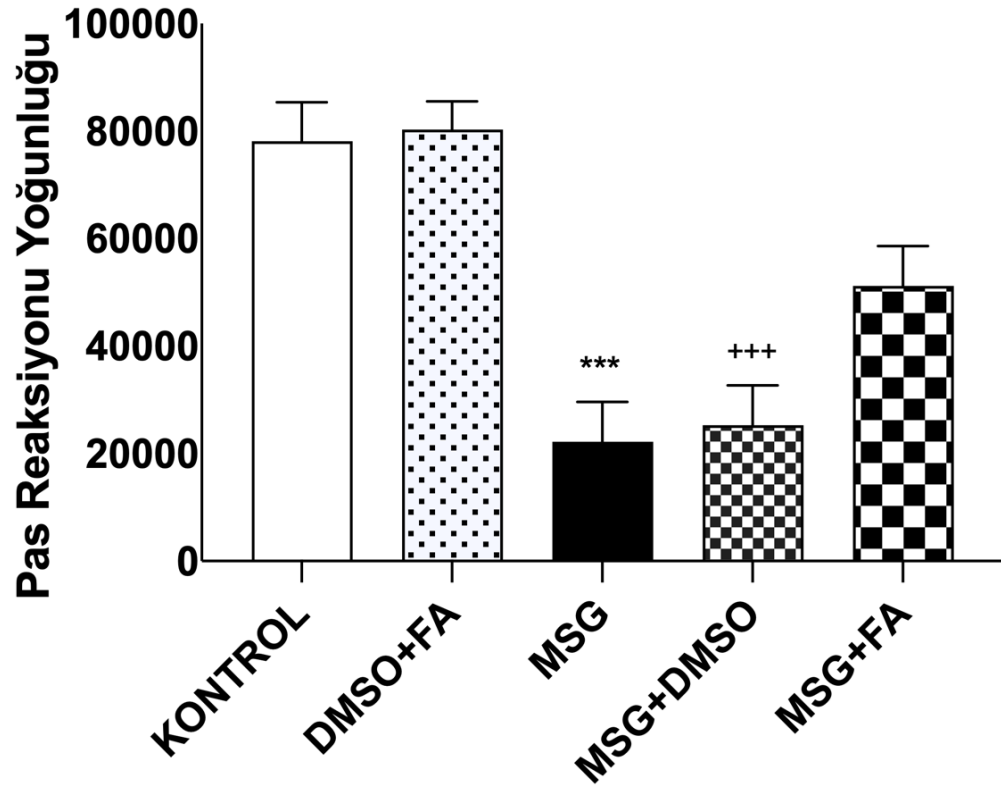
Resim 16. MSG+FA grubuna ait ışık mikrofrafı.

Hepatositlerde Kontrol grubuna yakın düzeydeki glikojen içeriği belirgin PAS+ reaksiyonu ile görülmektedir. SV: Santral ven (PAS reaksiyonu).



Şekil 14. Karaciğer dokusunun histopatolojik skor grafiği.

(***p < 0,001, ***p < 0,001 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. ***p < 0,001 MSG grubu ile karşılaştırıldığında.)

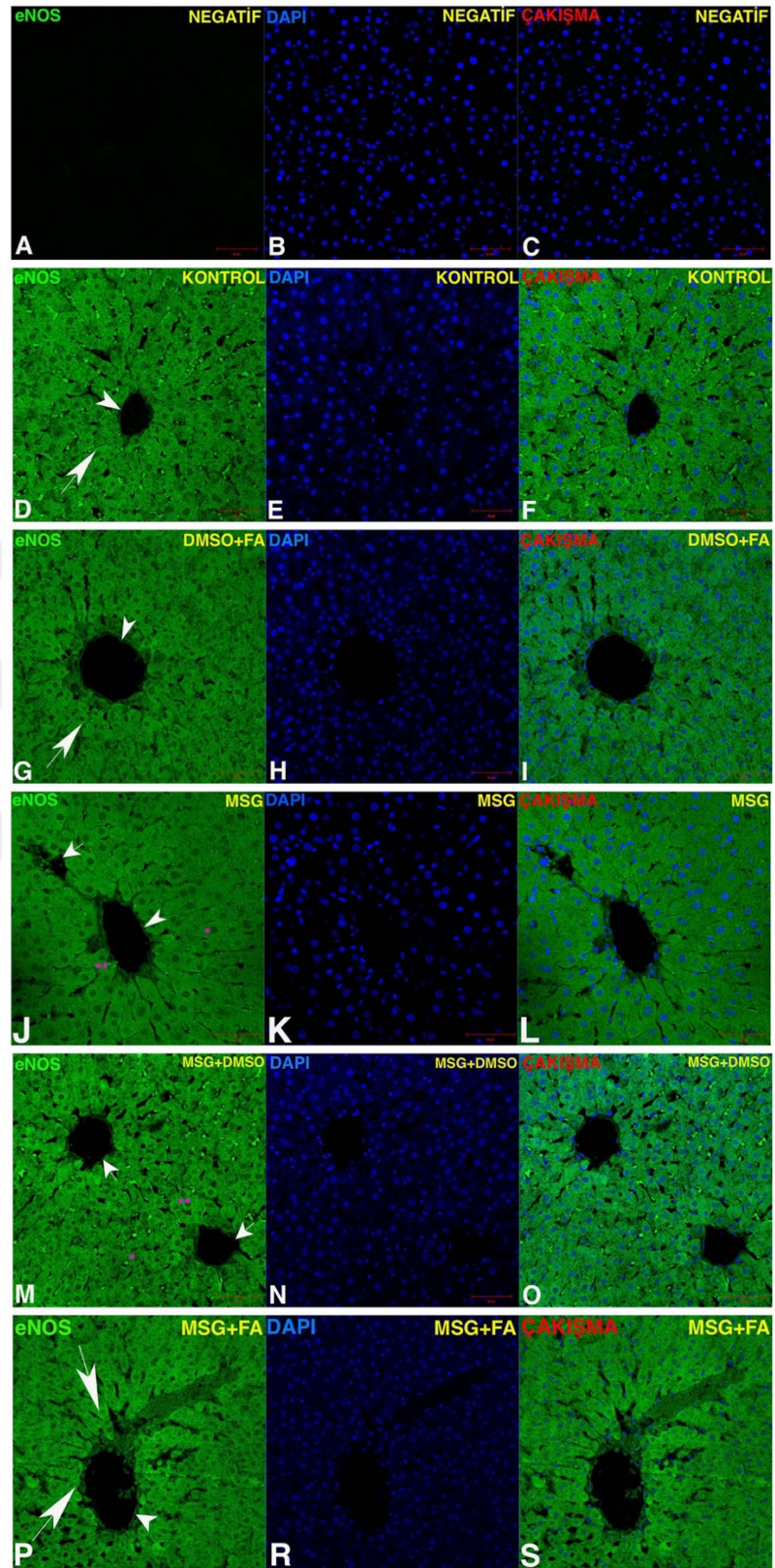


Şekil 15. PAS reaksiyonu yoğunluğu grafiği.

*** ($p < 0,001$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $+++$ $p < 0,001$ DMSO+FA grubu ile karşılaştırıldığında.)

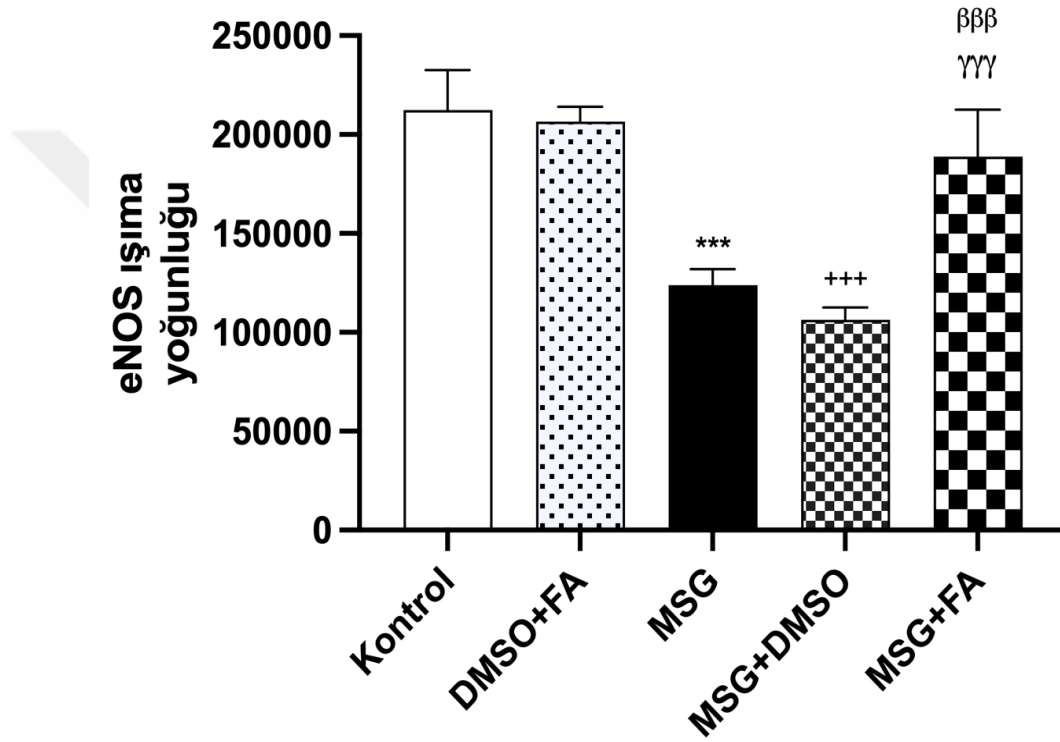
4.2 eNOS İmmünofloresan Boyaması Bulguları

Deney gruplarının karaciğer dokularındaki eNOS ekspresyon seviyeleri incelenerek karşılaştırılmıştır. eNOS ekspresyonu tüm kesitlerde karaciğer parankimasında hepatositlerde, santral ven ve damar endotelinde incelendi. Kontrol grubu, DMSO+FA grubu ile kıyaslandığında benzer düzeyde eNOS ekspresyon seviyeleri gözlenmiştir. Kontrol grubu ve DMSO+FA grubu ile MSG ve MSG+DMSO grubu eNOS ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında santral ven, portal ven ve hepatositlerde anlamlı bir düşüş gözlemlendi (sırasıyla ^{***} $p < 0,001$, ⁺⁺⁺ $p < 0,001$). MSG+FA grubu, MSG ve MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu (^{'''} $p < 0,001$, ^{βββ} $p < 0,001$) gözlemlendi.



Resim 17. Deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde eNOS immünfloresan ekspresyon yoğunluğunun karşılaştırılması.

Negatif Kontrol (A-C), Kontrol (D-F), DMSO+FA (G-I), MSG (J-L), MSG+DMSO (M-O), MSG+FA (P-S) gruplarında eNOS ışıması yeşil renkte, hepatosit nükleusları ise DAPI ile boyanarak mavi renkte gözlemlendi (Kısa ok: endotelde ekspresyonun gözlenmediği alan, uzun ok: hepatositlerdeki ekspresyon ►: endotelde ekspresyonun gözlemlendiği alan, *: hepatositlerde düşük eNOS ekspresyonu, **: hepatositlerde yüksek eNOS ekspresyonu).



Şekil 16. Deney gruplarına ait eNOS yoğunluğu grafiği.

*** ($p < 0,001$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $+++$ $p < 0,001$ DMSO+FA grubu ile karşılaştırıldığında. $\gamma\gamma\gamma$ $p < 0,001$ MSG grubu ile karşılaştırıldığında $\beta\beta\beta$ $p < 0,001$ MSG+DMSO ile karşılaştırıldığında)

4.5 Biyokimya Bulguları

4.5.1 Doku MDA ve GSH, SOD, TAS, TOS ve OSİ seviyeleri

Karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA seviyesi açısından incelendiğinde elde edilen değerler; Kontrol grubunda $87,88 \pm 2,36$ nmol/g, DMSO+FA grubunda $84,31 \pm 1,51$ nmol/g, MSG grubunda $119,9 \pm 10,78$ nmol/g, MSG+DMSO grubunda $144,6 \pm 16,68$ nmol/g, MSG+FA grubunda ise $108,1 \pm 5,85$ nmol/g idi. MSG ve MSG+DMSO grubu ile Kontrol ve DMSO+FA grupları ile karşılaştırıldığında MDA konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (sırasıyla * $p < 0,001$, *** $p < 0,001$). MSG+FA grubu MSG ve MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında ise MDA konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (⁺ $p < 0,05$) (Şekil 17).

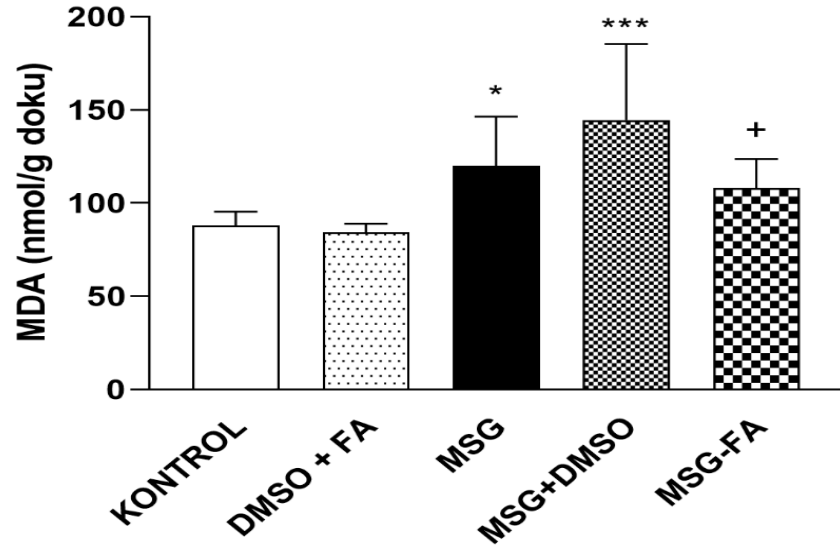
Karaciğer dokusunda endojen bir antioksidan olan glutatyon (GSH) konsantrasyon seviyeleri incelendiğinde elde edilen değerler; Kontrol grubunda $4,78 \pm 0,77$ μ mol/g, DMSO+FA grubunda $3,32 \pm 0,09$ μ mol/g, MSG grubunda $3,77 \pm 0,33$ μ mol/g, MSG+DMSO grubunda $3,77 \pm 0,11$ μ mol/g, MSG+FA grubunda ise $4,42 \pm 0,20$ μ mol/g idi. MSG+DMSO grubu ile Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında GSH konsantrasyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (** $p < 0,001$). MSG+FA grubu ile MSG+DMSO grubu karşılaştırıldığında ise GSH konsantrasyonu seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlendi (⁺⁺ $p < 0,01$) (Şekil 18).

Karaciğer dokusunda antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan SOD enzim konsantrasyonu seviyeleri incelendiğinde elde edilen değerler şu şekilde idi: Kontrol grubu $277,7 \pm 9,47$ U/ml protein, DMSO+FA grubu $184,7 \pm 9,93$ U/ml protein, MSG grubu $185,3 \pm 11,24$ U/ml protein, MSG+DMSO grubu $154,6 \pm 7,43$ U/ml, MSG+FA grubu $196,4 \pm 10,49$ U/ml. MSG grubu ve MSG+DMSO grubu ile Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında SOD konsantrasyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (sırasıyla *** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$). MSG+FA grubu ile MSG+DMSO grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir artış gözlemlendi (⁺ $p < 0,05$) (Şekil 19).

Karaciğer dokusunda TAS seviyesi Kontrol grubunda $1,63 \pm 0,07$ $\mu\text{mol/L}$, DMSO+FA grubunda $1,54 \pm 0,15$ $\mu\text{mol/L}$, MSG grubunda $1,35 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$, MSG+DMSO grubunda $1,109 \pm 0,15$ $\mu\text{mol/L}$, MSG+FA grubunda ise $1,37 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/L}$, olarak belirlendi. MSG+DMSO grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında TAS seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($^{***} p < 0,001$). MSG+FA grubu ve MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında ise TAS konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($^{+} p < 0,05$) (Şekil 20).

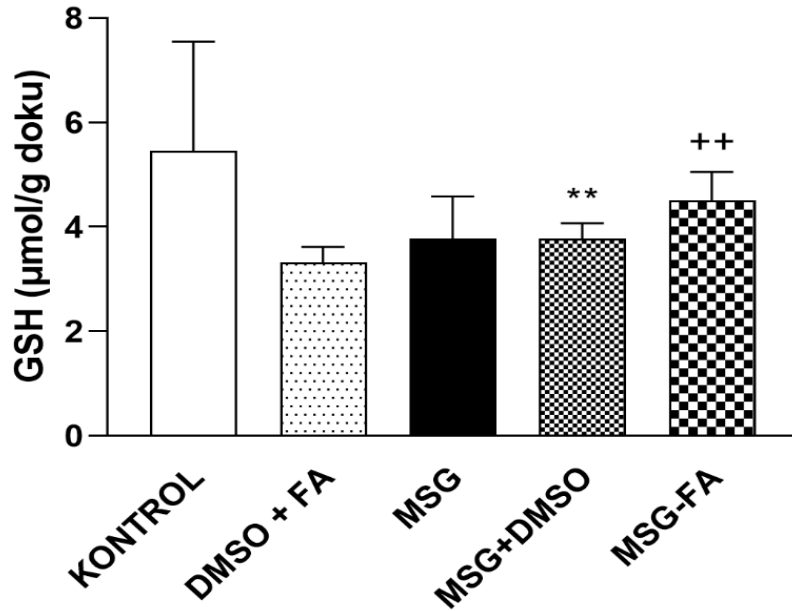
Karaciğer dokusunda TOS seviyesi Kontrol grubunda $31,82 \pm 1,51$ $\mu\text{mol/L}$, DMSO+FA grubunda $35,09 \pm 1,18$ $\mu\text{mol/L}$, MSG grubunda $35,22 \pm 1,85$ $\mu\text{mol/L}$, MSG+DMSO grubunda $38,24 \pm 2,36$ $\mu\text{mol/L}$, MSG+FA grubunda ise $32,86 \pm 1,62$ $\mu\text{mol/L}$, olarak belirlendi. MSG+DMSO grubu ile Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TOS konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($^{*} p < 0,05$). MSG+FA grubu ve MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında ise TOS konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($^{+} p < 0,05$) (Şekil 20).

Karaciğer dokusunda OSİ düzeyi Kontrol grubunda $1,95 \pm 0,16$ AU, DMSO+FA grubunda $2,54 \pm 0,33$ AU, MSG grubu $2,74 \pm 0,28$ AU, MSG+DMSO grubunda AU, MSG+FA grubunda ise $3,33 \pm 0,65$ AU olarak belirlendi. MSG+DMSO grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında OSİ konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($^{**} p < 0,01$). MSG+FA grubu, MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında ise OSİ konsantrasyonu seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($^{+} p < 0,05$) (Şekil 20).



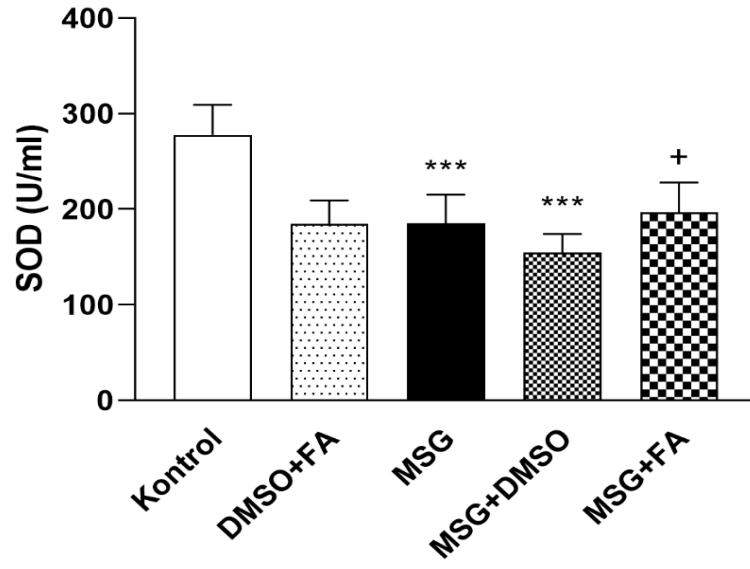
Şekil 17. Deney gruplarına ait MDA seviyeleri.

(* p <0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. *** p<0,001 DMSO+FA grubu ile karşılaştırıldığında. +p <0,05 MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)



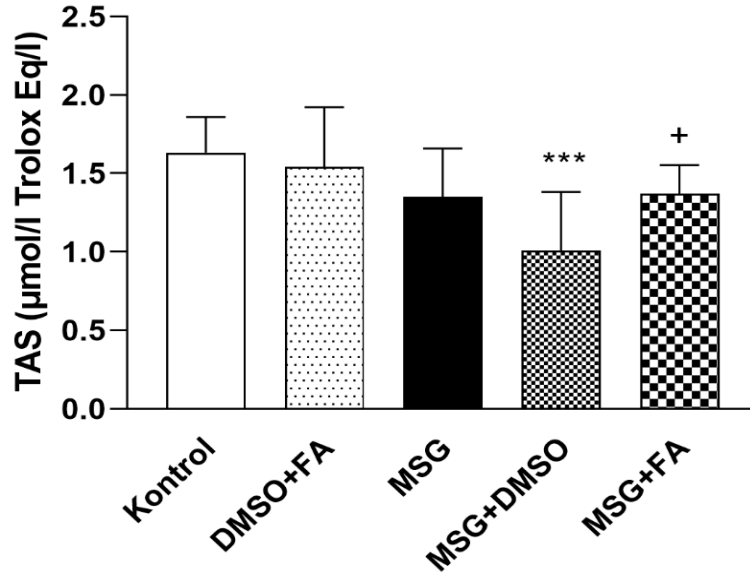
Şekil 18. Deney gruplarına ait GSH seviyeleri.

(** p <0,01 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. ++ p<0,01 MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)



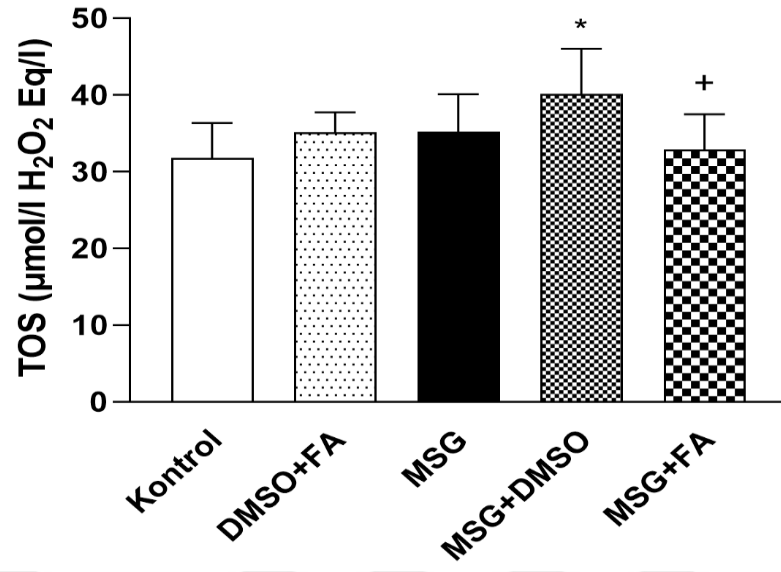
Şekil 19. Deney gruplarına ait SOD seviyeleri.

*** ($p < 0,001$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $^+p < 0,05$ MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)



Şekil 20. Deney gruplarına ait TAS seviyeleri.

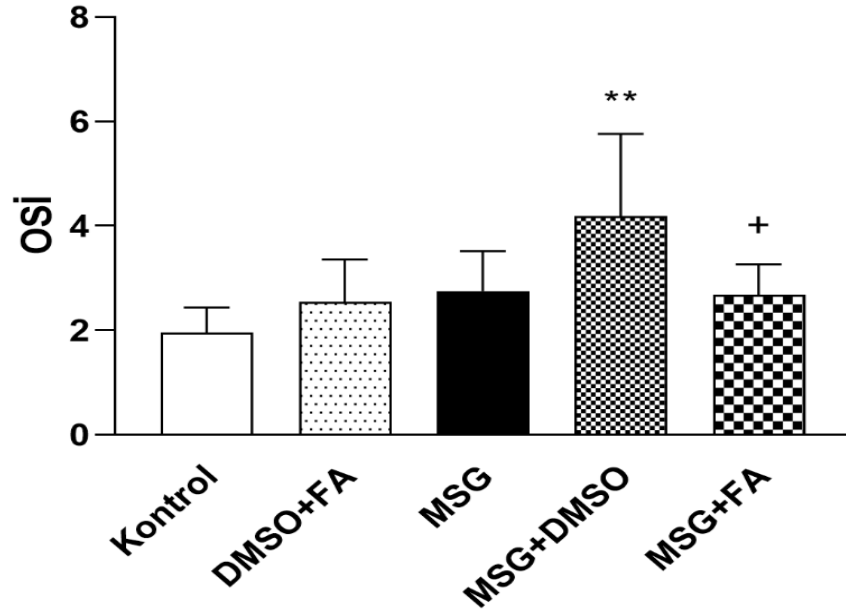
*** ($p < 0,001$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $^+p < 0,05$ MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)



Şekil 21. Deney gruplarına ait TOS seviyeleri.

* ($p < 0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $^+p < 0,05$ MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)

4.5.2 Oksidatif stres indeksi (OSİ) seviyeleri



Şekil 22. Deney gruplarına ait oksidatif stres indeksi seviyeleri.

** ($p < 0,01$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $^+ p < 0,05$ MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)

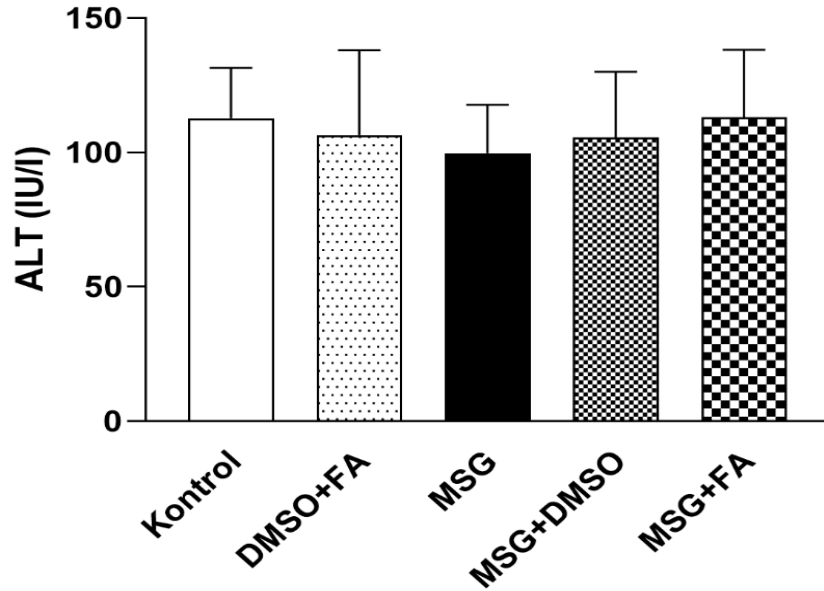
4.5.3 Serum ALT, AST ve ALP seviyeleri

Deney gruplarındaki ALT konsantrasyonu seviyeleri Kontrol grubunda $112,7 \pm 7,08$ IU/L, DMSO+FA grubunda $106,4 \pm 14,18$ IU/L, MSG grubunda $99,66 \pm 8,08$ IU/L, MSG+DMSO grubunda $105,5 \pm 8,65$ IU/L, MSG+FA grubunda ise $113,1 \pm 10,25$ IU/L olarak belirlendi. Ancak deney grupları arasında ALT konsantrasyonu bazında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 23).

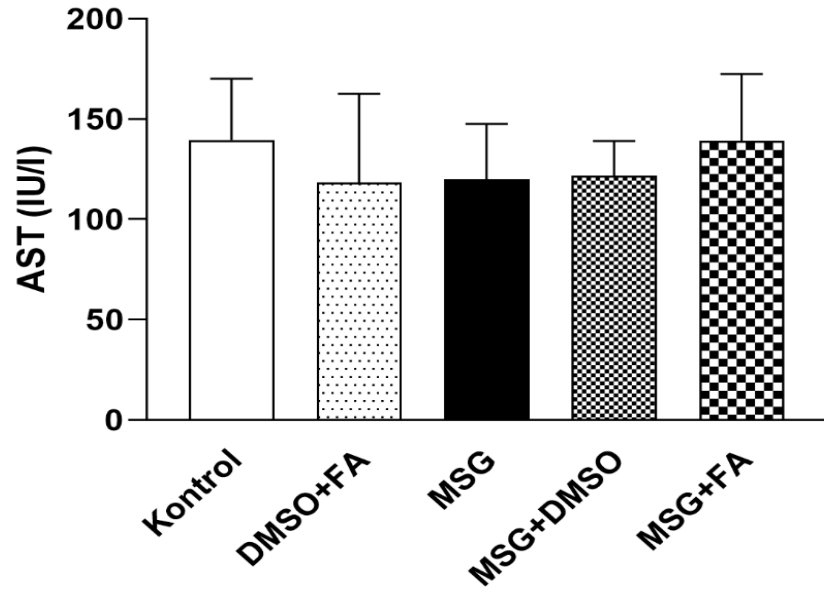
Deney gruplarındaki AST konsantrasyonu seviyeleri incelediğinde Kontrol grubunda $139,6 \pm 11,54$ IU/L, DMSO+FA grubunda $118,5 \pm 22,04$ IU/L, MSG grubunda $119,9 \pm 12,37$ IU/L, MSG+DMSO grubunda $121,7 \pm 7,12$ IU/L, MSG+FA

grubunda ise $139,1 \pm 13,62$ IU/L olarak belirlendi. Ancak deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 24).

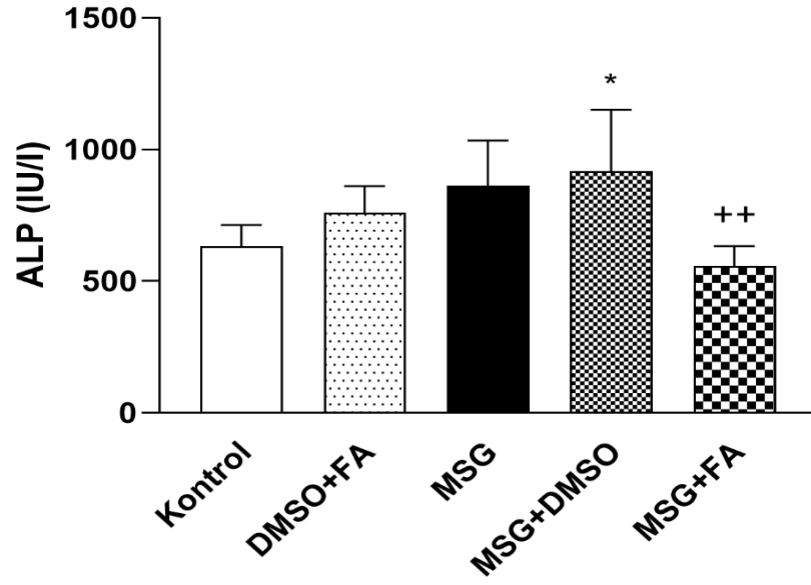
Deney gruplarındaki ALP konsantrasyon seviyeleri Kontrol grubunda $632,2 \pm 26,22$ IU/L, DMSO+FA grubunda $759,4 \pm 45,11$ IU/L, MSG grubunda $863,3 \pm 85,81$ IU/L, MSG+DMSO $918,0 \pm 95,21$ IU/L, MSG+APO grubunda ise $556,7 \pm 31,10$ IU/L olarak belirlendi. MSG+DMSO grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında ALP konsantrasyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0,05$). MSG+FA grubu ile MSG+DMSO grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir düşüş belirlendi ($p < 0,01$) (Şekil 25).



Şekil 23. Deney gruplarına ait ALT konsantrasyon seviyeleri.



Şekil 24. Deney gruplarına ait AST konsantrasyon seviyeleri.

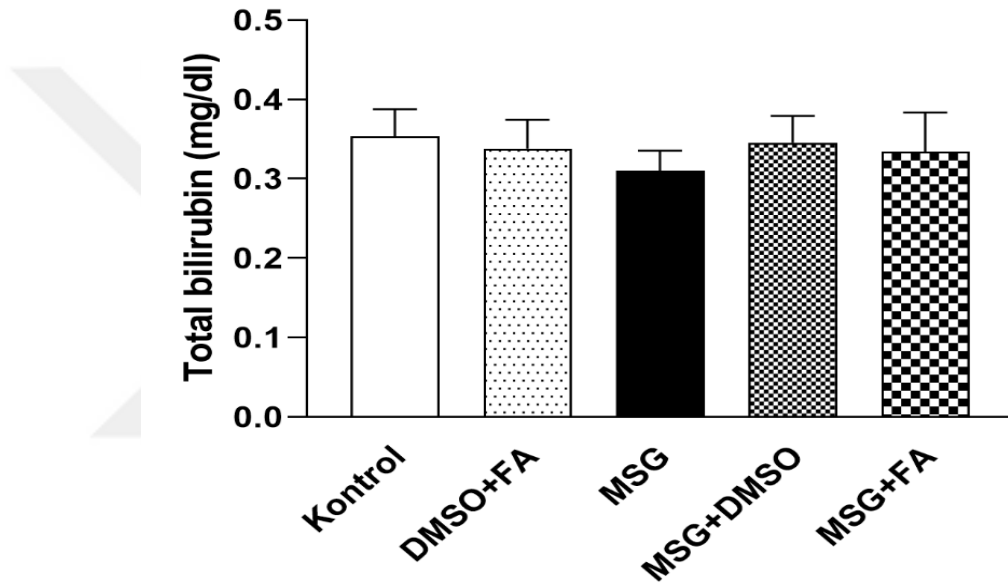


Şekil 25. Deney gruplarına ait ALP konsantrasyon seviyeleri.

* ($p < 0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. $^{++}$ $p < 0,01$ MSG+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.)

4.5.4 Serum total bilirubin konsantrasyon seviyeleri

Deney gruplarındaki total bilirubin konsantrasyonu seviyeleri incelendiğinde değerler şu şekilde idi: Kontrol grubu $0,353 \pm 0,01$ mg/dl, DMSO+FA grubu $0,338 \pm 0,01$ mg/dl, MSG grubu $0,310 \pm 0,01$ mg/dl, MSG+DMSO grubu $0,345 \pm 0,01$ mg/dl, MSG+FA grubu $0,33 \pm 0,01$ mg/dl. Ancak deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 26).



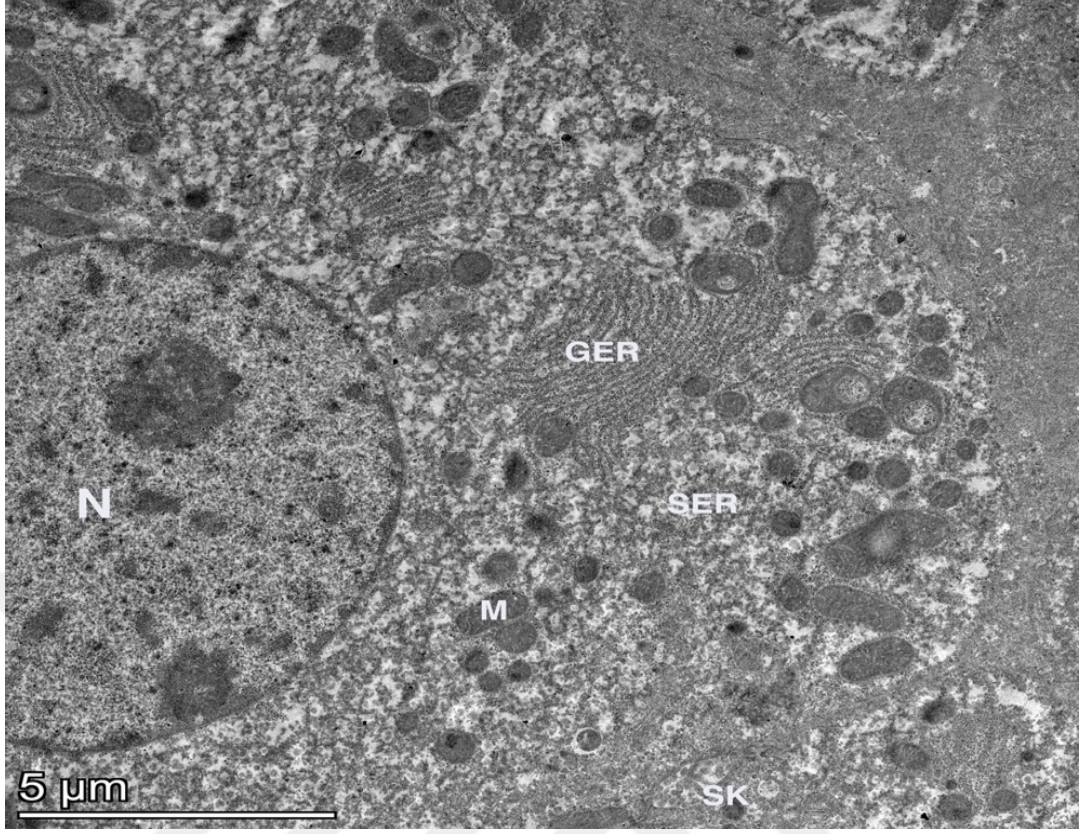
Şekil 26. Deney gruplarına ait total bilirubin seviyeleri.

4.6 Geçirimli Elektron Mikroskopik Düzeyde Bulgular

Kontrol grubuna ait karaciğer dokuları geçirimli elektron mikroskobu düzeyinde incelendiğinde hepatositler, sinüzoid duvar yapısı ve parankimaya ait yapılar normal ince yapıyı yansıtmakta idi (Resim 18). Hepatositlerin normal yapıdaki çekirdek ve çekirdekçiklere sahip olduğu, sitoplazmalarında yoğun krista yapısına sahip mitokondriyon ve bol miktarda GER ve SER membranlarının yer aldığı görüldü. Hepatositlerin lateral yüzeylerinde safra kanalikülleri ve apikal yüzeylerinde çok miktarda mikrovillusun yer aldığı izlendi (Resim 18). DMSO+FA grubuna ait

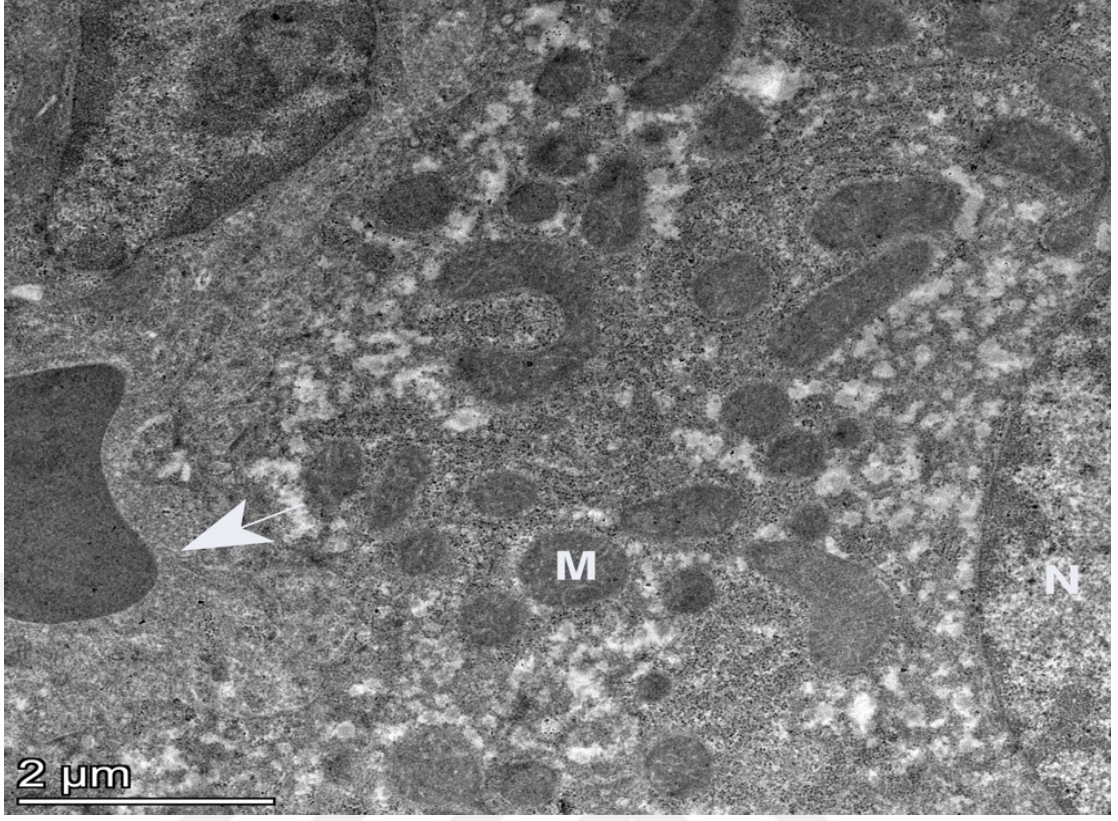
kesitlerde de Kontrol grubuna benzer şekilde eşliğinde normal ince yapı özellikleri gözlemlendi (Resim 20-21). Ayrıca DMSO+FA grubunda sinüzoid duvarı normal bir yapılanma göstermekte idi (Resim 22).

MSG grubuna ait karaciğer kesitlerinin geçirimli elektron mikroskobu düzeyindeki incelenmesinde, piknotik nükleus içeren hepatositlerin sitoplazmalarında yoğun şekilde harabiyet gözlemlendi. Hepatositlerin düzensiz ve girintili yapıdaki ve yer yer piknotik çekirdeklerinde heterokromatin yapısında artış izlendi (Resim 23). Hepatosit sitoplazmalarında yoğun şekilde vakuolizasyon, ER membranlarında genişleme, mitokondriyon kristallerinde silinme ve yağlı dejenerasyonu yansıtan yoğun lipid damlacığı gözlemlendi (Resim 23). Sinüzoid duvarında endotel hücrelerinde düzensizlik izlendi (Resim 24). Karaciğer parankimasında safra kanalikülünün mikrovillus yapısında küntleşme ve silinme tarzında harabiyet izlendi (Resim 25). MSG+DMSO grubuna ait elektron mikrograflarda hepatosit sitoplazmasında belirgin dejenerasyon ER membranlarında genişleme ve şişmiş mitokondriyonlar eşliğinde gözlemlendi (Resim 26). Karaciğer parankimasında Disse aralığında düzensiz bir yapılanma belirdi (Resim 27). İki hepatosit hücresi arasında yer alan safra kanalikülü yapısında bulunan mikrovilluslarda küntleşme ve silinme tarzında harabiyet izlendi (Resim 28). MSG+FA grubuna ait karaciğer doku kesitlerinin geçirimli elektron mikroskobu düzeyinde gerçekleştirilen incelenmelerinde, hepatosit çekirdek ve çekirdekçik yapılarında normale yakın ince yapı izlendi. (Resim 29-31). Karaciğer parankimasında bazı hepatositlerde ER membranlarında genişleme bazında vakuolizasyon eşliğinde dejeneratif bulgular görülürken, safra kanalikülü yapıları normale yakın ince yapıda idi (Resim 32).



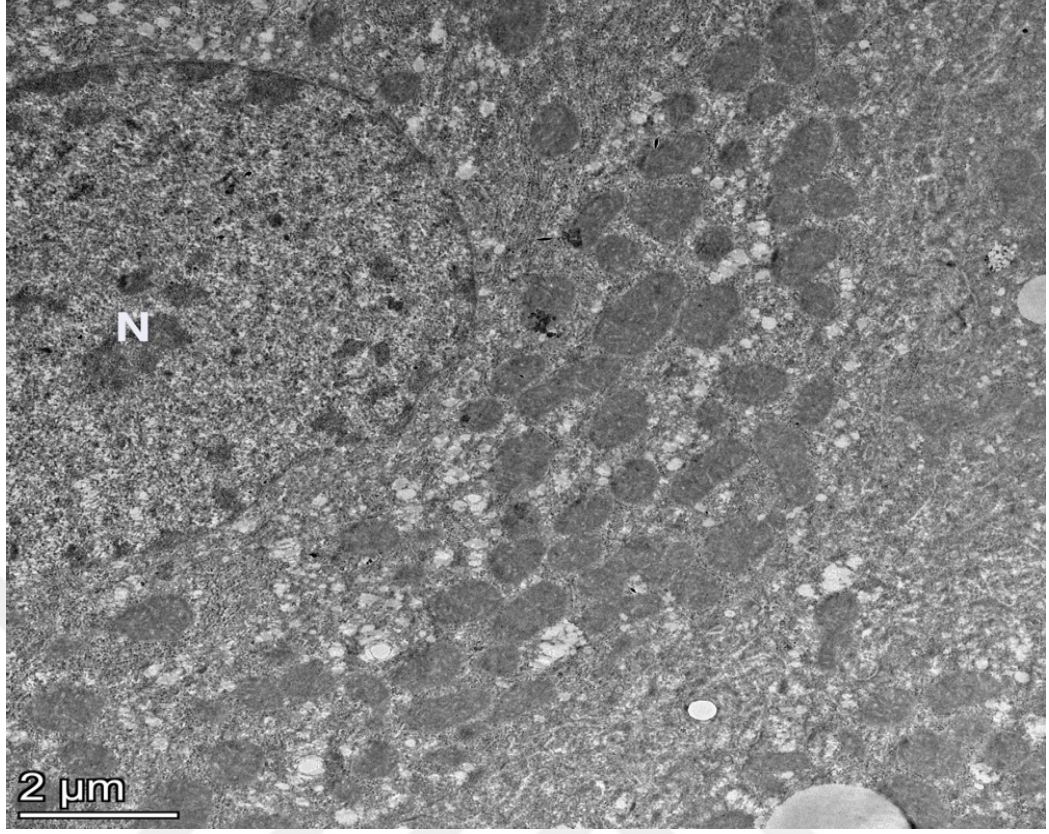
Resim 18. Kontrol grubuna ait geçirimli elektron mikrografi

Hepatositlerde normal ince yapıyı yansıtan nükleus, çok sayıda mitokondriyon, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum ve iki hepatosit arasında safra kanalikülü yapısı izlenmektedir. N: Nükleus, GER: Granüllü ER, M: Mitokondriyon, SK: Safra kanalikülü, SER: Granülsüz ER (X3400).



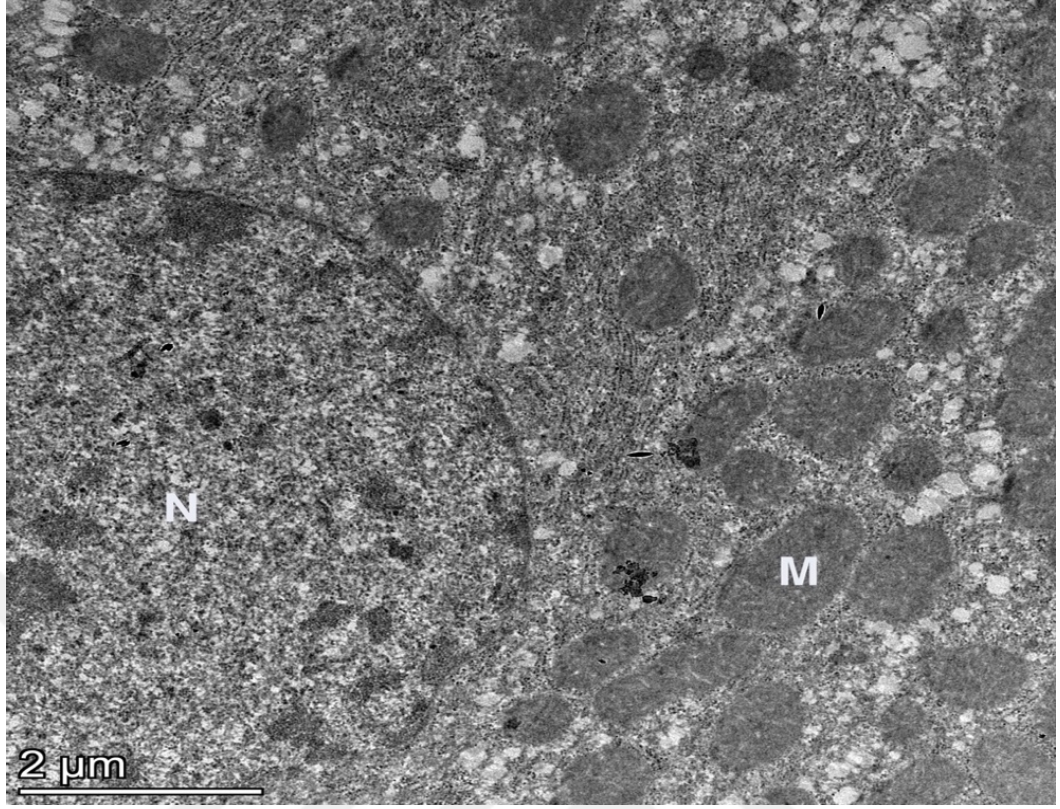
Resim 19. Kontrol grubuna ait geçirimli elektron mikrofrafı.

Sinüzoid duvarı (→) normal ince yapıyı yansıtmaktadır. N: Nükleus, M: Mitokondriyon (X6700).



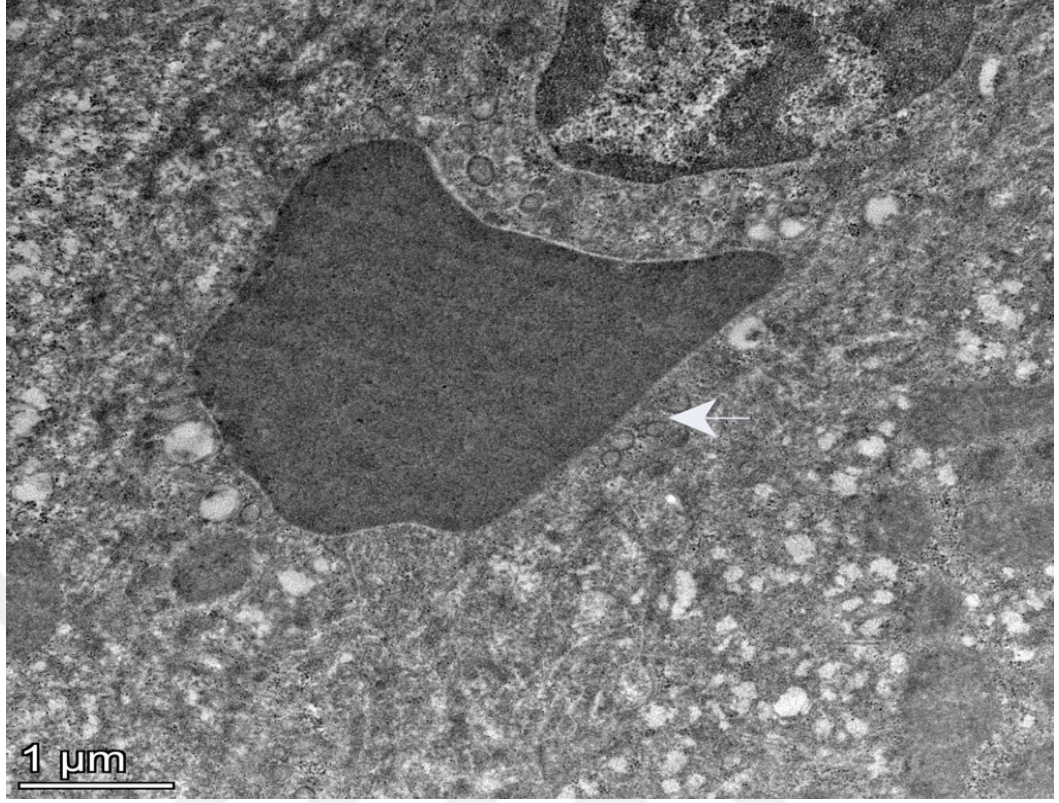
Resim 20. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrosafı.

Karaciğer parankiması normal ince yapıda gözlemlenen organeller eşliğinde izlenmektedir. N: Nükleus (X4300).



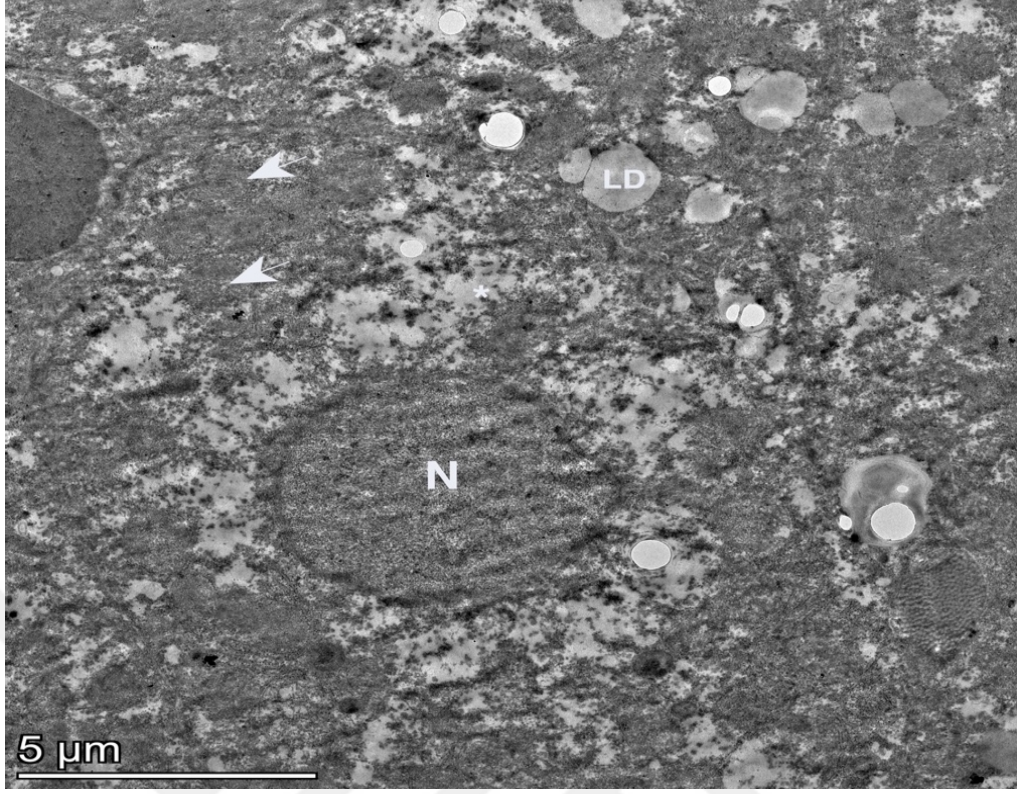
Resim 21. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrofafi.

Karaciğer parankimasında normal ince yapı izlenmektedir. N: Nükleus, M: Mitokondriyon (X6700).



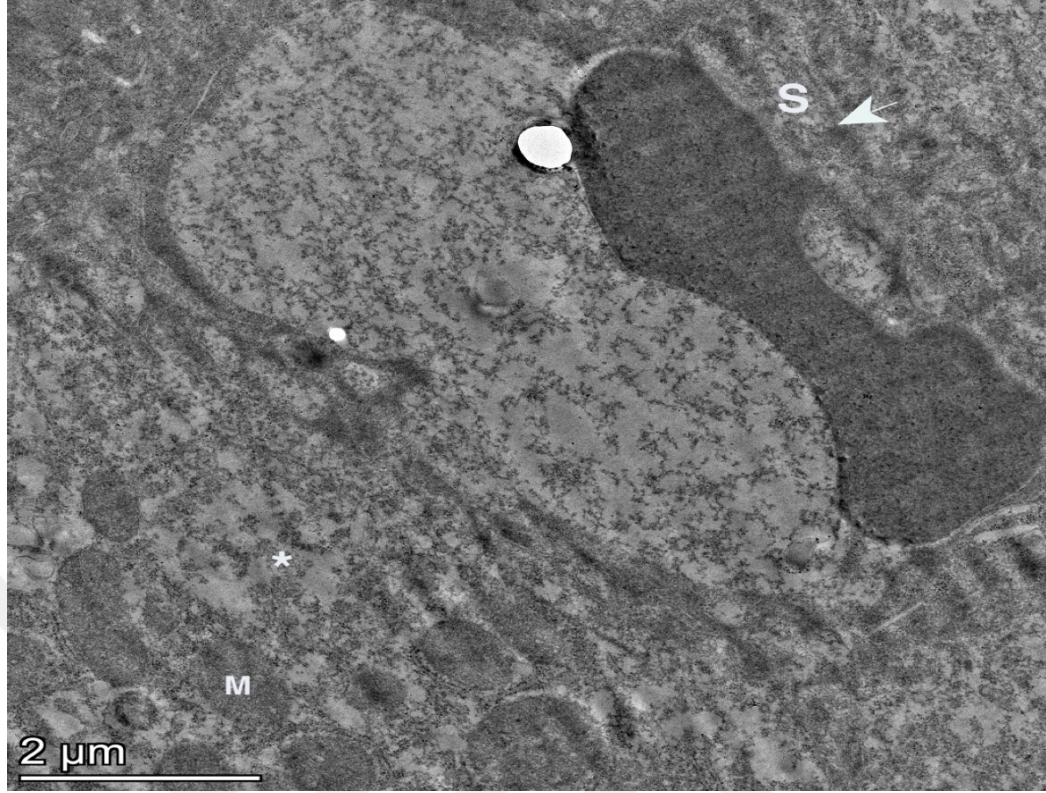
Resim 22. DMSO+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrofrafı.

Karaciğer parankimasında sinüzoid duvarı (→) normal ince yapıyı yansıtmaktadır (X8500).



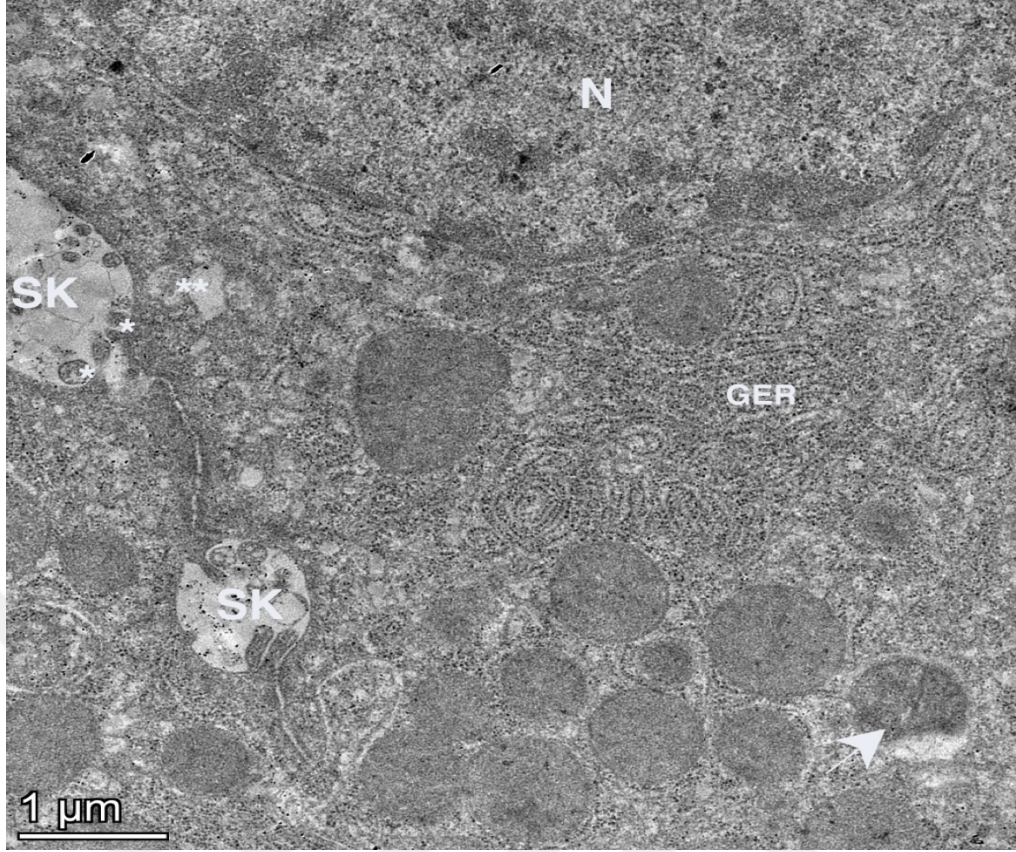
Resim 23. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografi.

Hepatosit sitoplazmasında yoğun vakuolizasyon eşliğinde dejenerasyon ve piknotik nükleus gözlenmekte olup endoplazmik retikulum membranlarında genişleme (*) ve mitokondriyon kristalarında silinme (→) görülürken lipid damlacıklarında artış izlenmektedir. N: Nükleus, LD: Lipid damlacığı (X3400).



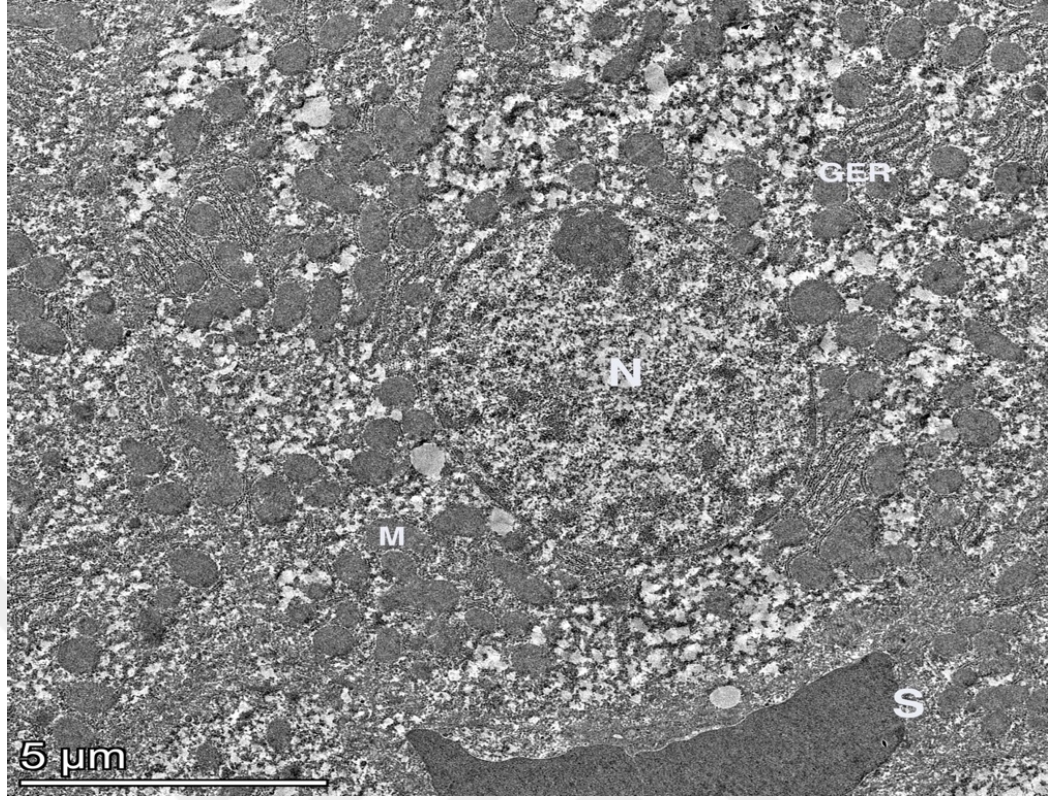
Resim 24. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Sinüzoid duvarı ince yapısı bütünlüğünün bozulmuş olduğu (→) ve SER membranlarında genişleme (*) olduğu gözlemlenmektedir. M: Mitokondriyon, S: Sinüzoid (X6700).



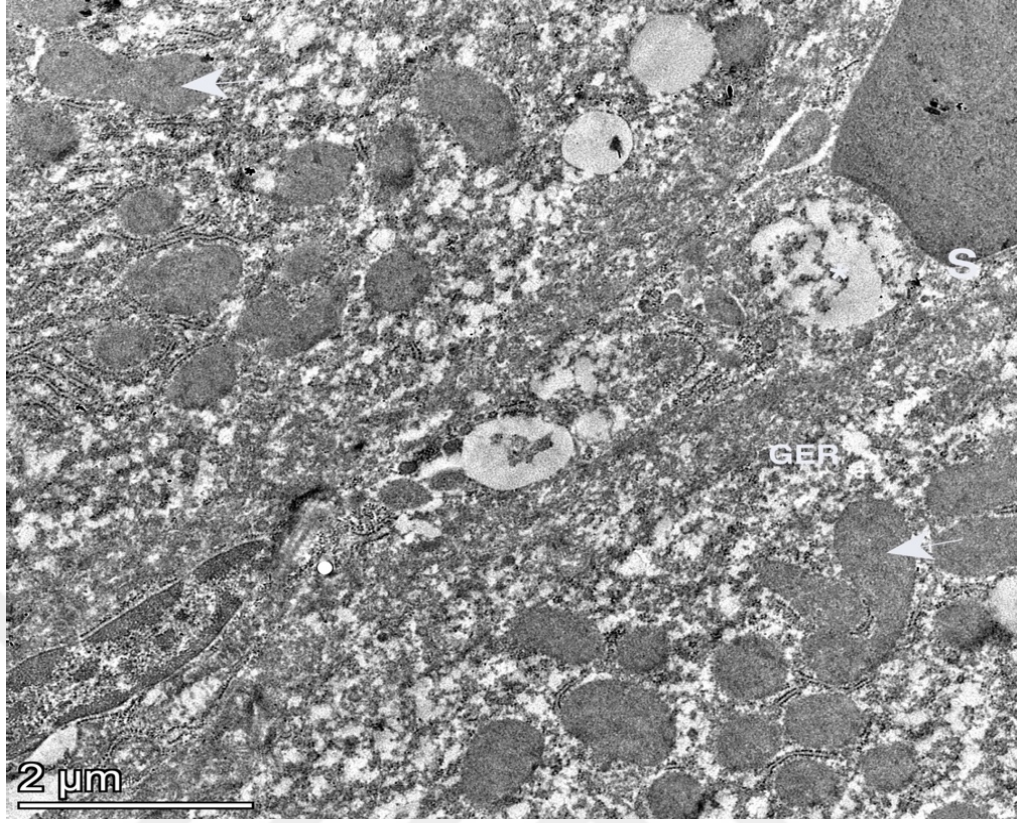
Resim 25. MSG grubuna ait geçirimli elektron mikrografi.

İki hepatosit arasında yer alan safra kanalikülünün mikrovillus yapısında körelme (*) görülürken hepatosit sitoplazmasında mitokondriyon krista yapısında bozulma (→) ve şekil bozuklukları ve SER membranlarında genişleme (**) izlenmektedir. N: Nükleus, GER: Granüllü ER, SK: Safra kanalikülü (X8500).



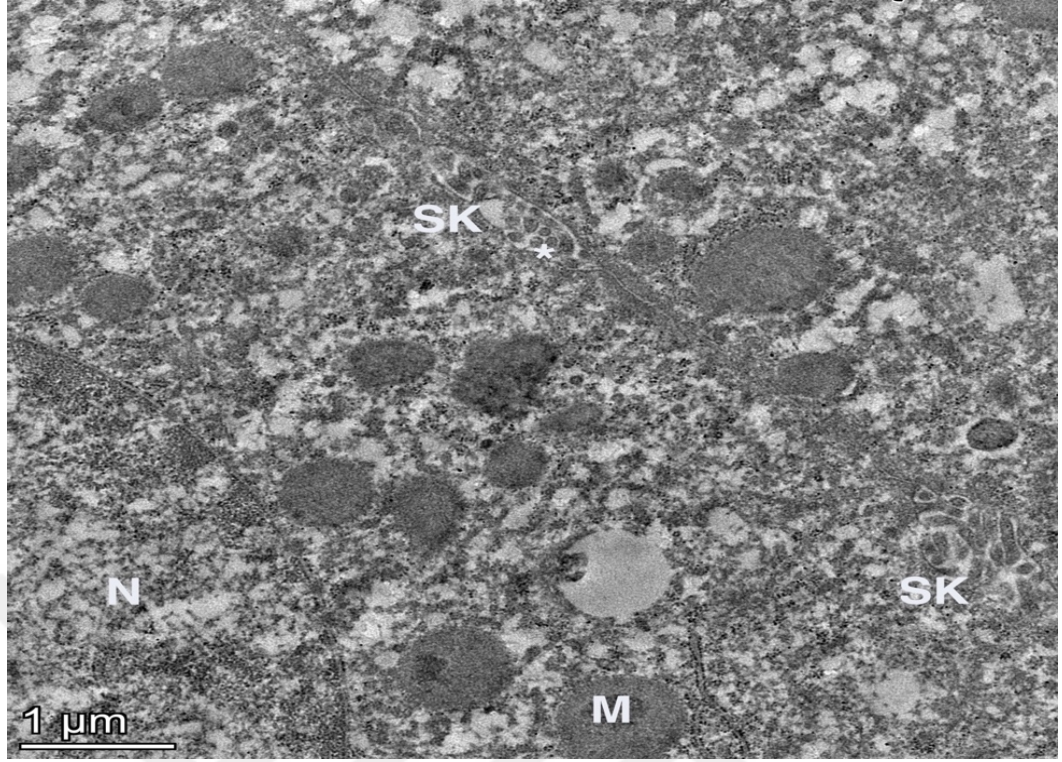
Resim 26. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Hepatosit sitoplazmasında SER membranlarında yoğun genişlemeler eşliğinde dejenerasyon gözlenmektedir. N: Nükleus, GER: Granüllü ER, M: Mitokondriyon. S: Sinüzoid (X3400).



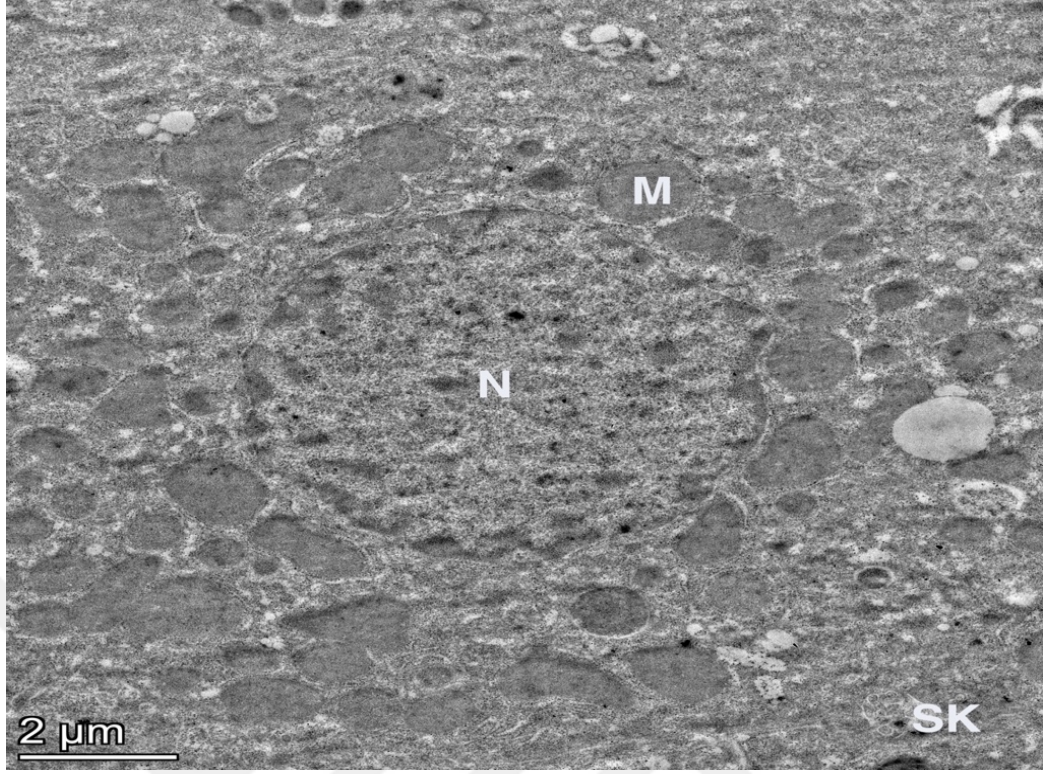
Resim 27. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Karaciğer parankimasında hepatosit ve sinüzoid duvarı arasında yer alan Disse aralığında belirgin vakuolizasyon (*), hepatosit sitoplazmasında endoplazmik retikulum membranlarında genişleme ve mitokondriyonlarda şekil bozuklukları (→) ve hepatosit apikal yüzeyinde mikrovilluslarda kayıp izlenmektedir. GER: Granüllü ER, S: Sinüzoid (X6700).



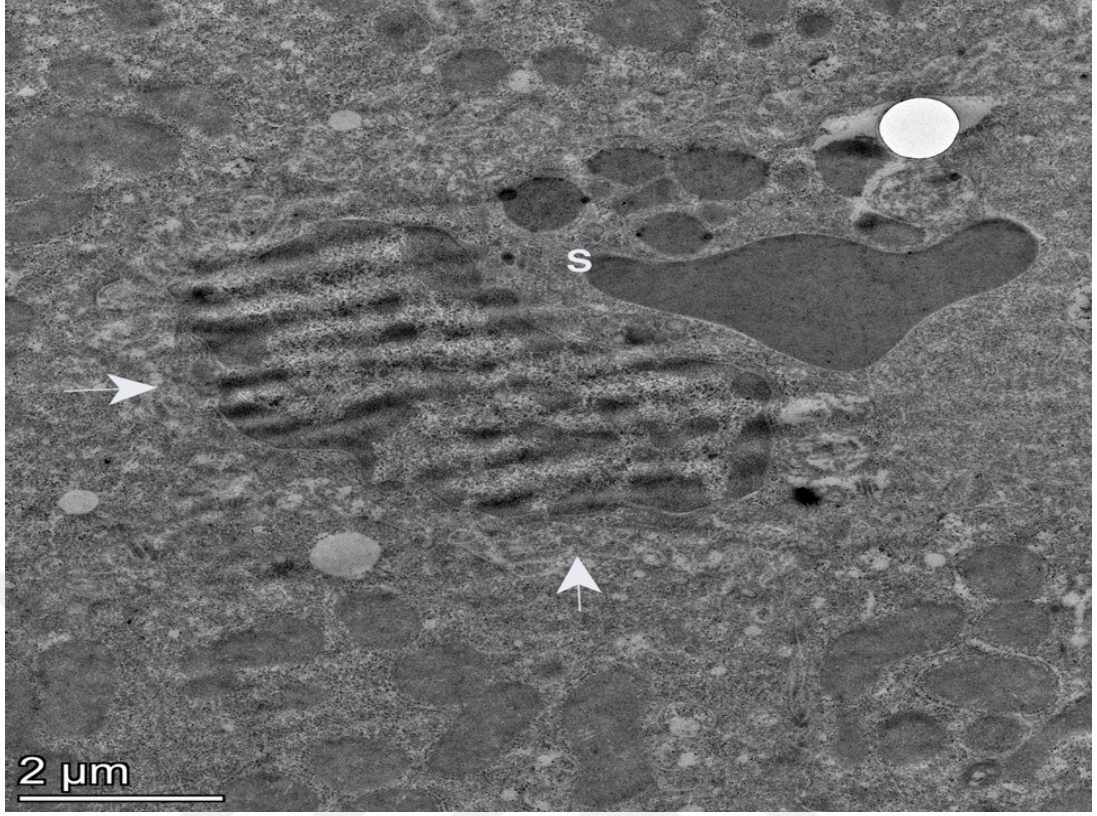
Resim 28. MSG+DMSO grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

İki hepatosit arasında safra kanalikülü yapısında bulunan mikrovillus yapısında düzensiz yapılanma (*) görülmektedir. N: Nükleus, M: Mitokondriyon, SK: Safra kanalikülü (X8500).



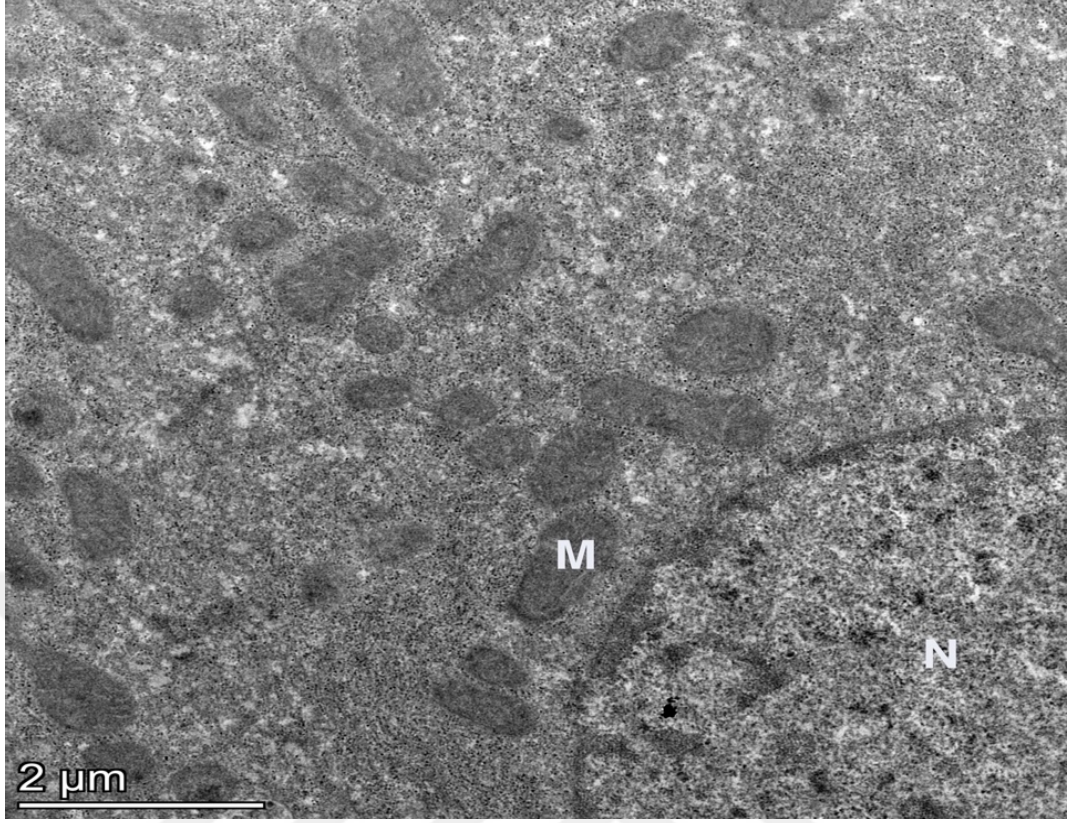
Resim 29. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Karaciğer parankimasında sınırlı sayıda vakuolizasyonu eşliğinde normale yakın düzeyde ince yapı görülmekte olup, bazı mitokondriyonlarda şekil bozukluğu izlenmektedir. N: Nükleus, M: Mitokondriyon, SK: Safra kanalikülü (X4300).



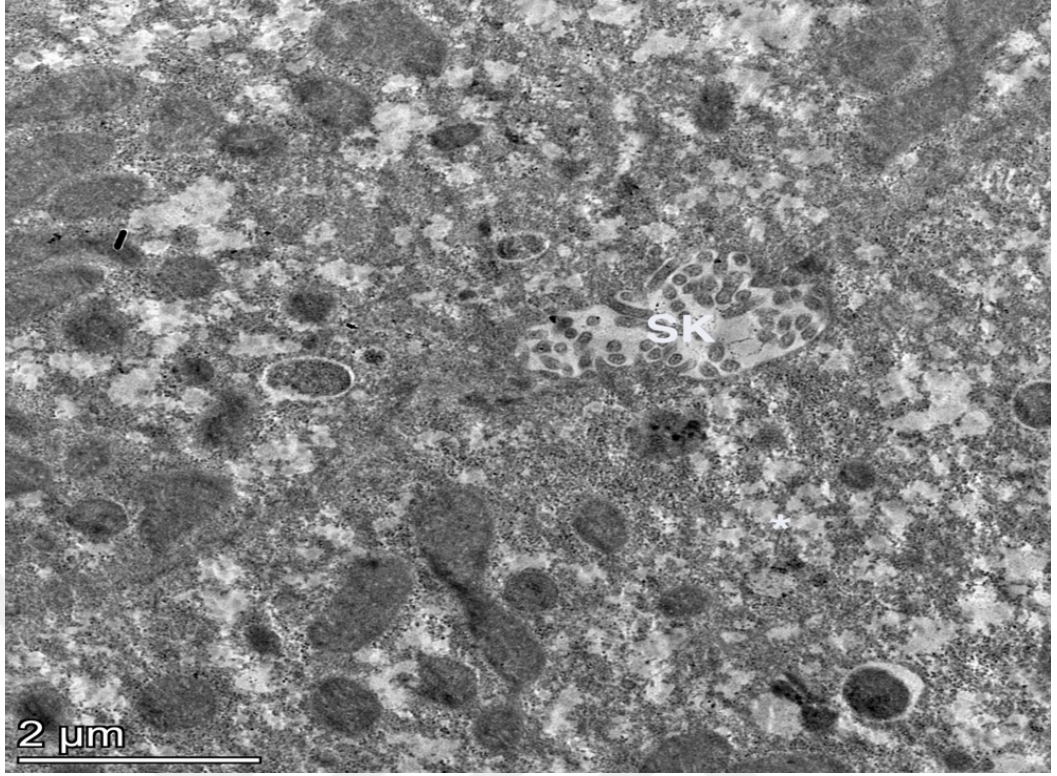
Resim 30. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrofrafı.

Karaciğer parankimasında sinüzoid duvarı ve Disse aralığı (→) normale yakın düzeyde ince yapıyı yansıtmaktadır. S: Sinüzoid (X5300).



Resim 31. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Hepatosit sitoplazması normale yakın ince yapıyı yansıtırken, bazı mitokondriyonlarda şekil bozukluğu izlenmektedir. N: Nükleus, M: Mitokondriyon (X6700).



Resim 32. MSG+FA grubuna ait geçirimli elektron mikrografı.

Hepatosit sitoplazmasında yer yer az sayıda ER membranlarında genişleme (*) izlenirken iki hücre arasında konumlanan safra kanalikülü normale yakın ince yapıda gözlemlenmektedir. SK: Safra Kanalikülü (X6700).

5 TARTIŞMA

Yapılan bu tez çalışmasında MSG'nin karaciğer dokusu üzerinde oluşturduğu hasar ve bu hasara karşı FA'nın iyileştirici etkisi histolojik, immunohistokimyasal, biyokimyasal ve geçirimli elektron mikroskobu düzeyinde incelendi. Tüm deney gruplarına ait sıçanların ortalama ağırlık verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Histokimyasal, immünhistokimyasal ve geçirimli elektron mikroskopik incelemelerde Kontrol ve DMSO+FA gruplarında karaciğer parankiması normal morfolojiye sahipken, MSG ve MSG+DMSO gruplarında hepatositlerde steatoz ve vakuolizasyon, sinüzoidlerde dilatasyon, lökosit infiltrasyonu, parankimada artmış bağ dokusu, hepatosit sitoplazmasında azalmış glikojen miktarı ve eNOS immün reaktivitesinde düşüş saptandı. MSG+FA grubunda karaciğer dokusu hasarının, MSG ve MSG+DMSO gruplarına kıyasla anlamlı şekilde azaldığı histopatolojik skorlamada belirgin şekilde görülmektedir. Biyokimyasal düzeydeki incelemelerde ise MSG ve MSG+DMSO gruplarında MDA, TOS, OSI ve ALP düzeylerinde artış görülürken, GSH, SOD ve TAS düzeylerinde düşüş belirgindi. Tedavi grubu olan MSG+FA grubunda ise MDA, TOS, OSI ve ALP düzeylerinde düşüş görülürken, GSH, SOD ve TAS düzeylerinde artış izlendi. Bu biyokimyasal verilere ek olarak ALT, AST ve TBLB düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

Utume ve arkadaşları, yetişkin Wistar albino sıçanlar ile yapmış oldukları çalışmada uygulanan MSG'nin 3 farklı dozunun (15g/L, 10g/L ve 8g/L) sıçanlarda kilo alımı üzerinde önemli bir etkisi olmadığını göstermişlerdir (130). Maluly ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada (79) yeni doğmuş erkek Wistar sıçanlar 70 günlük bir süre boyunca parenteral veya oral uygulama ile %1,0, %2,5 ve %5,0 seviyelerinde MSG içeren diyetlerle beslenmiş ve subkronik tüketimine bağlı metabolik değişikliklerin indüksiyonunu değerlendirilmiştir. Bu değişikliklerin obezite, karbonhidrat metabolizmasındaki değişikliklere (glikoz ve insülin direnci), dislipidemi ve kardiyovasküler hastalık gibi metabolik sendromla ilgili bozukluklara yol açabildiğini göstermişlerdir. Ancak araştırmacılar MSG alımının vücut ağırlığı artışı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Claire ve arkadaşları, yaptığı çalışmada yetişkin erkek sıçanlarda %2 MSG takviyesinin metabolik ve

fizyolojik etkilerini gözlemlemeyi hedeflemiştir. Çalışmada 15 günlük diyetten sonra gruplar arasında başlangıç ve son ağırlık olmak üzere ağırlık artışı açısından önemli bir fark bulunmamıştır. Buna ek olarak besin alımı ve besin verimliliği oranının (kilo alımı/alınan enerji) MSG takviyesinden önemli ölçüde etkilenmediği belirtilmiştir (22). Senaphan ve arkadaşları, erkek Wistar sıçanlar (220–250 g) ile yapmış oldukları çalışmada, yüksek karbonhidrat ve yağ (HCHF) diyeti ile beslenen deney hayvanlarında oluşturulan metabolik sendrom (MS) üzerinde ferulik asidin (FA) rolünü göstermişlerdir. Bu çalışmada, FA takviyesi verilen sıçan gruplarının vücut ağırlıklarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (114). Tüm bu literatür verileri, bu bazda deneysel çalışmamızın bulgularını destekler niteliktedir.

Tez çalışmamızda MSG'nin ve FA'nın kilo alımına olan etkisini gösteren bulgularımız, literatürdeki benzer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir. Deney gruplarına ait sıçanların ortalama ağırlıklarının ölçülmesiyle elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu Kontrol grubu ile diğer deney grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Sıçanların ortalama ağırlık verileri ve karaciğer ağırlıklarının beraber olarak değerlendirmeye alınmasıyla hesaplanan rölatif karaciğer ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

Monosodyum glutamat (MSG), çeşitli gıda ürünlerinde doğal olarak bulunan bir amino asit olan L-glutamik asitten türetilen ve yaygın olarak kullanılan bir lezzet arttırıcıdır. MSG'nin kabul edilebilir günlük olarak alımı Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından belirlenen 30 mg/kg ağırlık/gün düzeyini aştığı düşünülmektedir. Avrupa ülkelerindeki ortalama günlük tüketim 0,3-1,0 g/gün civarında olup Asya'da 1,0 g/gün'ü aşmakta olduğu ileri sürülmektedir (2, 13, 86). MSG lezzet arttırıcı olarak değeri kanıtlanmış olsada hem hayvan hem de insan çalışmalarından elde edilen sonuçlar, en düşük dozda olsa dahi bu gıda maddesinin toksik etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (96). MSG obezite, metabolik bozukluklar, Çin Lokantası Sendromu, nörotoksik etkiler ve üreme organları üzerindeki zararlı etkileri ile ilişkilendirilmiştir. Glutamik asit tatsız bir molekül olsa da sodyum ile birleşimi tat reseptör hücrelerinde glutamat reseptörlerinin aktivasyonuna yol açar. Böylece normal fizyolojik ve patolojik süreçlerde hayati rol oynayan

nörotransmitterlerin salınımına neden olur (3). Glutamat reseptörleri üç grup metabotropik reseptör (mGluR) ve dört sınıf iyonotropik reseptörden (NMDA, AMPA, delta ve kainit reseptörleri) oluşmaktadır. Tüm bu reseptör tipleri merkezi sinir sistemi boyunca mevcuttur. Özellikle otonomik ve metabolik faaliyetleri kontrol ettikleri hipotalamus, hipokampus ve amigdalada çok sayıdadırlar. Buna ek olarak reseptör tipleri belirli beyin bölgelerine sinyaller göndererek belirgin bir tat duyusuna neden olur (149).

Birçok klinik öncesi deneysel çalışma MSG'nin obezite, merkezi sinir sistemi, testis, ovaryum, uterus, böbrek ve karaciğer gibi farklı dokularda toksik etki gösterdiğine işaret etmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon da MSG'nin başlıca yan etkilerinden bazıları olarak kabul edilmektedir. MSG, oksijen radikalleri ve hidrojen peroksit üretimi ile oksidatif stresi indükleyerek oksidatif DNA hasarına, hücre zarlarının peroksidasyonuna ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Bu olumsuz etkilerin vitaminler, mineraller gibi çeşitli antioksidanların reaktif oksijen türlerini veya lipidlerin peroksidasyonunu engellemesi ile önlenebileceği belirtilmektedir (13, 90).

Literatürde çeşitli çalışmalarda MSG uygulamasının hepatotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir. Yetişkin Wistar sıçanlarda, kırk iki gün boyunca günlük olarak 0,04 g/kg ve 0,08 g/kg MSG içeren bir gıda karışımı ile düzenli beslenmeyi takiben, karaciğer doku örneklerinde bozulmuş membran geçirgenliğine bağlı olarak, parçalanmış eritrositler ve dejenerasyona uğramış hepatositlerle birlikte merkezi hepatik vende dilatasyonlar bildirilmiştir. İlgili çalışmada, monosodyum glutamat tüketiminin yüksek dozlarda yetişkin Wistar sıçanlarının karaciğer dokusu üzerinde zararlı etki gösterdiği ve buna bağlı olarak karaciğer fonksiyonlarını olumsuz anlamda etkileyebileceği sonucuna varılmıştır (37).

Waer ve arkadaşları, yetişkin erkek albino Wistar sıçanlara (120-125 g) 28 gün boyunca 200, 400 ve 600 mg/kg/vücut ağırlığı/gün dozunda oral yol ile MSG uygulamış olup, kontrol grubuna ise oral yol ile salin (10 mL/kg vücut ağırlığı/gün) vermiştir. Çalışmanın sonucunda, her üç MSG dozajının da dislipidemide, inflamatuvar yanıtta ve hepatokardiyak belirteç enzimlerinde artışa neden olduğunu ve bunların

hepsinin hepatik ve kardiyak toksisite anlamına geldiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, artan MSG alımının hiperlipidemik koşullar oluşturarak karaciğer glikojenini, serbest yağ asitlerini, fosfolipidleri ve trigliserid içeriğini artırdığını göstermişlerdir. Bu çalışma sonucunda MSG'nin redoks dengesini bozarak oksidatif strese neden olduğuna işaret etmişlerdir (52).

Yapılan başka bir çalışmada 25 günlük yenidoğan farelere 75 gün boyunca uygulanan 2 mg/vücut ağırlığı/gün MSG dozu enjeksiyonunu takiben karaciğer histopatolojisi incelenmiştir. İncelenen karaciğer doku örneklerinde parankimada hepatosit kordonlarında düzensizlik, sinüzoidlerde vazokonjesyon ve lümende partikül birikimi, irileşmiş Kupffer hücreleri ve santral ven çevresinde inflamatuvar hücreler izlenen histopatolojik bulgular olarak belirtilmiştir. Hepatosit hücre membranında dejenerasyon, sitoplazmada vakuolleşme ve piknotik nükleus izlenen diğer bulgular arasında yer almıştır. Kesitlere PAS reaksiyonu uygulamasını takiben, hepatosit sitoplazmasında glikojen içeriğinin azalmasını işaret eden ile PAS reaksiyonunun şiddetinde belirgin bir azalma görülmüştür. Bu çalışma sonucunda, MSG enjekte edilen farelerde hepatositlerde vakuolleşme eşliğindeki belirgin dejenerasyonun merkezi ven çevresinde daha belirgin olduğu vurgulanmıştır. Hepatositlerin vakuolasyonu balonlaşma dejenerasyonu olarak tanımlanmış ve zararlı maddelere karşı bir tür hücresel savunma mekanizması olarak yorumlanmıştır (124).

Yapılan bir diğer deneysel çalışmada monosodyum glutamatın (MSG) 16 günlük inkübasyona tabi tutulan tavuk embriyolarının karaciğer morfolojisinde neden olduğu değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada ortalama ağırlıkları 60-62 g olan 50 adet tavuk yumurtası kullanılmıştır. Kontrol grubunun yanı sıra, diğer gruba ait yumurtalara (MSG grubu) kuluçkanın 0. gününde MSG (0.1ml/yumurta) uygulanmıştır. Kontrol ve MSG uygulanan gruptaki tavuk embriyolarının karaciğer yapısını karşılaştırmak için 16. günde geçirimli elektron mikroskopik inceleme için karaciğer doku örneklerinden ultra ince kesitler hazırlanmıştır. Geçirimli elektron mikroskopik düzeydeki incelemede, MSG grubunda karaciğer hücreleri, sinüzoidler ve safra kanallarında harabiyet gözlenmiştir. Bu değişikliklerden bazıları hepatositlerde çekirdek konformasyonundaki ve nükleer zarftaki değişiklikleri içeriyor olup kromatin dağılımında artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, granülsüz endoplazmik

retikulum membranlarında hücresel stres ve hasarı gösteren yapısal dejenerasyonlar, mitokondriyon ve Golgi cisimciğinde hasar, lizozomlarda ve lipid damlacıklarında ise artış izlenmiştir (39).

Ortalama ağırlıkları 180-200 gram olan 60 adet yetişkin sıçan kullanılan bir çalışmada monosodyum glutamatın neden olduğu karaciğer hasarı üzerinde C vitamininin potansiyel koruyucu etkisi ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmiştir. Deney hayvanlarına 1 ay boyunca oral yolla serum fizyolojik verilmiş (kontrol grubu) olup, diğer gruba bir ay boyunca monosodyum glutamat (4 mg/kg vücut ağırlığı/gün, oral yoldan salin içinde çözölmüş) verilerek deneysel karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Üçüncü deney grubuna ise bir ay boyunca C vitamini (500mg/kg vücut ağırlığı/gün, oral yoldan) verilmiş ve uygulamadan 2 saat sonra monosodyum glutamat (4 mg/kg vücut ağırlığı/gün, tuzlu suda çözölmüş, oral yoldan) uygulanmıştır. MSG ile deneysel karaciğer hasarı oluşturulan sıçanların ışık mikroskopik düzeydeki doku incelemelerinde vazokonjesyon izlenen santral ven ve sinüzoidler belirgin şekilde genişlemiş ve parankimada lökosit infiltrasyonu görölmüştür. Bazı hepatositlerde sitoplazmada vakuolleşme ve piknotik çekirdek izlenmiştir. Masson'un trikrom boyası uygulanan kesitlerde santral venden tüm parankimaya doğru ilerleyen artmış düzeyde bağ dokusu izlenmiştir. Hepatositlerde glikojen içeriğı azalan şiddette PAS reaksiyonu eşliğinde gözlenmiştir. Benzer bulgular geçirimli elektron mikroskopik düzeyde de izlenmiştir. Antioksidan bir madde olan C vitamini ile tedavi edilen sıçanlara ait karaciğer doku kesitlerinin hem ışık hem de geçirimli elektron mikroskopik düzeydeki incelemelerinde, dokulardaki MSG'ye bağılı oluşan histopatolojik dejenerasyonda belirgin azalmanın görölmesi ile karaciğer dokusunda belirgin iyileşme olduğı kanısına varılmıştır (85).

Yapılan bir çalışmada, MSG ile indüklenen deneysel karaciğer hasarı üzerinde aposininin iyileştirici etkisi araştırılmıştır. 28 erkek *Sprague-Dawley* sıçan kontrol, APO, MSG ve MSG + APO grupları şeklinde dört gruba ayrılmıştır. 28 gün boyunca kontrol grubu sıçanlara oral yoldan distile su verilmiş olup MSG ve MSG+APO gruplarına ise 120 mg/kg MSG oral olarak verilmiştir. APO ve MSG+ APO gruplarına deneyin son 5 günü boyunca DMSO ile hazırlanan 25 mg/kg APO oral yoldan verilmiştir. Kontrol ve APO grubunda normal yapıyı yansıtır morfoloji görölmüştür.

MSG grubunda hepatositlerde vakuolizasyon eşliğinde stetaoz, lökosit infiltrasyonu, bağ dokusunda artış ve PAS reaksiyonu şiddetinde azalma görülmüştür. Buna ek olarak oksidatif hasarı vurgulayan apoptotik hücreler ve NOX-2 pozitif hücreler sayıca artış göstermiştir. MSG + APO grubunda ise hepatositlerde daha az derecede vakuolizasyon, periportal alanda azalmış lökosit infiltrasyonu, normal yapıda kollajen lif ve bağ dokusu ve PAS reaksiyonunda artış gözlemlenmiştir. Ek olarak apoptotik hücre ve NOX-2-pozitif hücre sayısında azalma gözlemlenmiştir. Böylece, histopatolojik skorlama eşliğinde anlamlı iyileşme olduğu izlenmiştir. Bu bulgular, APO'nun monosodyum glutamatın neden olduğu karaciğer hasarını azaltmada potansiyel bir koruyucu rol oynayabileceğini göstermiştir (14).

Yapılan bir diğer benzer çalışmada, C vitamininin sıçanlarda monosodyum glutamat ile indüklenen deneysel karaciğer hasarı üzerindeki olası etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada deney hayvanları 3 gruba ayrılmıştır: İlk gruba %0,9 NaCl içeren diyet; ikinci gruba 6 mg/g MSG içeren diyet; üçüncü gruba ise 6 mg/g MSG içeren diyet ve ardından 45 gün boyunca C vitamini (500 mg/kg) verilmiştir. İkinci gruba ait incelenen karaciğer doku kesitlerinde santral vende dilatasyon, hepatositlerde dejenerasyon, şişmiş mitokondriyon, piknotik çekirdek ve genişlemiş endoplazmik retikulum membranları gibi ciddi değişiklikler izlenmiştir. Ayrıca hem karbonhidrat hem de proteinlerde belirgin azalma, ki-67 ve p53 proteinlerinin ekspresyonunda önemli değişiklikler de görülmüştür. Bu çalışmadaki tüm veriler MSG kaynaklı karaciğer hasarını işaret etmiştir (29). Üçüncü grupta ise sadece monosodyum glutamat ile tedavi edilen sıçanların karaciğerine kıyasla hepatositlerde hidropik dejenerasyonda belirgin şekilde azalma, kollajen birikiminde azalma ve bağ dokusu liflerinde bir iyileşme görülmüştür. Ayrıca, normal şekilli kaba endoplazmik retikulum, nükleolus ve nükleer zarf şeklinde ultrastrüktürel değişikliklerde bir iyileşme olduğu da görülmüştür. C vitaminin önemli bir antioksidan aktiviteye sahip olmasından dolayı reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyerek MSG kaynaklı oluşan hasar üzerindeki olumlu etkisinin olduğu kanısına varılmıştır.

Takai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, MSG uygulanan C57BL/6J erkek farelerin metabolik özellikleri ile karaciğerlerinde ve yağ dokularında meydana gelen histolojik değişiklikler araştırılmıştır. MSG grubunu oluşturan farelere deri altına 4

mg/g MSG enjeksiyonu uygulanırken, kontrol grubuna ait farelere ise aynı hacimde salin enjeksiyonu uygulanmıştır. Diğer bir grup fare ise metiyonin ve kolinden fakir diyetle (MCD) beslenmiştir. MSG uygulanan farelerin serum insülin ve kolesterol seviyeleri kontrol grubundaki farelere kıyasla daha yüksekken, MCD diyeti ile beslenen farelerde bunun tam tersi durum gözlenmiştir. Hem MSG hem de MCD gruplarına ait farelerin karaciğerlerinde mikroveziküler steatoz ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edildi. MSG grubundaki farelerin epididim dokusunda genişlemiş adipositler, karaciğer dokusunda ve epididimal yağ dokusunda sırasıyla monosit ve M1 makrofaj sıklığının arttığı gözlemlendi. Bu çalışma sonucunda, MSG uygulamasının hiperinsülinemi ve hiperkolesterolemiye neden olmakla beraber, eozinofil, lenfosit, nötrofil, plazmasit, mast hücreleri ve makrofajların hücrel infiltrasyonuna, hepatositlerde lipozom birikimine ve nihayetinde alkolik olmayan steatohepatite (NASH) yol açtığı bildirilmiştir (125).

Çalışmamızda, literatürdeki çalışmalara benzer olarak MSG'nin karaciğer dokusunda oluşturduğu hasar ve FA'in tedavi edici bu hasarı ışık mikroskobu düzeyindeki incelemeler sonucunda gözlemlendi. Wistar albino sıçanlardan alınan karaciğer dokusu örneklerinden elde edilen kesitlerin H&E boyaması ile incelenmesi sonucu Kontrol grubu ve DMSO+FA karaciğer doku örneklerinin normal morfolojiyi yansıttığı görülür iken, MSG ve MSG+DMSO uygulanan hasar gruplarında karaciğer parankimasında belirgin harabiyet bulguları izlenmiştir. Histopatolojik skora ile de belirgin olarak vurgulanan bu bulgular hepatik steaosis, hepatositlerde vakuolizasyon, glikojen içeriğinde azalma, periportal alanlarda ve santral ven çevresinde lökosit infiltrasyonu ve sinüzoidlerde genişleme şeklinde izlenmiştir. MSG+FA grubunun ise Kontrol grubuna yakın bir morfolojiyi yansıttığı ve artmış olan dejeneratif bulguların bu tedavi grubunda anlamlı olarak azaldığı histopatolojik skorlama eşliğinde görülmüştür (Şekil 14).

Çalışmamızda, ışık mikroskobu düzeyinde karaciğer parankimasında bağ dokusu dağılımını gözlemlemek için kesitlerin Masson'un trikrom boyası ile boyanması sonucunda Kontrol grubu ve DMSO+FA grubunda santral ven çevresinde, periportal alanda ve sinüzoid duvarında bağ dokusu dağılımı normal düzeyde izlendi. Ancak hasar grupları olan MSG ve MSG+DMSO gruplarına ait karaciğer doku kesitlerinde

yukarıda belirtilen parankimal bölgelerde bağ dokusunda belirgin artış izlendi. Tedavi grubu olan MSG+FA grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde ise bağ dokusu dağılımı Kontrol grubuna yakın düzeyde görüntülendi.

Tüm deney gruplarında karaciğer doku kesitlerinde hepatositlerde glikojen içeriğini gözlemlemek için uygulanan Periyodik Asit-Schiff (PAS) reaksiyonu sonucunda Kontrol grubu ve DMSO+FA grubunda karaciğer hepatosit sitoplazmalarında belirgin PAS reaksiyonu eşliğinde yaygın glikojen dağılımı görülmekte iken MSG ve MSG+DMSO gruplarında glikojen içeriğindeki azalmayı vurgulayan PAS reaksiyonunun şiddetinde azalma izlendi (Şekil 15). Tedavi grubu olan MSG+FA grubu karaciğer doku kesitlerinde ise hepatosit sitoplazmalarındaki glikojen dağılımları Kontrol grubuna yakın düzeyde PAS reaksiyonu eşliğinde görüntülendi.

Çalışmamızda geçirimli elektron mikroskobu düzeyinde karaciğer dokuları incelendiğinde Kontrol ve DMSO+FA grubunda normal ince yapıyı yansıtan hepatosit sitoplazması, sinüzoid duvarı ve parankima gözlemlenmiştir. MSG ve MSG+DMSO gruplarında hepatosit sitoplazmalarında vakuolizasyon, GER ve SER membranlarında genişleme, mitokondriyonlarda krista kaybı ve şekil bozukluğu ve safra kanallüküllerinin mikrovillus yapılarında küntleşme/silinme izlenmiştir. MSG+FA grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde ise yer yer dejenerasyon görülürken normal ince yapı gözlemlenmiştir.

Çalışmamız içeriğindeki histokimyasal ve geçirimli elektron mikroskopik düzeydeki bulgular, yukarıda belirtilen literatür verileri ile uyumlu olarak nitelendirilmiştir.

Ferulik asit (FA) bitkilerde yaygın olarak bulunan ve antioksidan kapasitesi ile bilinen bir fenolik asittir. Wang ve arkadaşları, ferulik asitin sıçanlarda Aflatoksin B1 (AFB1) kaynaklı karaciğer hasarı üzerindeki önleyici etkisini ve bunun altında yatan mekanizmaları araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Aflatoksin'in B1 (AFB1) CYP450 enzimleri tarafından katalize edilen epoksidize metaboliti aflatoksin B1-8,9-epoksit (AFBO) aracılığıyla oksidatif strese ve hepatosit apoptozuna neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada 6 haftalık erkek Wistar sıçanlar klasik diyetle (kontrol

grubu), 300 µg/kg AFB1 standardı içeren diyet ile (AFB1 grubu), 300 µg/kg AFB1 diyeti ile ve 120 mg/kg FA diyeti ile (A+F grubu) ve 120 mg/kg FA ile beslenmiştir (FA grubu). Çalışma sonucunda; FA uygulamasının AFB1'in neden olduğu piknotik çekirdek, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hepatosit dejenerasyonu gibi histopatolojik değişiklikleri hafiflettiği, AFB1'in neden olduğu hepatositlerde oluşan oksidatif hasar, hepatosellüler apoptoz ve hepatosellüler karsinom gibi serolojik indekslerin yükselmesini engellediğini ve karaciğerde AFBO üretimini azalttığı ve AFB1 ile indüklenen CYP450 ekspresyonundaki artışın önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Böylece, FA'nın CYP450 enzimini inhibe ederek, antioksidan yolak Nrf2/GST'yi uyararak, ROS ve MDA üretimini inhibe ederek, SOD ve GST gibi antioksidan enzimleri aktive ederek ve mitokondriyal yolu yeniden düzenleyerek sıçanlarda AFB1 kaynaklı karaciğer hasarına karşı etkili olduğu belirlenmiştir (136).

Ferulik asitin, güçlü bir antioksidan özeliği taşıyan fitokimyasal bir madde olduğunu gösteren başka bir çalışmada, 7-8 haftalık 24 erkek Wistar sıçanı (150-160 g) kullanılmıştır. Metotreksatın (MTX) uygulanan sıçanlarda deneysel karaciğer hasarı oluşturularak oksidatif stres, inflamasyon, Nrf2/HO-1 sinyali ve Peroksizom Proliferatör ile Aktive Edilen Reseptör-γ (PPARγ) 'nın aktivasyonu eşliğinde FA'nın antioksidan rolü araştırılmıştır. Grup I'e tek bir intraperitoneal (i.p.) salin enjeksiyonu yapılırken, grup II-IV'e 16. günde 20 mg/kg MTX verilmiştir. Grup I ve II 15 gün boyunca ağızdan %0,5 karboksimetil selüloz (CMC) almıştır. Grup III ve IV'e 15 gün boyunca %0,5 CMC içinde çözölmüş 25 ve 50 mg/kg FA oral olarak verilmiştir. 19. günde hayvanlar tiyopental anestezisi altında sakrifiye edilmiş ve analizler için kan ve karaciğer örnekleri toplanmıştır. Kontrol hayvanlarına ait kesitlerde normal karaciğer morfolojisi izlenirken MTX uygulaması, hepatositlerde vakuolizasyon eşliğinde dejeneratif değişiklikler, steatoz, aktif Kupffer hücreleri, inflamatuvar hücre infiltrasyonu dahil olmak üzere birçok morfolojik değişikliğe yol açmıştır. MTX uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda reaktif oksijen türleri, lipid peroksidasyonu ve nitrik oksitin arttığı gözlemlenmiştir. Ek olarak MTX'in, serum transaminaz, albümin ve bilirubin düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla artışa neden olduğu belirlenmiştir. MTX ile indüklenen karaciğer hasarını önlemek için FA uygulanan deney grubuna ait karaciğer kesitlerinde parankimanın normale yakın morfolojiyi yansıttığı, gözlenmiş olup, FA uygulamasının, karaciğer fonksiyonlarını normale

döndürdüğü, Nrf2/HO-1 sinyali ve PPAR γ 'yi aktive ederek ve oksidatif stresi, inflamasyonu ve hücre ölümünü azaltarak MTX hepatotoksitesini önlediği belirlenmiştir (77).

Yapılan başka bir çalışmada, C57BL/6 erkek ve dişi fareler (22-24 g) kullanılarak FA'nın antifibrotik etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Deney hayvanları kontrol grubu, CCl₄ grubu, CCl₄ + FA (düşük doz) grubu, CCl₄ + FA (orta doz) grubu ve CCl₄ + FA (yüksek doz) grubu olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. 8 hafta boyunca kontrol grubuna oral yoldan 1 ml/kg zeytinyağı verilirken, karaciğer fibrozisini indüklemek için diğer gruplara haftada iki kez oral yoldan 1 ml/kg CCl₄ verilmiştir. CCl₄ + FA gruplarına son 4 hafta boyunca oral yoldan farklı dozlarda (25, 50 ve 100 mg/kg) olmak üzere FA verilmiştir. Bu çalışma sonucunda CCl₄ verilen gruplarda indüklenen inflamasyon, fibrotik karaciğer hasarı ve parankimada kollajen lif artışı gözlemlenirken, FA ile tedavi edilen gruplarda ise FA'nın bu etkileri iyileştirdiği bildirilmiştir. FA'nın farklı karaciğer hücrelerinde AMPK fosforilasyonu yoluyla hepatik oksidatif stresi, makrofaj aktivasyonunu ve HSC aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. FA'nın CCl₄'ün neden olduğu fibrotik yanıtları önemli ölçüde önlediğini, hepatositlerdeki balonlaşma tarzı dejeneratif bulguların ve parankimadaki lökosit infiltrasyon alanlarının ayrıca kollajen liflerdeki artışın azaldığı H&E ve Masson'un Trikom boyamaları eşliğinde belirgin şekilde gösterilmiştir. CCl₄ uygulanan grupta malondialdehit (MDA) kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artarken, süperoksit dismutaz (SOD) seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. FA'nın MDA seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü, yüksek doz FA verilen grupta SOD seviyesinin yükseldiği görülmüştür. Serumda biyokimyasal analizlerin sonucunda CCl₄'ün alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST) seviyelerini önemli ölçüde artırdığı ve FA uygulaması yapılan gruplarda ise bu değerlerin belirgin şekilde düşüşe geçtiği görülmüştür (134).

Tüm bu literatür verilerine paralel olarak, çalışmamızda MSG etkisi ile oluşan karaciğer doku harabiyetinin antioksidan etkisi bilinen ferulik asit (FA) uygulaması ile belirgin derecede iyileştiğini histopatolojik skorlama eşliğinde izledik. MSG uygulanması sonucu oluşan karaciğer hasarını sonrası görülen hepatik steatoz, hepatositlerde vakuolizasyon, lökosit infiltrasyonu, sinüzoidlerde genişleme gibi

değişiklikler FA uygulaması sonucunda önemli derecede düzelmiştir. Ek olarak, MSG+FA grubunda santral ven ve portal alan çevresinde normale yakın bir bağ dokusu dağılımı ve hepatosit sitoplazmalarında normal seviyede glikojen dağılımı gözlemlenmiştir. Geçirimli elektron mikroskopik düzeyde incelemelerde FA uygulanan grupta, MSG etkisi ile oluşan hepatositlerde steatoz, mitokondriyon, apikal mikrovillus ve safra kanalikülü mikrovillus yapılarında bozulma ve piknotik nükleus gibi ince yapı düzeyindeki bozuklukların FA'nın etkisi ile belirgin bir azalma göstererek karaciğer dokusunda normale yakın ince yapı gözlemlenmiştir. Karaciğer dokusunda MSG ile indüklenen oksidatif strese bağlı artış gösteren MDA, TOS ve OSİ seviyeleri FA uygulaması sonucunda azalmıştır. Benzer şekilde oksidatif strese bağlı olarak düşüş gösteren GSH, SOD ve TAS seviyelerinde ise yükselme görülmüştür. Böylece, FA uygulamasını sonucunda karaciğer dokusunda meydana gelen hasarın ve oksidatif stresin azaldığını gösteren histolojik bulgular, biyokimyasal parametrelerle desteklenmektedir.

NO sentezini sağlayan üç nitrik oksit sentaz (NOS) izoenzimi vardır. Bunlardan esas olarak vasküler endotelde bulunan izoenzim endotelial-NOS (eNOS) olarak adlandırılır ve endotel fonksiyonlarını korumak için gereklidir. Bu sebeple eNOS'un ekspresyonu (belirli bir genin ne kadar aktif olduğunu gösteren protein üretimi) veya aktivitesini belirlemek için birçok çalışma yapılmaktadır. Azimifar ve arkadaşları, çalışmalarında hepatositler, Kupffer hücreleri, sinüzoid duvarını döşeyen endotel hücreleri, stellat hücreleri ve intrahepatik kolanjiositler gibi yüksek oranda saflaştırılmış murin hepatik hücre tiplerini elde etmek için yoğunluk gradyan santrifüjleme ve manyetik afinite hücre ayırma tekniklerini kullanmıştır. Gelişmiş bir sıvı kromatografisini kullanarak saflaştırılmış olan hepatositlerde eNOS'un, Kupffer hücrelerinde ve endotel hücrelerindeki yüksek ekspresyonunu belirlemişlerdir. Aynı yöntemi kullanan Sheldon ve arkadaşları, manyetik aktive hücre ayırma ve immünofloresan kullanarak C57BL/6J farelerinden izole edilmiş primer hepatositlerde eNOS ekspresyonunu göstermişlerdir. Bir diğer çalışmada obez *Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty* (OLETF) sıçanlarda hepatik steatozdan NASH'a geçiş sırasında normal hepatik eNOS aktivasyonunun önemli ölçüde azaldığı gösterilmiş ve karaciğer hastalığının ilerlemesinde sırasında eNOS seviyelerinde düşüş gözlemlenmiştir (11, 107,116) Aktive olmuş Kupffer hücreleri ve hepatik stellat hücrelerinde azalmış eNOS

aktivitesi ve azalmış NO üretimi diğer benzer çalışmalarda gösterilmiş olup, bu bulgular literatürdeki benzer çalışmaları destekler niteliktedir (126, 135).

Yapılan bir çalışmada, hepatositlerde endotelial nitrik oksit sentaz seviyesinin (eNOS), alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) ve alkole bağlı olmayan steatohepatit (NASH) patolojisinde etkin olduğunu göstermeyi hedeflemişlerdir. Artmış steatoz, hepatositlerde balonlaşma ve inflamasyon görülen hastalarda paralel olarak histopatolojik skorlamada yükselme izlenirken, hepatik mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunda azalma ve hepatik protein ekspresyonunda düşük oranda mitofaji proteini ile beraberinde azalmış hepatik eNOS ekspresyonu gösterilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda ise hepatositlerde eNOS'un aşırı eksprese edilmesi durumunda hepatositlerde mitokondriyal solunum artmış ve bu durumun Batı diyetinin neden olduğu NASH'ı hafiflettiği gösterilmiştir (107).

Lee ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada metiyonin-kolin eksikliği (MCD) diyetiyle indüklenen NASH'de relaxin-2 ile tedavi edilen farelerde hepatik eNOS aktivasyonunun arttığı, Kupffer hücresi ve stellat hücre aktivasyonunun ise azaldığı izlenmiştir. Araştırmacılar NASH gelişimini önlemeye yönelik olarak eNOS aktivite düzeylerinin önemli bir kriter olabileceğini öne sürmüşlerdir (74).

Fernand Gobeil ve arkadaşları sıçan hepatositlerinin lizofosfatidik asit (LPA) ile uyarılması ile iNOS ve mPGES-1 (mikrozomal prostaglandin E sentaz-1) erken genlerinin LPA1 reseptör aracılı ve nitrik oksit bağımlı regülasyonunu göstermeyi hedeflemişlerdir. LPA hem hücre dışı hem de hücre içi bir aracı olduğundan, organellerin nükleer eNOS'un aktivasyonu ve ardından NO üretimi üzerine iNOS gen ekspresyonunu kendi başlarına indükleyip indükleyemeyeceklerini değerlendirmek için bu deneyleri yüksek oranda saflaştırılmış sıçan hepatik çekirdekleri üzerinde yapmışlardır. Sıçan hepatoma hücreleri üzerinde gerçekleştirilen LPA ile uyarılma üzerine periferik bölgelerden nükleer bölgelere dinamik bir eNOS translokasyonu ve spesifik antikolar kullanılarak immünogold etiketleme ile sıçan karaciğer örneklerinde konfokal mikroskobu kullanılarak eNOS'un nükleer lokalizasyonu *in situ* olarak gösterilmiştir. Dolayısıyla, eNOS aktivitesi iNOS gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamıştır. Bu bağlamda eNOS'un çekirdekte

dağıldığı gözlemlenmiştir. Bu veriler eNOS aktivasyonunun sadece sinüzoid duvarını döşeyen endotel hücrelerinde değil; hepatositlerde de eNOS varlığını güçlü şekilde ifade etmektedir (42).

Tez çalışmamızda, immünohistokimyasal olarak endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) reaksiyonlarının dağılımı ve yoğunluğu incelendiğinde; gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlendi. MSG ve MSG+DMSO grubu ile Kontrol grubu ve DMSO+FA grubu karşılaştırıldığında eNOS immün reaktivitesinin hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde, santral ven ve damar endotelinde anlamlı olarak azaldığı gözlenirken tedavi grubu olan MSG+FA grubunda kontrol grubuna yakın seviyede anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi. MSG ile oluşturulan hasar gruplarında eNOS ekspresyon seviyelerinin düşük olması, olası bir mekanizma olarak MSG'nin oksidatif stresi artırması ve nitrik oksit (NO) üretimini azaltması ile ilişkilendirilebilir. Düşük eNOS ekspresyonunun, nitrik oksit üretiminde azalma ve dolayısıyla vazodilatasyonun da (damar genişlemesi) azalması gibi etkilerle oksidatif hasarın artmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. MSG ve FA kombinasyonu ile tedavi edilen grupta ise yüksek eNOS ekspresyonunun gözlenmesi, FA'nın MSG'nin neden olduğu hasar üzerindeki tedavi edici etkisini destekler niteliktedir. FA'nın eNOS ekspresyonunu artırması, NO üretimini artırabilir ve dolayısıyla oksidatif stresin azaltılmasına ve doku iyileşmesinin teşvik edilmesine yardımcı olabilir.

Yapılan bir deneysel çalışmada, 3 aylık erkek Wistar albino sıçanlara (180-200 g) gavaj yoluyla 10 gün boyunca 0,6 mg/g vücut ağırlığı dozunda uygulanan monosodyum glutamat (MSG), lipid peroksidasyonunu (LPO) önemli ölçüde indüklemiş, indirgenmiş glutatyon (GSH) seviyesini ise düşürmüştür. Bu bulgular 10 günlük uygulamadan 24 saat sonra gözlenmiştir. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve gama glutamil transferaz (GGT) aktiviteleri de MSG uygulamasını takiben deney hayvanlarının serumda önemli ölçüde artmıştır. Diğer bir grupta 10 gün boyunca MSG ile aynı zamanda verilen E vitamini (0,2 mg/g vücut ağırlığı) LPO düzeyini önemli ölçüde azaltmış olup, serumdaki ALT, AST ve GGT aktivitelerinde de önemli ölçüde azalma izlenmiştir. İlgili çalışmada 0,6 mg/g vücut ağırlığı dozundaki MSG'nin sıçanlarda oksidatif stres ve hepatotoksiteyi

indüklediği, E vitamininin ise MSG kaynaklı oluşan oksidatif stres ve hepatotoksisiteyi önemli ölçüde önlediği gösterilmiştir (100).

Yapılan bir diğer çalışmada, 95 g ağırlığında yetişkin Wistar albino sıçanlara 14 gün boyunca 0,6 ve 1,6 mg/g vücut ağırlığı dozlarında deri altından enjeksiyon ile monosodyum glutamat uygulanmıştır. Farklı dozlarda MSG uygulanan diğer deney gruplarına aynı süre boyunca MSG ile birlikte sırasıyla C vitamini (0,3 mg/g vücut ağırlığı) ve E vitamini (0,2 mg/g vücut ağırlığı) uygulanmıştır. Karaciğer fonksiyonları ile ilgili olarak, MSG uygulaması etkisi ile serumda alanin aminotransferaz (ALT) ve γ glutamil transferaz (GGT) aktivitesi önemli ölçüde artarken, serum total protein, albümin ve serum total bilirubin seviyeleri belirgin olarak azalmıştır. Sonuç olarak, 0,6 ve 1,6 mg/g vücut ağırlığı dozlarındaki MSG'nin karaciğer fonksiyonları üzerinde olumsuz bir etkiye neden olduğu ve bunun da MSG'nin karaciğer dokusunda indüklemiş olduğu oksidatif strese bağlı olarak olduğu gösterilmiştir. C vitamini ve E vitamini takviyesinin ise karaciğer fonksiyonları üzerinde MSG'nin neden olduğu oksidatif stresi önleyebildiği izlenmiştir (80).

MSG'nin maternal ve fetal karaciğer üzerindeki etkisi incelemek amacıyla yapılan bir diğer çalışmada 16 yetişkin dişi ve üreme çağındaki 8 erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Kontrol grubu gebeliğin 20. gününde sakrifiye edilmiştir. MSG grubuna gebeliğin 0. gününden 20. gününe kadar günlük 1g/5 mL/kg vücut ağırlığı dozunda oral yoldan MSG uygulanmıştır. Kontrol grubunda, anne sıçanların ve fetüslerinin karaciğerlerinde normal morfoloji izlenmiştir. Gebeliğin 1. gününden 20. gününe kadar MSG uygulanan gebe dişi sıçanlardan alınan karaciğer kesitlerinin histolojik incelemesinde periportal alanlarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kan damarları ve sinüzoidlerde genişleme gözlenmiştir. Çok sayıda hepatositte piknotik nükleus ve sitoplazmada yağlı dejenerasyon izlenen diğer bulgular arasında yer almıştır. Ayrıca MSG uygulanan anne sıçanlardan elde edilen fetüslerin karaciğer kesitlerinde çok yoğun amiloid birikimi izlenmiştir. Bunlara ek olarak MSG, hamile annelerin ve fetüslerinin karaciğer dokusunda TNF- α , NO ve MDA artışına ek olarak SOD ve GSH aktivitelerini önemli ölçüde azaltmıştır ve toplam polisakkaritlerin azalmasına yol açmıştır. Bu gruba ait sıçanlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumda

yapılan biyokimyasal analizler sonucunda, ALT, AST, ALP ve total bilirubin seviyelerinde de artış saptanmıştır (49).

Omogbiya ve arkadaşları tarafından yapılan bir değer deneysel çalışmada, gruplara ayrılan 30 yetişkin erkek İsviçre faresine (28-34 g) 14 gün boyunca oral yoldan MSG (2, 4 ve 8 g/kg olmak üzere) ve normal salin (10 mL/kg) verilmiştir. MSG uygulanan farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) düzeyinde ve NO içeriklerinde üst düzeyde artışlar görülürken GSH, SOD ve CAT gibi antioksidan-koruyucu belirteçlerin karaciğer dokularındaki seviyelerinde düşüş olduğu görülmüştür. MSG uygulanan farelerde ALT, AST ve ALP gibi karaciğer enzim düzeyleri artmış olup karaciğer dokusunda Kupffer hücre hiperplazisi, vakuolar dejenerasyon ve nekrotik koagülasyon gibi birçok hepatoselüler dejenerasyona sebep olduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak karaciğer protein (albümin, bilirubin ve toplam protein) seviyelerinde yükselişin hepatoksisiteyi işaret ettiği gösterilmiştir (98).

Bizim de çalışmamızda, literatür verileri ile uyumlu olarak, yapılan mikroskopik, immünohistokimyasal incelemeler ve biyokimyasal analizler sonucunda MSG uygulamasının karaciğerde morfolojik düzeyde ve oksidatif stres belirteçlerinde değişiklikler eşliğinde hasar oluşturmuş olup, biyokimyasal düzeyde de MDA, TOS, OSI ve ALP seviyelerinde artış izlenirken GSH, SOD ve TAS seviyelerinde düşüş gözlenmiştir. ALT, AST ve TBLB seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Yapılan bir deney çalışmasında, 36 *Sprague-Dawley* erkek sıçan (200-220g) kullanılarak karaciğer hasarında A438079 ile pürinerjik reseptör (P2X7R) antagonizmasının hepatoprotektif etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Llipopolisakkarit (LPS) uygulaması ile deneysel bir inflamasyon modeli gerçekleştirilmiştir. Gruplar Kontrol, A438079, DMSO, LPS, LPS+DMSO ve LPS+A438079 idi. LPS salin içinde (80mg/mL) ve A438079 dimetil sülfoksit (DMSO) içinde (150 mg/mL) çözülmüştür. LPS ve A438079 sıçanlara intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edilmiştir. LPS (8 mg/kg) enjeksiyonunu takiben, çalışma gruplarına A438079 (15mg/kg) ve DMSO (0.1mL) uygulandı (i.p). Histopatolojik analizde, LPS ve LPS + DMSO gruplarının karaciğer dokusunda hepatositlerde

dejenerasyon, kolajen birikiminde artış, vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlar görülmüştür. Ancak Kontrol, A438079 ve DMSO gruplarında önemli histopatolojik değişiklikler gözlenmemiştir. LPS+A438079 grubunda ise LPS grubuna kıyasla bu etkiler azalmıştır. Histolojik analizde, LPS ve LPS+DMSO gruplarında şiddetli sinüzoidal dilatasyon, nekrotik hepatositler ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenirken, LPS+A438079 grubunda bu etkiler azalmıştır. Protein ekspresyon seviyeleri LPS ve LPS+DMSO gruplarında LPS+A438079 grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olarak izlenmiştir. Öte yandan, bu protein ekspresyonları Kontrol, A438079 ve DMSO gruplarında LPS+A438079 grubuna kıyasla önemli ölçüde düşüktü. Biyokimyasal analizde, AST ve ALT konsantrasyonları, GSH seviyesi LPS ve LPS+DMSO gruplarında LPS+A438079 grubuna kıyasla önemli ölçüde azalmış ve MDA seviyesi A438079, DMSO ve A438079+DMSO gruplarına kıyasla önemli ölçüde artmıştı. Ayrıca, LPS+A438079 grubunun MDA seviyeleri Kontrol, A438079 ve DMSO gruplarınınkinden daha yüksekti. LPS, LPS + DMSO ve LPS + A438079 gruplarının GSH seviyeleri diğer gruplardan daha düşük olarak bulunmuştur. Kontrol, A438079 ve DMSO grupları arasında MDA, GSH, AST ve ALT seviyeleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Bu çalışma sonucunda yaygın olarak kullanılan bir çözücü olan DMSO'nun karaciğer üzerinde sitotoksik etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir. DMSO'nun hücrelere olan etkisi, konsantrasyonuna, uygulama süresine ve hücre tipine bağlı olarak değişebilir. Ancak, düşük konsantrasyonlarda ve uygun şekilde kullanıldığında, DMSO'nun hücre büyümesini ve hücre fonksiyonlarını etkilemediği gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında DMSO+FA ve MSG+DMSO gruplarında DMSO'nun anlamlı etki oluşturmadığı görülmüştür. Böylece, bu tez çalışmasındaki verilere paralel doğrultuda olacak şekilde literatürde de DMSO'nun karaciğer dokusuna doğrudan zarar vermediği görülmüştür (65).

6 SONUÇ

Bu çalışmada sonuç olarak MSG ile oluşturulan deneysel karaciğer hasarında, Kontrol grubuna kıyasla bir dizi histopatolojik ve biyokimyasal düzeyde değişiklik gözlemlenmiştir. MSG ve MSG+DMSO gruplarında hepatositlerde vakuolizasyon, steatoz ve glikojen içeriğinde azalma, sinüzoidlerde genişleme ve vazokonjesyon, parankimada inflamatuvar hücre infiltrasyonu, bağ dokusundaki belirgin artış şeklinde birçok önemli değişiklikler histopatolojik skora eşliğinde izlenmiştir. Aynı bulgular geçirimli elektron mikroskopik düzeydeki incelemelerde de tüm gruplarda gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda ayrıca MSG'nin eNOS ekspresyonunu düşürerek oksidatif stresi arttırdığı gözlemlendi. Tedavi grubu olan MSG+FA grubunda ise hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde ve karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinde MSG uygulanan diğer gruplara kıyasla artmış eNOS ekspresyonu gözlemlenmiştir. FA'nın eNOS ekspresyonunu artırarak oksidatif stresi azalttığı ve MSG'nin neden olduğu hasar üzerindeki koruyucu etkisi gösterilmiştir.

Biyokimyasal belirteçlerde yapılan incelemeler, MSG ve MSG+DMSO gruplarında karaciğer dokusundaki oksidatif stres seviyelerinde artışı ve antioksidan savunma mekanizmalarının azalmasını göstermiştir. Bu gruplarda özellikle, malondialdehit (MDA), total oksidan kapasitesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) ve alkalın fosfataz (ALP) seviyelerinde artış gözlemlenirken, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve total antioksidan kapasite (TAS) seviyelerinde ise düşüş tespit edilmiştir. Ancak, MSG+FA grubunda bozulmuş bu parametrelerin düzeylerinin tersine çevrildiği, azalan MDA, TOS, OSI ve ALP düzeyleri görülürken, artan GSH, SOD ve TAS seviyeleri gözlemlenmiştir. Ancak bu gruplara ait ALT, AST ve TBLB seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Bu sonuçlar, FA'nın oksidatif stresi azaltıcı ve antioksidan savunma mekanizmalarını destekleyici etkisi ile, MSG'nin neden olduğu karaciğer hasarı üzerindeki iyileştirici etkisini vurgulamaktadır.

Literatürdeki benzer çalışmalara paralel şekilde histokimyasal, immünohistokimyasal, ultrastrüktürel ve biyokimyasal parametreler düzeyinde elde ettiğimiz veriler doğrultusunda MSG'nin karaciğer dokusu üzerinde neden olduğu hasara karşın FA'nın tedavi edici antioksidan madde olarak uygulandığı dozda reaktif oksijen türlerinin oluşmasını önleyerek oksidatif hasarı engellediği, eNOS seviyesini düzenlediği ve karaciğer parankimasında MSG ile indüklenen harabiyeti belli bir oranda iyileştirdiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın diğer bir bulgusu da, deney gruplarında çözücü ajan olarak kullanılan dimetil sülfoksitin (DMSO) karaciğer dokusu üzerinde herhangi bir ilave harabiyet ya da iyileştirme göstermemiş olmasıdır.

Gıda endüstrisinde MSG'nin belli ölçüde katkısı olduğu düşünülse de, bu lezzet arttırıcının sıklıkla kullanımının halk sağlığı açısından olumsuz sonuçlar doğurabileceği aşıkardır. Bu lezzet arttırıcı yüksek miktarlarda ve bilinçsizce gıdalara eklenmemelidir. Özellikle de MSG'nin sınır değerlerinin aşılması halinde sağlık üzerinde risklere sebep olacağı aşıkardır. Eğer deneysel ve klinik araştırmalar sonucu MSG'nin doz bazında toksisitesine dair daha kesin kanıtlar elde edilirse, bu gıda katkısının tamamen yasaklanmasının da gündeme alınması önem kazanacaktır. Bu tür düzenlemeler hem tüketicilerin sağlığını korumak hem de gıda endüstrisinde güvenilir ürünlerin üretilmesini sağlamak için önemlidir.

Ferulik asit uygulamasının da karaciğer doku hasarını önlemeye yönelik olarak potansiyel bir tedavi stratejisi olarak ilerideki çalışmalara katkı sağlayabileceğini görüşü bu çalışmamızın sonucunda ortaya çıkmıştır.

7 KAYNAKLAR

1. A Sharma, Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: a mini-review. *A Journal of Biomedical Science*. 2015; 22:93.
2. A Zanfirescu, A Ungurianu, AM Tsatsakis, GM Nițulescu, D Kouretas, A Veskoukis et al. A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2019;18(4):1111–1134.
3. Abdallah CG, Jiang L, De Feyter HM, Fasula M, Krystal JH, Rothman DL et al. Glutamate metabolism in major depressive disorder. *Am J Psychiatry*. 2014; 171:1320-7.
4. Abraham L., Kierszen Basım, MD, NAD, Sindirim Bezleri, Arbak S, *Histoloji ve Hücre Biyolojisi* 1.baskı, Ankara, Palme Yayıncılık. 2006; 447-474.
5. Aburto NJ, Ziolkovska A, Hooper L, Elliott P, Cappuccio FP, Meerpohl JJ. Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. *BMJ*. 2013; 346:1–20.
6. Aktümsek A. *Anatomi ve Fizyoloji insan Biyolojisi*, 3. baskı, Nobel Yayınları, Ankara, 2006; s. 366-367.
7. Allameh A, Niayesh-Mehr R, Aliarab A, Sebastiani G, Pantopoulos K. Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxidants*. 2023; 12:1653.
8. Arnab Banerjee, Sandip Mukherjee, Bithin Kumar Maji, Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicology Reports*. 2021; 8:938–961.
9. Ashutosh Gupta, Amit Kumar Singh, Mariam Loka, Abhay Kumar Pandey, Anupam Bishayee, Ferulic acid-mediated modulation of apoptotic signaling pathways in cancer, *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, Academic Press. 2021; 125:215-257.
10. Ault A. The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids. *J Chem Educ*. 2014; 81(3):347–55.
11. Azimifar SB, Nagaraj N, Cox J, and Mann M. Cell-type-resolved quantitative proteomics of murine liver. *Cell Metab*. 2014; 20:1076–1087.
12. Banerjee A, Das D, Paul R, Roy S, Das U, Saha S, Dey S, Adhikary A, Mukherjee S, Maji BK. Mechanistic study of attenuation of monosodium glutamate mixed high lipid diet induced systemic damage in rats by *Cocciniagrandis*. *Scientific Reports*. 2020; 10(1):15443.
13. Baradaran R, Ghandy N, Alipour N, Rahimi Anbarkeh F. Monosodium glutamate effect on the expression of $\alpha 7$ nACHR and $\alpha 4$ nACHR subunits in the testicular tissue. *Int J Fertil Steril*. 2023; 17(4): 281-286.
14. Begum Sahin, Merve Acikel Elmas, Ozlem Bingol Ozakpinar, Serap Arbak. The Effects of Apocynin on Monosodium Glutamate Induced Liver Damage of Rats. *Heliyon*. 2023; 9(7): e17327.

15. Beyreuther K, Biesalski HK, Fernstrom JD, Grimm P, Hammes WP, Heinemann U, Kempster O, Stehle P, Steinhart H, Walker R. Consensus meeting: monosodium glutamate an update. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61:304–313.
16. Bozkurt S, Koç M. Gıdalarda sodyum azaltımı. *GIDA.* 2022; 47(2):231-251.
17. C Sano, History of glutamate production, *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 728–732.
18. C. Derdemezis, P Voulgari, A Drosos, D Kiortsis. Obesity, adipose tissue and rheumatoid arthritis: coincidence complex relationship? *Clin. Exp. Rheumatol.* 2011; p.712–727.
19. Carnerio J, Kelley RO, Sindirim Kanalına Bağlı Bezler, Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışhalı B, Temel Histoloji, I. baskı, İstanbul Barış Kitabevi. 1998; s. 307-319.
20. Christopher Hadjittofi, Michael Feretis, Jack Martin, Simon Harper, Emmanuel Huguët, Liver regeneration biology: Implications for liver tumour therapies, *World J Clin Oncol.* 2021; 24: 12(12):1101-1156.
21. Cilingir S, Acikel-Elmas M, Arbak S, Kolgazi M. Ferulic acid attenuates pancreaticobiliary duct occlusion-induced inflammation in both pancreas and liver. *Inflammopharmacology.* 2023; 31(2):997-1008.
22. Claire Boutry, Cecile Bos, Hideki Matsumoto, Patrick Even, Dalila Azzout-Marniche, Daniel Tome and François Blachier, Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats. *Frontiers in Bioscience E3.* 2011; 279-290.
23. Cohen P. Spiegelman BM. Cell biology of fat storage. *Mol Biol Cell.* 2016; 15;27(16):2523-7.
24. Couinaud C. Le foie. Etudes anatomiques et chirurgicales. Paris: Masson; 1957.
25. Cunningham RP, Sheldon RD and Rector RS. The Emerging Role of Hepatocellular eNOS in Non-alcoholic Fatty Liver Disease Development. *Front Physiol.* 2020; 11:767.
26. Di-Iacovo N, Pieroni S, Piobbico D, Castelli M, Scopetti D, Ferracchiato S, Della-Fazia MA, Servillo G. Liver Regeneration and Immunity: A Tale to Tell. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24:1176.
27. dos Santos Harada-Padermo S, Dias-Faceto LS, Selani MM, Conti-Silva AC, de Souza Vieira TMF. Umami Ingredient, a newly developed flavor enhancer from shiitake byproducts, in low-sodium products: A study case of application in corn extruded snacks. *LWT.* 2021; 138: 110806.
28. Doulias PT & Tenopoulou M. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. *F1000Research.* 2020; 91-10.
29. El-Meghawry El-Kenawy A, Osman HE, & Daghestani MH (2012). The effect of vitamin C administration on monosodium glutamate induced liver injury. An experimental study. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 2012; 65(5):513–521.
30. Elijah Trefts, Maureen Gannon, and David H. Wasserman, The liver. *Curr Biol.* 2017; 6;27(21):R1147-R1151.
31. Erben T. Histoloji. 2. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi. 1990; 98-110.

32. Erdoğan D, Hatipoğlu T, Görgün M, Ilgaz C, Büyük Sindirim Bezleri, Özel Histoloji, 1. Baskı Ankara, SBAD Yayınları. 1996; 94-999.
33. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005 ;38(12):1103-11. 98
34. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry. 2004; 37:277–285. 97
35. Ermis A, Arıci Colak, G Acikel-Elmas M, Arbak S, Kolgazi M. Ferulic Acid Treats Gastric Ulcer via Suppressing Oxidative Stress and Inflammation. Life. 2023; 13:388.
36. European Commission. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. Off J Eur Union. 2008; 354:16–33.
37. Eweka AO, Igbigbi PS, and Ucheya RE, Histochemical Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Adult Wistar Rats, Annals of Medical and Health Sciences Research. 2011; 1:1.
38. Fang L, Chen M, Liu Z, Fang X, Gou S, Chen L. Ferulic acid-carbazole hybrid compounds: Combination of cholinesterase inhibition, antioxidant and neuroprotection as multifunctional anti-Alzheimer agents. Bioorg Med Chem. 2016; 24(4):886-93.
39. Fawzyah A Al-Ghamdi. Microscopic study of potential toxic effects of monosodium glutamate on liver of chicken embryos aged 16 days, Al-Ghamdi Egyptian Liver Journal 2021;11:38.
40. Füsün Erhan, Levent Ergün, Kanatlı ve Memeli Karaciğerinde Karbonhidrat ve Yağ Metabolizmasının Karşılaştırılması, MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 2018; 6(1): 33-42.
41. Geha RS, Beiser A, Ren C, Patterson R, Greenberger PA, Grammer LC, Ditto AM, Harris KE, Shaughnessy MA, Yarnold PR, et al. Review of alleged reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double-blind placebo-controlled study. Journal Nutr. 2000; 130:1058S–105862.
42. Gobeil F Jr, Zhu T, Brault S, Geha A, Vazquez-Tello A, Fortier A, Barbaz D, Checchin D, Hou X, Nader M, Bkaily G, Gratton JP, Heveker N, Ribeiro-da-Silva A, Peri K, Bard H, Chorvatova A, D'Orléans-Juste P, Goetzl EJ, Chemtob S. Nitric oxide signaling via nuclearized endothelial nitric-oxide synthase modulates expression of the immediate early genes iNOS and mPGES-1. J Biol Chem. 2006; 281(23):16058-67.
43. Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid. Free Radic Biol Med. 1992 ;13(4):435-48.
44. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. Philadelphia: Elsevier. 2010; p.886-889.
45. Gürbüz H. Karaciğerin Damar Sistemi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2004; (21) s. 31-35.
46. Hajihasani MM, et al. Natural products as safe guards against monosodium glutamate-induced toxicity. Iran J Basic MedSci. 2020; 23:416-430.
47. Halis köylü, Anatomi ve Fizyoloji, Ankara Nobel Tıp Kitabevi, 2021.

48. Harma M, Harma M, Koçyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res May*. 2005; 2:583(1):49-54. 99
49. Heba N. Gad EL-Hak, Heba M. A. Abdelrazek, Dalia W. Zeidan, Amani A. Almallah, Howayda E. Khaled. Assessment of changes in the liver of pregnant female rats and their fetuses following monosodium glutamate administration, *Environmental Science and Pollution Research*. 2021; 28:44432–44441.
50. Henrikson RC, Kaye GI. *Key Facts in Histology*. Einburgh, Churchill Livingstone. 1986; 277-84.
51. Henry-Unaeze HN. Update on food safety of monosodium l-glutamate (MSG). *Pathophysiology*. 2017; 24(4):243-249.
52. HF Waer, S Edress. The effect of monosodium glutamate (MSG) on rat liver and the ameliorating effect of “guanidino ethane sulfonic acid (GES)” (Histological, Histochemical and Electron microscopy Studies), *Egypt. J. Hosp. Med*. 2006; 24:524–538.
53. Histoloji TMÖ. İnce yapı ve gelişme. *Antip AŞ Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları Ankara*. 2002; 263-76.
54. HM Bayram, HF Akgoz, O Kizildemir, A Ozturkcan, Monosodium glutamate: review on preclinical and clinical reports, *Biointerface Res. Appl. Chem*. 2022; p. 1–27.
55. Hsin-Lin Cheng, Shan-Chih Lee, Jiann-Jou Yang Ching-Chyuan Su. Protective mechanism of ferulic acid against neomycin-induced ototoxicity in zebrafish, *Environmental Toxicology*. 2023; 38:604–614.
56. Hurtado-Carneiro V, Dongil P, Pérez-García A, Álvarez E, Sanz C. Preventing Oxidative Stress in the Liver: An Opportunity for GLP-1 and/or PASK. *Antioxidants*. 2021; 10:2028.
57. Hülyam Kurt, Ayşe Basaran, Ahmet Musmul. Prevention of Oxidative Stress Induced by Carbon Tetrachloride (CCl₄) Using Catechine in Rats, *Kocatepe Tıp Dergisi, The Medical Journal of Kocatepe May*. 2004; 5:29-34.
58. Ichizo Watanabe et al, Detection of Apoptotic Cells in Human Colorectal Cancer by Two Different in situ Methods: Antibody against single-stranded DNA and Terminal Deoxynucleotidyl Transferase mediated dUTP-biotin NickEnd-labeling (TUNEL) Methods. *Jpn J Cancer Res February*. 1999; 90:188–193.
59. Ikeda K. New seasonings. *Chem Senses*. 2012; 27:847–849.
60. İhsan Karaboğa, Sikloporin Uygulanarak Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda Erdosteinin Koruyucu Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay 2011 (Danışman: Doc. Dr. Ahmet Nacar)
61. Jianan Zhang, Dongxiao Sun-Waterhouse, Guowan Su, Mouming Zhao. New insight into umami receptor, umami/umami-enhancing peptides and their derivatives: A review, *Trends in Food Science & Technology*. 2019; 88:429-438.
62. Junqueira LC, Carneiro J (Çeviri: Y. Aytekin, S. Solakoğlu). *Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2006.

63. K.I. Kasozi et al. Calcium and s100a1 protein balance in the brain-heart axis in diabetic male Wistar rats. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 2021; 32(1):20200074.
64. Kalaycı ğ. *Histoloji. 1.Baskı*, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1986; 361-72.
65. Kara A, Ozkanlar S. Blockade of P2X7 receptor-mediated purinergic signaling with A438079 protects against LPS-induced liver injury in rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2023; 37(10):e23443.
66. Karaliotas CC, Broelsch CE, Habib NA. Liver and biliary tract surgery: embryological anatomy to 3D-imaging and transplant innovations: Springer Science & Business Media. 2008.
67. Kelainy EG, Ibrahim Laila IM, Ibrahim SR. The effect of ferulic acid against lead-induced oxidative stress and DNA damage in kidney and testes of rats. *Environmental science and pollution research international.* 2019; 26(31):31675-84.
68. Kim MJ, Son HJ, Kim Y, Misaka T& Rhyu M. Umami–bitter interactions: The suppression of bitterness by umami peptides via human bitter taste receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2015; 456(2):586–590.
69. Kondoh T, Torii K. Brain activation by umami substances via gustatory and visceral signaling pathways and physiological significance. *Biologic Pharmac Bull.* 2008; 31(10):1827–32.
70. Kumar N, Pruthi V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnol Rep.* 2014; 4:86-93
71. Kunishima N, Shimada Y, Tsuji Y, Sato T, Yamamoto M, Kumasaka T, Nakanishi S, Jingami H, Morikawa K. Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature.* 2000; 407(6807):971–7.
72. Kuran O. *Sistematik anatomi, I. baskı*, İstanbul, Filiz Kitap Evi, 1993; s.429-439.
73. Kurangöz E, Özel *Histoloji, I. baskı*, Isparta, SDÜ basımevi, 2002; s. 95-113.
74. Lee KC, Hsieh YC, Chan CC, Sun HJ, Huang YH, Hou MC et al. Human relaxin-2 attenuates hepatic steatosis and fibrosis in mice with non-alcoholic fatty liver disease. *Lab Invest.* 2019; 99,1203–1216.
75. Luo Z, Li M, Yang Q, Zhang Y, Liu F, Gong L, Han L, Wang M. Ferulic Acid Prevents Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Promoting Fatty Acid Oxidation and Energy Expenditure in C57BL/6 Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients.* 2022; 14:2530.
76. M. Salihu et al. *Crinum jagus* (J. Thomps. Dandy): antioxidant and protective properties as a medicinal plant on toluene-induced oxidative stress damages in liver and kidney of rats, *Toxicol Rep.* 2022; 9:699–712.
77. Mahmoud AM, Hussein OE, Abd El-Twab SM, Hozayen WG. Ferulic acid protects against methotrexate nephrotoxicity via activation of Nrf2/ARE/HO-1 signaling and PPAR γ , and suppression of NF- κ B/NLRP3 inflammasome axis. *Food Funct.* 2019 ;10(8):4593-4607.
78. MahmoudAbd-Elkareem et al. The protective effect of *Nigellasativa* seeds against monosodium glutamate-induced hepatic dysfunction in rats. *Toxicol Rep Jan.* 2022; 28(9):147-153.

79. Maluly HDB, Areas MA, Borelli P, and Reyes FGR. Evaluation of Biochemical, Hematological and Histological Parameters in Non-diabetic and Diabetic Wistar Rats Fed Monosodium Glutamate. *Food and Nutrition Sciences*. 2013; 4:66-76.
80. Manal Said Tawfik, Nawal Al-Badr. Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E, *Food and Nutrition Sciences*. 2012; 3:651-659.
81. Mario Felaco, Alfredo Grilli, Maria A De Lutiis, Antonia Patruno, Nicole Libertini, Alfonso A. Taccardi, Pericle Di Napoli, Camillo Di Giulio, Renato Barbacane and Pio Conti. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Expression and Localization in Healthy and Diabetic Rat Hearts, *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2001; 31:2.
82. Masic U, Yeomans MR. Umami flavor enhances appetite but also increases satiety. *Am J Clin Nutr*. 2014; 100(2):532–8.
83. Mehmet Burak Ateş, Mustafa Ortatatlı, Protective effect of nigella sativa and thymoquinone on relative liver weight increase caused by aflatoxin in broilers. *Eurasian j Vet Sci*. 2020; 36:(2)107-114.
84. Mills SE. *Histology for Pathologists*. 3rd Edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 2007; 685-701.
85. Mohamed A Dosuky MD, Dorreia A Zaghlol MD, Salwa M Ouies MD and Hanaa A Abdel-Naeim, M.Sc , Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Male Adult Albino, *Med. J. Cairo Univ*. 2018; 86(7):3407-3418.
86. Moldovan OL, Vari CE, Tero-Vescan A, Cotoi OS, Cocuz IG, Tabaran FA, Pop R, Fülöp I, Chis RF, Lungu IA et al. Potential Defence Mechanisms Triggered by Monosodium Glutamate Sub-Chronic Consumption in Two-Year-Old Wistar Rats. *Nutrients* 2023; 15:4436.
87. Monika Stompor-Goracy and Maciej Machaczka, Recent Advances in Biological Activity, New Formulations and Prodrugs of Ferulic Acid. *International Journey of Molecular Science*. 2021; 22:12889.
88. Monosodyum Glumatın Fizyolojik Etkileri, Physiological Effects of Monosodium Glutamate, Ayper Boga Pekmezekmek KSÜ Tıp Fak Der. 2023; 18(1): 191-198
89. Mori T, Koyama N, Guillot-Sestier MV, Tan J, Town T. Ferulic acid is a nutraceutical β -secretase modulator that improves behavioral impairment and alzheimer-like pathology in transgenic mice. *PLoS ONE*. 2013; 8:e55774.
90. Mukherjee I, Biswas S, Singh S, Talukdar J, Alqahtani MS, Abbas M, Nag TC, Mridha AR, Gupta S, Sharma JB et al. Monosodium Glutamate Perturbs Human Trophoblast Invasion and Differentiation through a Reactive Oxygen Species-Mediated Pathway: An In-Vitro Assessment. *Antioxidants*. 2023; 12:634.
91. Mustafa Altınışık, Karbonhidrat Metabolizması Bozukluklarına Biyokimyasal Yaklaşım, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2010; 11(1):51-59.

92. Muzaffer Başak, Deniz Akan. Karaciğerin ve Safra Yollarının Radyolojik Anatomisi. Türk radyoloji seminerleri. 2015; 3:336-48.
93. Nakamura E, Torii K, Uneyama H. Physiological roles of dietary free glutamate in gastrointestinal functions. *Biologic Pharmac Bull.* 2008; 31(10):1841-3.
94. Nakanishi Y, Tsuneyama K, Fujimoto M, Salunga TL, Nomoto K, An JL. Monosodium glutamate (MSG): A villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. *J Autoimmun.* 2008; 30(1-2):42-45.
95. Nakayama H, Nakahara M, Matsugi E, Soda M, Hattori T, Hara K, Usami A, Kusumoto C, Higashiyama S, Kitaichi K. Protective Effect of Ferulic Acid against Hydrogen Peroxide Induced Apoptosis in PC12 Cells. *Molecules.* 2021; 26:90.
96. Niaz K, Zaplatic E, Spoor J. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCLI J.* 2018; 19(17):273-278.
97. OJ Onaolapo, AY Onaolapo, MA Akanmu, O Gbola. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following low dose monosodium glutamate ingestion. *Pathophysiology.* 2016; 147-156.
98. Omogbiya AI, Ben-Azu, B, Eduviere, A. et al. Monosodium glutamate induces memory and hepatic dysfunctions in mice: ameliorative role of Jobelyn through the augmentation of cellular antioxidant defense machineries. *Toxicol Res.* 2021; 37:323-335.
99. Omowumi T Kayode, Jemilat A Bello, Jamiu A Oguntola, Abolanle AA Kayode Daniel, K Olukoya. The interplay between monosodium glutamate (MSG) consumption and metabolic disorders. *Heliyon.* 2023; 9:19675.
100. Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO, Ukoha AI, & Onyeze GO. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics.* 2006; 43(1):20-24.
101. Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter Temel Histoloji (Çeviri: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P). Güneş Tıp Kitapevi, İstanbul, 2009; 205-8.*
102. Plimmer RHA. In *The Chemical Constitution of the Protein* 2nd Edn (eds R.H.A. Plimmer and F.G. Hopkins) 114 Longmans, Green and Co. United State. 2012.
103. Q Peng, D Huo, C Ma, S Jiang, L Wang, J Zhang, Monosodium glutamate induces limited modulation in gut microbiota, *J. Funct. Foods.* 2018; p. 493-500.
104. Rahimi Anbarkeh F, Baradaran R, Ghandy N, Jalali M, Reza Nikraves M, Soukhtanloo M. Effects of monosodium glutamate on apoptosis of germ cells in testicular tissue of adult rat: An experimental study. *Int J Reprod Biomed.* 2019; 28;17(4):261-70.
105. Roose MH, Romrell LJ, Kage GI, *Histology. A text and atlas.* Third edition, 1995; p. 496-507.
106. Roper SD, Chaudhari N. Taste buds: cells, signals and synapses. *Nat Rev Neurosci.* 2017; 18(8):485-497.
107. Rory P Cunningham, Mary P Moore, Ryan J Dashek, Grace M Meers, Takamune Takahashi, Ryan D Sheldon, Andrew A Wheeler, Alberto Diaz-Arias, Jamal A Ibdah, Elizabeth J Parks,

- John P Thyfault and R Scott Rector, Critical Role for Hepatocyte-Specific eNOS in NAFLD and NASH. *Diabetes*. 2021; 70:2476–249.1
- 108.S Jinap, P Hajeb, Glutamate. Its applications in food and contribution to health, *Appetite*. 2010; 55:1–10.
- 109.Sadler T.W Langman's Medikal Embriyoloji (Çeviri Editörü: Can Başaklar), Özel Embriyoloji, 9. Baskı, Ankara. s. 292-293.
- 110.Sahin B. Monosodyum Glutamat İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Aposininin İyileştirici Etkisi. Acıbadem Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2022 (Danışman: Prof. Dr. Serap Arbak).
- 111.Schulze RJ, Schott MB, Casey CA Tuma PL, McNiven MA The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. *J. Cell Biol*. 2019; 218:2096–2112.
- 112.Schumacher-Petersen C, Christoffersen BØ, Kirk RK, Ludvigsen TP, Zois NE, Pedersen HD, et al. Experimental non-alcoholic steatohepatitis in Göttingen Minipigs: consequences of high fat-fructose- cholesterol diet and diabetes. *Journal of Translational Medicine*. 2019; 17(1):110.
- 113.SE Tracy. Delicious: A History of Monosodium Glutamate and Umami, the Fifth Taste Sensation, University of Toronto, Toronto, 2016.
- 114.Senaphan K, Kukongviriyapan U, Sangartit W, Pakdeechote P, Pannangpetch P, Prachaney P, Greenwald SE, Kukongviriyapan V. Ferulic Acid Alleviates Changes in a Rat Model of Metabolic Syndrome Induced by High-Carbohydrate High-Fat Diet. *Nutrients*. 2015; 7:6446-6464.
- 115.Sgarbossa A, Giacomazza D, di Carlo M. Ferulic acid: A hope for Alzheimer's disease therapy from plants. *Nutrients*. 2015; 7:5764–5782.
- 116.Sheldon RD, Meers GM, Morris EM, Linden MA, Cunningham RP, Ibdah JA et al. eNOS deletion impairs mitochondrial quality control and exacerbates Western diet-induced NASH. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019; 317:605–616.
- 117.Sherif R. Z. Abdel-Misih, MD and Mark Bloomston, MD, Liver Anatomy. *Surg Clin North Am*. 2010; 90(4): 643–653.
- 118.Shi Y, Shi L, Liu Q, Wang W and Liu Y, Molecular mechanism and research progress on pharmacology of ferulic acid in liver diseases. *Front. Pharmacol*. 2023; 14:1207999.
- 119.Shu G, Tang Z, Du H, Zheng. Y, Chang L, Li H, Xu F, Fu H, Zhang W, Lin J. Effects of Dietary Ferulic Acid Supplementation on Hepatic Injuries in TianfuBroilers Challenged with Lipopolysaccharide. *Toxins*. 2022; 14:227.
- 120.Sirmatel Ö, Sert C, Sirmatel F, Selek Ş. Yokus B. Total antioxidant capacity, total oxidant status and oxidative stres index in the men exposed to 1.5 T static magnetic field. *Gen. Physiol. Biophys*. 2007; 26:86–90.
- 121.Silow C, Axel C, Zannini E, Arendt EK. Current status of salt reduction in bread and bakery products—a review. *J Cereal Sci*. 2016; 72:135-145.

122. Singh P, Mann KA, Mangat HK, Kaur G. Prolonged glutamate exci- totoxicity effects on mitochondrial antioxidants and antioxidant enzymes. *Mol Cell Biochem.* 2003; 243:139–145
ashu
123. Subhankari Prasad Chakraborty, Patho-physiological and toxicological aspects of monosodium glutamate, *Toxicology Mechanisms and Methods.* 2012; 29(6):389-396, 1528649.
124. T Bhattacharya, A Bhakta and SK Ghosh, Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure, *Nepal Med Coll J.* 2011; 13(1):11-16.
125. Takai, K. Kikuchi, Y. Kajiyama, A. Sugiura, M. Negishi, H. Tsunashima, et al., Serological and histological examination of a nonalcoholic steatohepatitis mouse model created via the administration of monosodium glutamate, *Int. Sch. Res. Notices.* 2014; 725351.
126. Tateya S, Rizzo NO, Handa P, Cheng AM, Morgan-Stevenson V, Daum G et al. Endothelial NO/cGMP/VASP signaling attenuates Kupffer cell activation and hepatic insulin resistance induced by high-fat feeding. *Diabetes Metab Res Rev.* 2011; 60:2792–2801.
127. Tawfik MS, Al-Badr N. Adverse effects of monosodium glutamate on liver and kidney functions in adult rats and potential protective effect of vitamins C and E. *Food Sci Nutr.* 2012; 3:651–659.
128. Temussi PA. The good taste of peptides. *Journal of Peptide Science.* 2012;18(2);73–82.
129. Tsung A, Geller DA. Gross and Cellular Anatomy of the Liver. In: Monga SPS, *Molecular Pathology of Liver Diseases.* Boston, MA: Springer US. 2011; p.3-6.
130. Utume LN, Ansha PM and Gave TA. The Effects of Orally Administered Monosodium Glutamate (MSG) on the Metabolic Syndrome of Adult Albino Rats. *Nigerian Annals of Pure and Applied Science.* 2020; 3.
131. V Pavlovic, S Cekic, G Kocic, D Sokolovic, V Zivkovic, Effect of Monosodium Glutamate on Apoptosis and Bcl-2/Bax Protein Level in Rat Thymocyte Culture, *Physiol. Res.* 2007; 56:619-626.
132. Victor P. Eroschenko, Di Fiore'nin Histoloji Atlası (Çeviri: Ramazan Demir), Palme Yayıncılık, 2016.
133. Witkowski M, Grajeta H, Gomułka K. Hypersensitivity Reactions to Food Additives Preservatives, Antioxidants, Flavor Enhancers. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2022; 19:11493.
134. Wu J, Xue X, Fan G, Gu Y, Zhou F, Zheng Q, Liu R, Li Y, Ma B, Li S, Huang G, Ma L, Li X. Ferulic Acid Ameliorates Hepatic Inflammation and Fibrotic Liver Injury by Inhibiting PTP1B Activity and Subsequent Promoting AMPK Phosphorylation. *Front Pharmacol.* 2021; 12:754976.
135. Xie G, Wang X, Wang L, Wang L, Atkinson RD, Kanel GC et al. Role of differentiation of liver sinusoidal endothelial cells in progression and regression of hepatic fibrosis in rats. *Gastroenterology.* 2012; 142:918–927.e6.

136. Xinghe Wang, Yang He, Jinlong Tian, Ishfaq Muhammad, Mingchun Liu, Changde Wu, Chang Xu, Xiaohuan Zhang. Ferulic acid prevents aflatoxin B1-induced liver injury in rats via inhibiting cytochrome P450 enzyme, activating Nrf2/GST pathway and regulating mitochondrial pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021; 224:112624.
137. Yağmurca M. Embriyoloji (Editör Dilek ON), Karacığer, Cilt I, Ankara Basın Yayın, Ankara, 2003, s. 17-20.
138. Yamaguchi S. Basic properties of umami and its effects on food flavor. *Food Rev Int*. 1998; 14(2-3):139–76.
139. Ye L, Hu P, Feng LP, Huang LL, Wang Y, Yan X, Xiong J, Xia HL. Protective Effects of Ferulic Acid on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Review *Molecules*. 2023; 28:281.
140. Yılmaz S. Anatomi (Editor Dilek ON) Karacığer Cilt I, 1. baskı Ankara, Ankara Basın Yayın 2013; s.1-16.
141. Yong Liang, Marong Fang, Jicheng Li & David T Yew. Immunohistochemical Localization of Endothelial Isoform In Human Cerebral Arteries and The Endothelial Isoform (eNOS) In Human Cerebral Arteries and The Aorta, *International Journal of Neuroscience*. 2006; 116:12, 1403-1417.
142. Yoshida Y. Umami taste and traditional seasonings. *Food Rev Int*. 1998; 14:213-246.
143. Young B, Lowe J, Stevens A, Heath J. Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas Churchill Livingstone Elsevier. Oxford. 2006.
144. Yuanqiang Ma, Gyurim Lee, Su-YoungHeo, andYoon-SeokRoh, Oxidative Stress Is a Key Modulator in the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Antioxidants*. 2022; 11:91.
145. Yunci Maa, Kai Chenb, Lin Lvc, Shaoyu Wuc, Zhijian Guoa, Ferulic acid ameliorates nonalcoholic fatty liver disease and modulate the gut microbiota composition in high-fat diet fed ApoE^{-/-} mice. *Biomedicine&Pharmacotherapy*. 2019; 113:108753.
146. Zhang Y, Venkitasamy C, Pan Z, Liu W & Zhao L. Novel umami ingredients: Umami peptides and their taste. *Journal of Food Science*. 2017; 82(1):16–23.
147. Zhao CJ, Schieber A & Gänzle MG. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations–A review. *Food Research International*. 2016; 89:39–47.
148. Zhao Z, Moghadasian MH, Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*. 2008; 109:691–702.
149. Zhu S, Gouaux E. Structure and symmetry inform gating principles of ionotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology*. 2017; 112:11-5.

8 EKLER

EK1 Etik Kurul Onayı



SAYI: HDK-2022/75
KONU: ACU-HADYEK 2022/75 sayılı başvurunuz

09.11.2022

ACU-HADYEK 2022/75 sayılı “ Monosodyum Glutamat ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Ferulik Asitin İyileştirici Etkisi ” isimli projeniz Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun **10.11.2022** tarihli **11.** toplantısında incelenmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

2022/75 sayılı karar ektedir.

EK1 Etik Kurul Onayı (devamı)



ACIBADEM
MEHMET ALİ AYDINLAR
ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (ACU-HADYEK) KARAR FORMU

BAŞVURU TARİHİ: 09.11.2022	KARAR TARİHİ: 09.11.2022		
BAŞVURU SAYISI: 2022/75	KARAR SAYISI: 2022/75		
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD'dan Prof. Dr. Serap ARBAK'ın yürütücüsü olduğu "Monosodyum Glutamat ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Ferulik Asitin İyileştirici Etkisi" isimli proje başvurusu ACU-HADYEK'in "09.11.2022" tarih ve "11" sayılı toplantısında görüşülmüş ve etik açıdan ☒ Uygun ☐ Düzeltmesi Gerekir ☐ Koşullu Olarak Uygun ☐ Uygun Değil olarak değerlendirilmiştir.			
Kurul Üyesi	İmza	Karara Katılıyorum	Karara Katılmıyorum
Prof. Dr. Serap Arbak (Başkan)		()	()
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan V.)		()	()
Prof. Dr. Yeşim Işıl Ülman		(X)	()
Prof. Dr. Halime KENAR		(X)	()
Doç. Dr. Devrim Öz Arslan		()	()
Doç. Dr. Emel TİMUÇİN		(X)	()
Dr. Öğr. Üyesi Elif KESKİNOZ		(X)	()
Dr. Öğr. Üyesi Melis YAVUZ		(X)	()
Dr. Öğr. Üyesi Gözde ARITICI ÇOLAK		(X)	()
Dr. Öğr. Üyesi Perinur BOZAYKUT EKER		()	()
Vet. Hek. Samed Özer		(X)	()
Sabiha TURGUT GENÇ		()	()
İpek YÜKSEL		()	()

9 ÖZGEÇMİŞ

