



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

DOKSORUBİSİN İLE DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTE OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KURKUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI

Dr. Esra SAKALLI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Özgül TAP

ADANA-2022



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

DOKSORUBİSİN İLE DENEYSEL HEPATOTOKSİSİTE OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KURKUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI

Dr. Esra SAKALLI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Özgül TAP

Bu çalışma TTU-2021-13531 no'lu proje olarak Çukurova Üniversitesi araştırma fonu tarafından desteklenmiştir

ADANA-2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini gördüğüm kıymetli hocam Prof. Dr. Özgül TAP'a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sait POLAT'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalındaki tüm değerli hocalarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Dr. Özge KENDİRLİNAN'a, araştırma görevlisi Dilek ŞAKER'e ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, Anabilim Dalımız teknisyen ve personellerine teşekkürlerimi sunarım.

Aldığım her kararda koşulsuz desteklerini hissettiğim, hayatımın en kıymetlileri, vazgeçilmezlerim sevgili eşim Prof. Dr. Hakan SAKALLI ve sevgili kızım Stj. Dr. Pelin SAKALLI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Esra SAKALLI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer	3
2.1.1. Karaciğer Anatomisi	3
2.1.2. Karaciğer Kan Damarları	5
2.1.3. Karaciğerde Lenfatik Yolak	6
2.1.4. Biliyer Ağaç	6
2.1.5. Karaciğerin İnervasyonu	7
2.2. Karaciğer Histolojisi	7
2.1.1. Karaciğerin Yapısal Organizasyonu	8
2.1.2. Karaciğer Yapısal Organizasyonu ve Hücreleri	13
2.1.2.1. Hepatosit	13
2.1.3.2. Kupffer Hücreleri	15
2.1.3.3. Hepatik Stellat Hücreleri (HSH)	16
2.1.3.4. Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreler (KSEH)	18
2.1.3.5. Pit Hücreleri	18
2.1.3.6. Dendritik Hücreler (DH)	19
2.1.3.7. Hepatik Progenitör Hücreler (HPH)	20
2.3. Karaciğer Fonksiyonları	21
2.4. Doksorubisin	26
2.5. Kurkumin	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi ve Gruplara Ayrılması	32

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deneyin Yapılışı	32
3.3. Işık Mikroskopi Yöntemi	33
3.4. İmmünohistokimya Yöntemleri	34
3.4.1. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi	35
3.5. Elektron Mikroskopi Yöntemleri	35
3.6. Biyokimyasal Analiz	37
3.7. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Ağırlıklar ve Biyokimyasal Bulgular	38
4.2. Işık Mikroskobik Bulgular	39
4.2.1. Kontrol grubu	39
4.2.2. Kurkumin Grubu	40
4.2.3. Doksorubisin Grubu	41
4.2.4. Kurkumin+Doksorubisin Grubu	42
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	42
4.4. Elektron Mikroskobik Bulgular	46
4.4.1.Kontrol Grubu	46
4.2.2. Kurkumin Grubu	50
4.2.3. Doksorubisin Grubu	55
4.2.4. Doksorubisin+Kurkumin Grubu	60
5. TARTIŞMA.....	64
KAYNAKLAR	70

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Işık mikroskopik doku takip işlemi.....	33
Tablo 2. Elektron mikroskopik doku takibinde dehidratasyon işlemi	36
Tablo 3. Elektron mikroskopik doku takibinde şeffaflandırma işlemi	36
Tablo 4. Gömme materyalinin hazırlanışı.....	36
Tablo 5. Deneyin başlangıcında ve sonunda sıçanların vücut ağırlıkları.	38
Tablo 6. Deneyin sonunda tüm gruplardan alınan kan örneklerinde ölçülen biyokimyasal veriler	38



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.	Karaciğerin anatomik yapısı	5
Şekil 2.	Klasik karaciğer lobülünün diyagramı	9
Şekil 3.	Karaciğer asinüsündeki zonasyonun şematik gösterimi.....	11
Şekil 4.	Karaciğer kan desteği.	12
Şekil 5.	Kontrol ve deney gruplarına ait AST, ALT SOD ve MDA değerleri	39
Şekil 6.	Kontrol grubundan alınan karaciğer dokusunun ışık mikroskopik görünümü.	40
Şekil 7.	Kurkumin grubundan alınan karaciğer dokusunun ışık mikroskopik görünümü.	41
Şekil 8.	Doksorubisin grubundan alınan karaciğer dokusunun ışık mikroskopik görünümü.	41
Şekil 9.	Kurkumin+Doksorubisin grubunun karaciğer dokusu ışık mikroskopik görünümü.	42
Şekil 10.	Karaciğerde TNF- α immünoaktivitesi.	43
Şekil 11.	TNF- α için immünohistokimyasal skorlama.	44
Şekil 12.	Karaciğerde Kaspaz-3 ekspresyonu.	45
Şekil 13.	Kaspaz-3 için immünohistokimyasal skorlama.	46
Şekil 14.	Kontrol grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	47
Şekil 15.	Kontrol grubundan..alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü	48
Şekil 16.	Kontrol grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	49
Şekil 17.	Kurkumin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	51
Şekil 18.	Kurkumin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	52
Şekil 19.	Kurkumin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü	53
Şekil 20.	Kurkumin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	54
Şekil 21.	Doksorubisin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	56
Şekil 22.	Doksorubisin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	57
Şekil 23.	Doksorubisin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	58
Şekil 24.	Doksorubisin grubundan alınan karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.	59
Şekil 25.	Kurkumin+ Doksorubisin grubu karaciğer dokusu elektron mikroskopik .görünümü.....	61
Şekil 26.	Kurkumin+ Doksorubisin grubu.karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.....	62
Şekil 27.	Kurkumin+Doksorubisin grubu. Karaciğer dokusu elektron mikroskopik görünümü.....	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AER	: Agranüler Endoplazmik Retikulum
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
DH	: Dendritik Hücre
DİSC	: Ölüm İndükleyici Sinyal Kompleksi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GER	: Granüler Endoplazmik Retikulum
H&E	: Hematoksilen- Eozin
HO-1	: Hem oksijenaz-1
H2O2	: Hidrojen peroksit
KSEH	: Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreleri
HSH	: Hepatik Stellat Hücreleri
IL-1	: Interlökin 1
IL-10	: Interlökin 10
NF-KB	: Nuclear Factor kappa B
Nrf 2	: Nüklear faktör eritroid-2
NK	: Doğal Öldürücü Lenfositler
O2⁻	: Süperoksit Anyonları
-OH	: Hidroksil radikalleri
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
RBP	: Retinol Bağlayıcı Protein
SEM	: Tarama Elektron Mikroskopi
α-SMA	: α -Düz Kas Aktini
TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskopi
TGF-B	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü – Alfa

ÖZET

Doksorubisin ile deneysel hepatotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda Kurkumin'in koruyucu etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde araştırılması

Amaç: Doksorubisinin neden olduğu karaciğer hasarında, Kurkuminin olası iyileştirici etkilerinin saptanması, kanser tedavisi sırasında kullanılan ilaca bağlı hepatotoksisitenin azaltılması ve kanser tedavisinin başarısına katkı sağlaması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sunulan çalışmada 28 adet Wistar tipi albino sıçan 4 gruba ayrılarak deneysel model oluşturuldu. Grup 1: Kontrol grubu (n=7): 6 hafta boyunca her gün 1ml zeytinyağı gavaj yoluyla verildi. Grup 2: Kurkumin kontrol grubu (n=7): 6 hafta boyunca 1 ml zeytinyağında çözölen 200 mg/kg/gün dozunda Kurkumin gavaj yoluyla verildi. Grup 3: Doksorubisin grubu (n=7): 6 hafta boyunca haftada 2 kez 1mg/kg, toplamda 2mg/kg/hafta Doksorubisin ip olarak uygulandı. Grup 4: Doksorubisin+Kurkumin grubu (n= 7): Kurkumin 200 mg/kg/gün gavaj yoluyla verildikten 2 saat sonra, Doksorubisin 2 mg/kg /hafta ip olacak şekilde uygulandı.

Altıncı haftanın sonunda anestezi altındaki sıçanlardan biyokimyasal analizler için intrakardiyak kan alınırken, ışık ve elektron mikroskopik inceleme için alınan karaciğer dokuları doku hazırlama tekniklerine uygun olarak hazırlandı.

Bulgular: Doksorubisin uygulanan grupta belirgin kilo kaybı ile birlikte karaciğer enzimleri ALT ve AST düzeylerinde artış, SOD aktivitesinde düşüş, MDA aktivitesinde artış gözlenirken doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta ise tüm bu değerlerin kontrol gruplarındaki değerlere yakın olduğu göröldü. Ayrıca TNF- α ve Kaspaz-3 immünohistokimyasal ifadelerinin doksorubisin grubunda oldukça arttığı doksorubisin+kurkumin uygulanan grupta ise bu ifadelerin anlamlı bir şekilde azaldığı göröldü. Histokimyasal boyamada Doksorubisin uygulanan grupta karaciğerde kollajen liflerin arttığı gözlenirken, ışık ve elektron mikroskopik değerlendirmelerde ise hepatositlerde piknotik çekirdekler, mitokondriyonlarda dejenerasyon ve kümeleşme, GER sisternalarında kümeleşme ile karakterize dejeneratif değişiklikler ile birlikte enflamatuvar hücre infiltrasyonu, konjesyon, ito hücreleri ve eozinofillerde artış olduğu saptandı. Doksorubisin+Kurkumin uygulanan grupta ise biyokimyasal, immünohistokimyasal, histokimyasal, ışık ve ultrastrüktürel değerlendirmeler kontrol grubundakiler ile benzerlik göstermekteydi.

Sonuçlar: Doksorubisin kullanımı sonucunda sıçanlarda görölen kilo kaybı ve karaciğer enzimlerinin seviyelerindeki değişiklikler ile birlikte hepatositlerde nekroptozis ve apoptozis adı verilen programlı hücre ölüm şekillerinin olduğu ve fibrozisin geliştiğı saptanırken doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta apoptozis ve nekroptozisin azaldığı, fibrozis izlenmediğı göröldü. Bu nedenle Kurkumin kullanımının, Doksorubisin ile oluşturulan hepatotoksisitede hepatositler üzerinde koruyucu ve tedavi edici etkilerinin olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, Kurkumin, Hepatotoksisite, Ultrastrüktür

ABSTRACT

Investigation of the Protective Effect of Curcumin in Rats with Doxorubicin Induced Experimental Hepatotoxicity at Light and Electron Microscopic Levels

Purpose Objective: Determining the possible ameliorative effects of curcumin on liver damage caused by doxorubicin will contribute to the reduction of drug-induced hepatotoxicity used during cancer treatment and the success of cancer treatment.

Materials and Methods: In the present study, 28 Wistar type albino rats were divided into 4 groups and an experimental model was created. Group 1: Control group (n=7): 1 ml of olive oil was given by gavage every day for 6 weeks. Group 2: Curcumin control group (n=7): Curcumin was given by gavage at a dose of 200 mg/kg/day dissolved in 1 ml olive oil for 6 weeks. Group 3: Doxorubicin group (n=7): 1mg/kg twice a week for 6 weeks, a total of 2mg/kg/week Doxorubicin was administered via ip. Group 4: Doxorubicin+Curcumin group (n= 7): 2 hours after curcumin was given by gavage 200 mg/kg/day, Doxorubicin was administered as 2 mg/kg/week ip.

At the end of the sixth week, intracardiac blood was collected from rats under anesthesia for biochemical analysis, and liver tissues taken for light and electron microscopic examination were prepared in accordance to tissue preparation techniques.

Results: While the doxorubicin administered group was characterized by significant weight loss, increased liver enzymes ALT and AST levels, decreased SOD activity, and increased MDA activity, in the doxorubicin and curcumin administered group, all these values were similar to the values in the control groups. Additionally, TNF- α and Caspase-3 immunohistochemical expressions were significantly increased in the doxorubicin group while these expressions were significantly decreased in the doxorubicin+curcumin group. In the group administered with Doxorubicin histochemical staining revealed an increase in collagen fibers in the liver, light and electron microscopic evaluations showed pycnotic nuclei in hepatocytes, degeneration and aggregation in mitochondria, degenerative changes characterized by aggregation in GER cisterns, as well as inflammatory cell infiltration, congestion and increase in ito cells and eosinophils were observed. Biochemical, immunohistochemical, histochemical, light and ultrastructural evaluations in the doxorubicin+curcumin group were similar to those in the control group.

Conclusion: In the doxorubicin administered rats, weight loss and changes in the liver enzyme levels were detected, along with increased occurrence of programmed cell death called as apoptosis and necroptosis, and formation of fibrosis were observed while it was observed that apoptosis and necroptosis events were decreased in the doxorubicin and curcumin administered group, and no fibrosis event was observed. Therefore it is concluded that the use of curcumin has protective and curative effects on hepatocytes with doxorubicin induced hepatotoxicity.

Keywords: Doxorubicin, Curcumin, Hepatotoxicity, Ultrastructure

1. GİRİŞ

Kanser; dünyada morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olup, kanser tedavisinde çeşitli ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavide kullanılan bu ilaçlar hızla çoğalan kanser hücreleri yanında sağlıklı hücrelere de zarar vermektedir. Kemoterapötik ilaçlar iştah kaybı, saç dökülmesi, yorgunluk gibi etkileri ile birlikte farklı organlarda hasara neden olan sitotoksik ajanlardır¹. Bu yan etkiler nedeni ile normal dokularda toksisite oluşturmaları, sıklıkla klinik avantajlardan ağır basar ve hastaların yaşam kalitesini kötüleştirir².

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların birçoğu karaciğerde hasara neden olmaktadır. Bu ilaçlardan Doksorubisinin kullanımında mitokondriyal fonksiyonun bozulduğu, oksidatif stresin ve proinflatuar sitokinlerin arttığı rapor edilmiştir^{3,4}. Doksorubisin, antrasiklin sınıfına ait, lösemi, lenfoma, yumurtalık, tiroit, meme, akciğer gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ilaçtır⁵. Uzun süreli Doksorubisin kullanımı kalp, karaciğer, böbrek, beyin ve testis gibi organlarda toksik etki göstermektedir⁶.

Klinikte karaciğer hastalıklarının tedavisi var olan nedene göre yapılıp, ilaç tedavisi, cerrahi uygulamalar ya da karaciğer nakli de tedavi seçenekleri arasında değerlendirilmektedir. Günümüzde, karaciğer hasarını önlemeye yönelik tedavi amaçlı çalışmalarda, çeşitli doğal bitkisel kökenli antioksidan kullanımı da giderek artan önem kazanmıştır. Kurkumin, doğal bir polifenolik bileşik olup geleneksel olarak yemek pişirme, renklendirme ve tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır⁷. Yapılan son çalışmalar potansiyel bir antioksidan, antienflatuar ve antiapoptotik etkilere sahip olduğunu göstermektedir⁸. Karaciğerdeki patolojilerin değerlendirildiği birçok çalışmada artan oksidatif stres ile karaciğer hasarı arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Karaciğer hasarına ilk yanıt olarak İnterlökin-1 (IL-1)' in salgılandığı, ardından hepatik stellat hücrelerin aktive olduğu rapor edilmektedir⁹. Kurkuminin çeşitli nedenlerle oluşan karaciğer hasarı üzerindeki inhibitör etkisinin ise hepatik inflamasyonu ve hepatik stellat hücre aktivasyonunu engellemesi nedeniyle meydana geldiği ileri sürülmektedir^{10,11,12}.

Kanser tedavisinde kullanılan Doksorubisinin neden olduğu hepatotoksisite üzerine Kurkuminin koruyucu etkisinin kapsamlı bir şekilde yeterince araştırılmadığı

görülmüştür. Sunulan çalışmada Doksorubisin kaynaklı hepatotoksisite üzerine Kurkuminin koruyucu etkisinin ışık, elektron mikroskopik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.



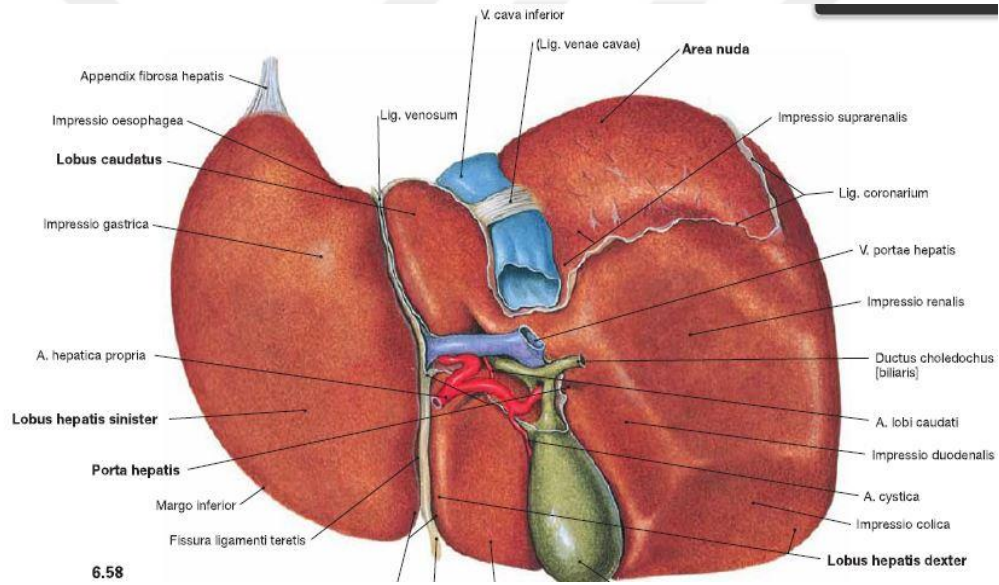
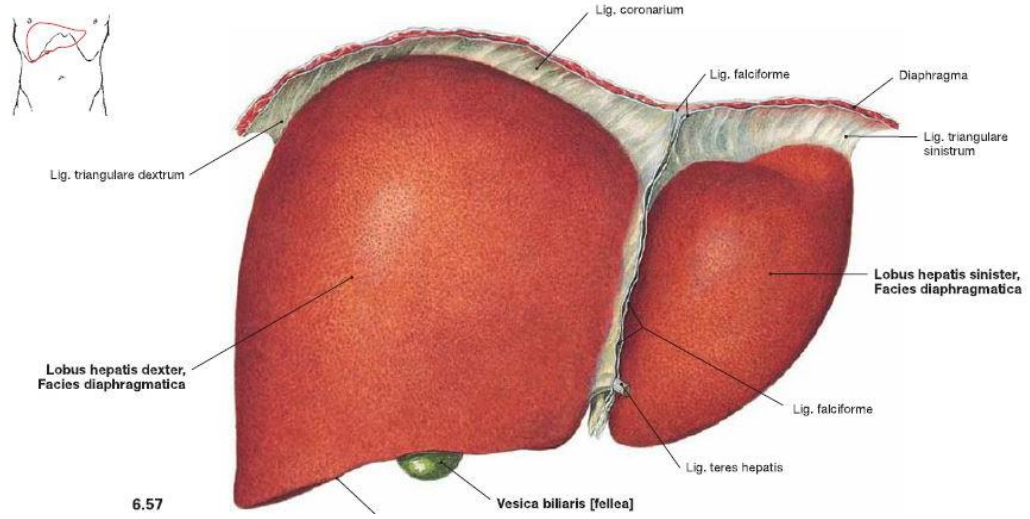
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer vücuttaki en büyük bez dokusu kütesine sahip ve yaklaşık 1500 gr ağırlığındaki iç organdır. Erişkinde vücut ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluşturur¹³. Abdominal kavitenin sağ üst kısmında ve kısmen de sol üst kadranda yer alan karaciğer geniş solid bir organdır. Dıştan fibröz bir kapsül olan Glisson kapsülü ile sarıdır. Glisson kapsülü kollajen ve elastik liflerden oluşan bir yapıdadır. Bu kapsülün içeri doğru verdiği uzantılarla anatomik olarak 4 loba ayrılır. Bunlar: İki büyük lob (Lobus Hepaticus Dexter ve Lobus Hepaticus Sinister) ve iki küçük lobdur. (Lobus Caudatus ve Lobus Quadratus)^{14,15,16,17}. Karaciğerin üstte diyaframa komşu Facies diaphragmatica ve altta hepatic flexura, transvers kolon, safra kesesi, duodenum, mide ve özofagusa komşu olan Facies Visceralis denilen iki yüzü vardır. Büyük bir bölümü peritonla kaplıyken bazı bölgeleri peritonsuzdur¹⁸. Facies diaphragmatica arka kısmında bulunan area nuda dışında tamamen peritoneum visserale ile örtülmüştür. Area nuda bölgesinde karaciğer diyafram ile temastadır. Bu çıplak alanın sınırları, diyaframdan karaciğere uzanan lig. coronarium'un ön ve arka yapraklarının yapışma yerleri olarak belirlenmiştir. Lig. coronarium'un ön yaprağı solda lig. falciforme sağ yaprağı olarak devam eder. Lig. falciforme karaciğeri karın ön duvarına bağlar ve lig. falciforme ve omentum minus'un sol yaprakları birleşerek lig. triangulare sinistru meydana getirirler^{19,20}. Karaciğer hepatik arterlerden ve portal venden kan aldığı için iki kan kaynağına sahiptir²¹. Karaciğer beslenmesi portal ven ve hepatik arter tarafından sağlanırken, venöz drenajı hepatik venler tarafından gerçekleştirilir^{22,23}. Trunkus çöliyakustan ayrılan ana hepatik arter pankreas başı üst sınırı boyunca yatay olarak ilerler, sonra yukarı dönerek küçük omentum arasında yukarı çıkar. Duodenum 1. kısmında gastroduodenal arter dalını verdikten sonra, yoluna hepatoduodenal ligament içinde A. Hepatica Propria olarak devam eder kanı karaciğere getirir. Karaciğere gelen kanın % 25'ini getiren A. Hepatica, porta hepatis girmeden önce A. Hepatica Dextra ve Sinistraya ayrılarak organda dağılır^{24,25}. Hepatik arter oksijen bakımından zengin kanı karaciğere getirir ve organın beslenmesini sağlar. Karaciğere gelen ikinci damar V.

Porta'dır. Portal ven ise sindirim kanalı, pankreas ve dalaktan gelen kanı karaciğere getirir. Daha düşük basınçlıdır ve karaciğere ulaşan kanın yaklaşık % 75'ini oluşturur. Portal kan akışındaki herhangi bir azalma arteriyel akıştaki bir artışla telafi edilir^{26,27,28}. İki kaynaktan gelen kan, karaciğer parankim hepatositlerine dağılmadan hemen önce karışmaktadır ve karaciğer hücreleri tamamen oksijenli bir kanla karşılaşmamaktadır. Bu damarlar karaciğere hilustan ya da porta hepatisten girerler. Karaciğerden salgılanan safrayı taşıyan Duktus Kommunis ve lenf damarları da aynı yerden karaciğeri terk ederler. Bu nedenle de safra akımı ile kan akımı birbiriyle ters yöndedir. Fizyolojik anatomide karaciğerde fonksiyonel olarak bağımsız 8 segment bulunur. Her segmentin kendi vasküler akımı ve bilier drenajı vardır^{13,29}. Karaciğerin sağ lob posterior segmentinin biliyer drenajını gerçekleştiren sağ posterior safra kanalı ile karaciğerin sağ lob anterior segmentinin drenajını sağlayan sağ anterior safra kanalı birleşerek sağ safra kanalını meydana getirir. Karaciğer sol lob segmentlerinden gelen dallar ise birleşerek sol safra kanalını oluşturur. Sağ ve sol safra kanallarının birleşimiyle ana safra kanalı oluşur. Sistik kanal genellikle ana safra kanalının laterale açılım gösterir³⁰. Sistik kanal bileşkesinden itibaren ana safra kanalı Koledok olarak adlandırılır. Koledok hepatoduodenal ligament içerisinde, portal venin anteriorunda, hepatik arterin ise lateralinde yer alır ve ana pankreatik kanal ile birleşerek duodenum 2. bölümüne açılır³¹. Safra ağacı, Hering kanallarıyla başlayan ve aşamalı olarak interlobüler, septal ve majör kanallardan oluşan bir sistemde birleşen karmaşık bir kanal ağıdır. İntrahepatik safra ağacı karaciğer girişinde birleşen sağ ve sol hepatik kanallardan oluşur. Kolanjiositler (safra kanallarını kaplayan epitel hücreleri) hem absorbe edici hem de salgılayıcı işlevlerini yerine getirerek safra üretimine aktif olarak katılırlar^{32,33}.



Şekil 1. Karaciğerin anatomik yapısı¹⁵.

2.1.2. Karaciğer Kan Damarları

Portal damarlar kanı parankimal damarlara iletir. Bunlar sırayla preterminal ve terminal portal venüllerdir. Terminal portal venüllerden gelen kan sinüzoidlere girer. Terminal portal venüller doğrudan hepatik sinüzoidlere bağlanır ancak terminal arteriyoller sinüzoidlere girmeden önce arteriyo-portal iletişime geçer^{34,35}. Portal ven ve hepatik arterden gelen kan hepatik sinüzoidlere girdiğinde her iki kan sinüzoidde karıştığı için oksijen saturasyonunda belirgin azalma olur ve bu kan santral vene (Terminal Hepatik Venül) boşalır³⁶. Sublobüler ven santral venlerden kan alır ve

hepatik venlere boşalırlar. Hepatik venlerde kapakçık yoktur ve kanı V. Cava inferior'a taşır^{37,13}

2.1.3. Karaciğerde Lenfatik Yolak

Lenf sistemi vasküler bir drenaj ve immunolojik kontrol sistemidir. Lenfatik kılcal damarlar kör uçlardan başlar. Karaciğer, torasik kanaldan akan lenfin yaklaşık %25-50'sini oluşturan miktarda lenf üretir. Karaciğer lobülü içinde, sinüzoidal kandan kaçan sıvı persinüzoidal aralığa (Disse) girer ve burada karaciğer lenf sıvısı oluşur. Perisinüzoidal aralıkta kalan plazma periportal bağ dokusuna drene olur. Sıvı burada toplanıp portal triad komponentlerine eşlik eden lenfatik kapillerlere gider ve gittikçe büyüyen damarların içinde safra ile aynı yönde hareket ederek lenf damarlarına ve sonra da Duktus Torasikusa dökülür^{38,39}.

2.1.4. Biliyer Ağaç

Safra, hepatositler tarafından oluşturulan, karaciğerin hayati bir salgısıdır. %95 sudan oluşsa da yapısında; safra tuzları, fosfolipidler, kolesterol, konjuge bilirubin, elektrolitler de vardır. Safra, hepatositler tarafından üretilip daha sonra safra kanallarını kaplayan kolanjiyositler tarafından modifiye edilir. Kolanjiyositler, biliyer ağacı döşeyen epitel hücreleridir ve safra ağacının esas hücre tipidir. Bu küçük kübik hücreler hepatositlerden metabolik olarak daha az aktiftir. Ancak bikarbonat sentezi dahil olmak üzere bazı metabolik fonksiyonlara sahiptir. Apikal bölgesi, lümene çıkıntı yapan mikrovillusları ile hepatositlere benzer görünümündedir ve sitoplazmalarında az sayıda organel, komşu hücreler arasında sıkı bağlantı ve tam bir bazal lamina bulunmasıyla tanınır. Bu nedenle safranin kanalikülden bağırsağa akması için gereken pasif bir yapıdan ziyade hem bulaşıcı hem de bulaşıcı olmayan hepatobiliyer hastalıkların immün yanıtında önemli bir role sahip, oldukça özel bir hücre tipi olarak kabul edilmektedir. Kolanjiyositler Ig A salgılar. Glikokaliks ve HCO₃ kolanjiyositlerin apikal alanını, hidrofobik safra asitlerine ve diğer toksinlere karşı koruyan önemli bir fizikokimyasal bariyer sağlar. Kolanjiyositler safrayı emilim ve salgılama süreçleriyle seyreltip alkali hale getirir. Hormonlar tarafından düzenlenen safra akışını düzenleyen reseptörlere sahiptir. Safra oluşumundaki ana adımlar safra asitlerinin bazolateral (sinüzoidal) zar boyunca alınması, hepatosit yoluyla taşınması ve kanaliküler membran yoluyla

atılmasıdır. Hepatositin bazolateral membranındaki Na-K-ATPaz sodyum ve potasyum seviyesini korur. Kontraktil mikrofilamentler safranın kanaliküllerden salgılanmasını kolaylaştırır. Kanaliküler membran, hepatosit yüzey alanının sadece %1'ni oluşturur. Safra kanalikülleri hepatositlerin salgıladığı safrayı kan akışının tersi yönde yani merkezden portal bölgeye doğru taşır. İnsanlarda safra kanalları; boyut ve hepatositlere olan yakınlığına göre kategorize edilir. Safra sıvısı salgılandıktan sonra en küçük taşıma birimi olan kanaliküllere gelir. Ardından Hering Kanalı (İntrahepatik safra kanalları) ile safra kanallarına açılır. Safra kanallarını küçük kübik hücreler olan bilier epitelyal hücreler döşer. Bunlar hepatositlerden metabolik olarak daha az aktiftir. Ancak bikarbonat sentezi dahil bazı metabolik fonksiyonlara sahiptir. Küçük safra kanalı grubu, interlobüler kanallar ve septal kanalları içerir. Bölge kanalları, segmental kanallar, sağ ve sol hepatik kanallar intrahepatik büyük safra kanallarıdır. Safra ağacının ekstrahepatik kısmı, ortak hepatik kanal, sistik kanal, safra kesesi ve ortak safra kanalını içerir. Safra karaciğerde bir dizi kanalda ilerleyip sonunda ortak hepatik kanaldan çıkar. Safra bu kanaldan konsantre edildiği ve depolandığı safra kesesine akar. Kolesistokinin hormonu tarafından uyarıldığında safra kesesi kasılır, eş zamanlı olarak Oddi sfinkteri gevşer ve safranin duodenal lümenine girmesine izin verir. Sekretin hormonu da safranin ince bağırsağa akışında önemli rol oynar. Yetişkin insan karaciğerinde günde ortalama 1 L safra salgılanmaktadır^{40,41,42,13,80}.

2.1.5. Karaciğerin İnervasyonu

Karaciğerin sempatik ve parasempatik innervasyonu vardır. Sinirler karaciğere porta hepatisten girip portal kanallarda portal triadın üyeleri ile birlikte ilerleyen dallar verirler. Sempatik lifler kan damarlarını innerve eder. Bu sistemdeki uyarı artışı vasküler direnç artışına, hepatik kan hacminin azalmasına ve serum glikoz seviyesinin hızla artmasına neden olur. Parasempatik liflerin stimülasyonu ile de glikoz alımı ve kullanımı artar¹³.

2.2. Karaciğer Histolojisi

Sindirim sisteminden emilen besin maddelerini depolayan karaciğer, ekzokrin ve endokrin sekresyon yapan hayati bir organdır. Karaciğer depoladığı maddeleri ve sentezlediği plazma proteinlerini gerektiğinde kan dolaşımına salgıladığından dolayı

endokrin bir organ olarak, ürettiği safrayı kanallar aracılığı ile duodenuma akıttığı için ekzokrin organ olarak değerlendirilir. Hepatosit adı verilen karaciğer hücreleri hegzagonal şekilli lobüller şeklinde düzenlenmişlerdir⁴³.

2.1.1. Karaciğerin Yapısal Organizasyonu

Parankim: Yetişkinlerdeki karaciğer dokusunun yaklaşık %80'i ışınsal kordonlar şeklinde düzenlenmiş hepatositlerden oluşan parankim yapısındadır. Bu plaklar yetişkinlerde tek hücre kalınlığında olup sinüzoidal kapillerlerle birbirinden ayrılmıştır.

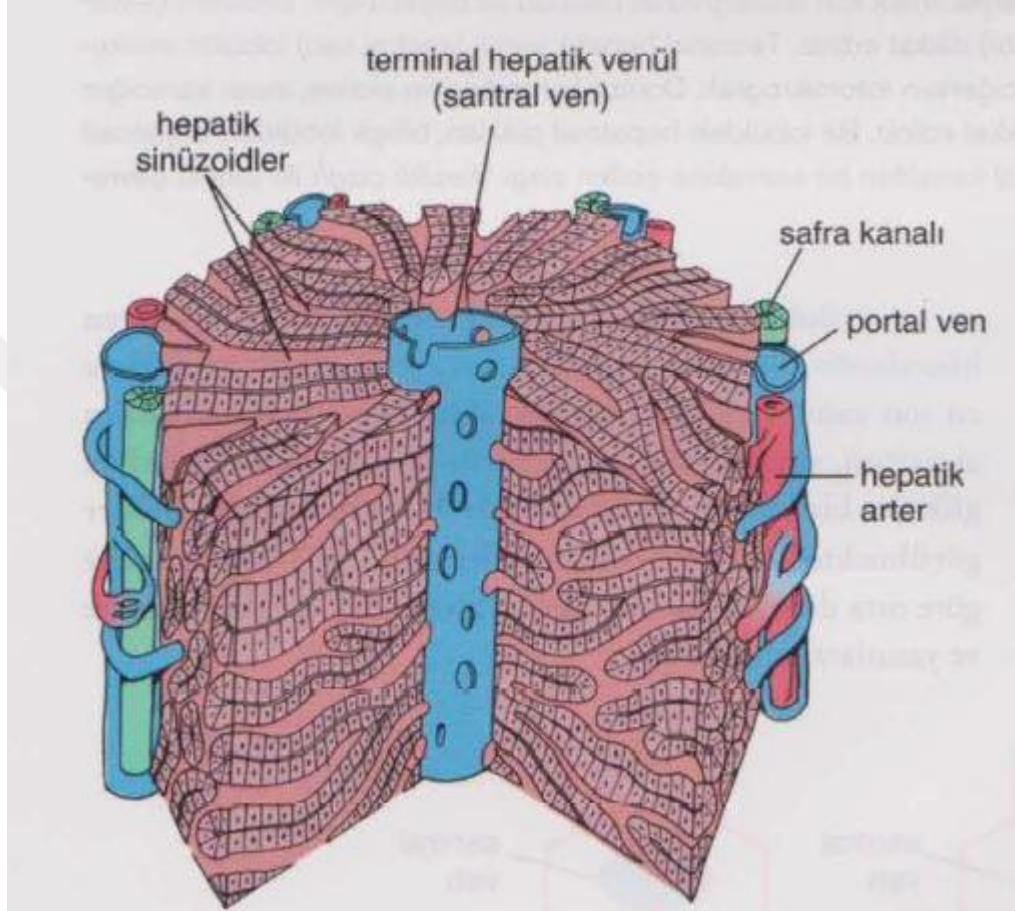
Stroma: Karaciğerin %20'lik kısmını oluşturur. Fibröz Glisson kapsülü ile devamlılık göstermektedir. Kan damarları, sinirler, lenf damarları ve safra kanalları bağ dokusu yapısındaki stroma içinde ilerlemektedir.

Sinüzoidal Kapillerler (Sinüzoidler): Sinüzoidler kesintili, pencereli endotelyal hücre tabakasından oluşan kapiller damar yapılarıdır ve karaciğer hücre kordonları arasında yer alır. Karaciğer mikrosirkülasyonunu oluşturur.

Perisinüzoidal Aralıklar (Disse Aralığı): Hepatositler ile sinüzoid endoteli arasında uzanmaktadır. Burası karaciğer lenf sıvısının ilk oluştuğu yerdir^{13,44,45,46}. Karaciğer parankiminde 3 histofizyolojik lobül modeli vardır⁴⁷. Bunlar:

- 1) Klasik Karaciğer Lobülü:** Lobül hegzagonal şekillidir ve tek hücre kalınlığında hepatosit kordonlarından oluşur ve 2x07 mm ölçülerine sahiptir. Merkezde sentral ven (terminal hepatik venül), köşelerde portal alanların bulunduğu klasik karaciğer lobülünde ışınsal tarzda birbirleriyle anastomozlaşarak ilerleyen hepatosit kordonları arasında sinüzoidal kapillerler bulunur. Sinüzoidler pencereli bir endotel tabakası ile kaplıdır ve bu pencereler alanın % 2-3'nü kaplayan yaklaşık 100 nm lik açıklıklardır. Plazmanın sinüzoidlerden Disse alanına geçmesine izin verir. Lobülün periferinde hepatositler ile bağ dokusu elemanları arasında kalan dar alana periportal boşluk (Mall boşluğu) denir. Bu alan karaciğerde lenf sıvısı oluştuktan sonra lenfatik kapillerlere geçişinde önemlidir Disse aralığında oluşan lenf, Mall boşluğuna ardından kör uçlu kanallar olarak başlayan lenfatik damarlara gider. İnsan karaciğeri yaklaşık 1 milyon klasik lobül içerir. Lobüller arasındaki sınırlara vasküler septa denir ve bu sınırlar bazı türlerde insandakinden farklı olarak daha belirgindir. Altıgenin köşelerinde portal alan (portal kanal) olarak adlandırılan, gevşek bağ dokundan

oluşmuş, sinirleri ve portal triadı içeren yapılar bulunur. Portal triad hepatik arter, portal ven ve safra kanalından oluşmuştur ve bir lenfatik damar da bu oluşuma katılmaktadır. Bu alan karaciğerde lenf sıvısı oluşuktan sonra lenfatik kapillerlere geçişinde önemlidir^{48,49,50}.



Şekil 2. Klasik karaciğer lobülünün diyagramı¹³

- 2) **Portal Lobül:** Bu model hepatositler tarafından salgılanan safranin salgılanışı göz önüne alınarak tasarlanır. Karaciğerin ekzokrin fonksiyonlarının önemini belirtir. Üç klasik karaciğer lobülünün V. Centralislerinin birleştirilmesi ile meydana gelen üçgenden oluşur⁹. Bu üçgenin her bir köşesinde birer merkezi ven, merkezinde bir portal triad bulunur. Safra akışını simgeleyen lobüldür ve safrayı portal bölgedeki safra duktusuna drene eden dokudan meydana gelmiştir.
- 3) **Karaciğer Asinusu:** Karaciğerin en küçük fonksiyonel birimidir. Karaciğer asinusu, kanlanma, metabolik aktivite ve karaciğer patolojisi arasındaki ilişkiyi en iyi tanımlayan yapısal birimidir. Prizmatik dörtgen şeklindeki fonksiyonel

birimin karşıt iki köşesi merkezi vene ve diğer karşıt iki köşesi de portal bölgelere sahiptir. Klasik lobülün her bir köşesinde birer portal kanal görmek zordur. Böyle yerler kanını komşu bölgelerden gelen dallar ile temin eder. Bu dallar ana damarı dikey şekilde terkederek komşu klasik lobüller arasındaki sınır boyunca seyreder. Elmas şekilli böyle bir bölge karşıt iki köşede birer merkezi vene sahiptir ve aralarında portal kanal dalları transvers olarak seyreder. Bu modele göre bir lobüldeki hepatositler dağıtıcı damarlardan aldıkları farklı içerik ve miktardaki kanlanmaya göre 3 zona ayrılır.

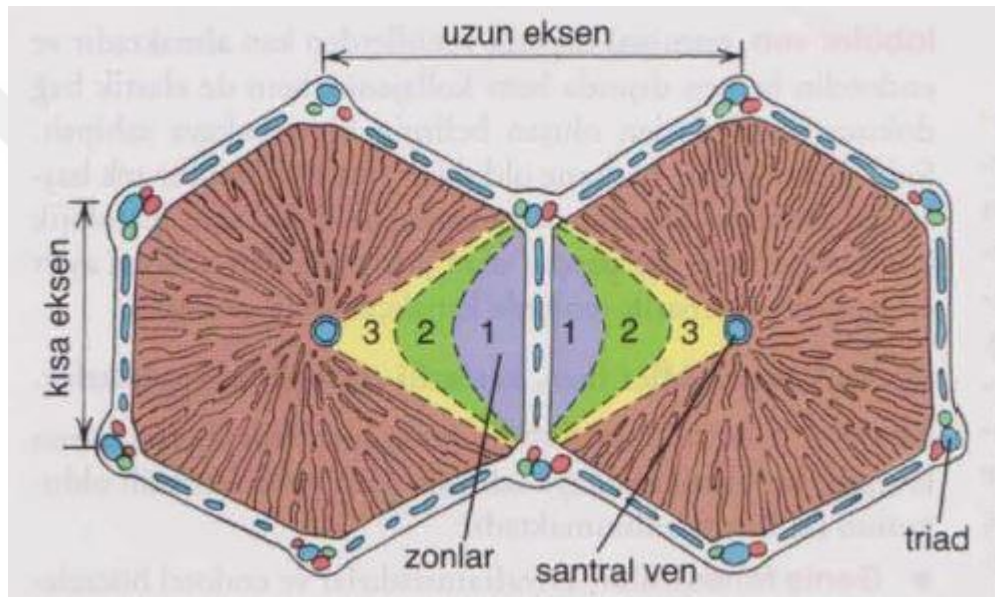
Zon 1 (Periferik Zon): Kısa eksene ve portal ven ile hepatic arter dallarının penetrasyonu ile oluşan kan akımına en yakın bölgedir. Bu zon klasik karaciğer lobüllerinin periferine karşılık gelir. Zon 1 hepatositleri portal alanları çevreler ve esas olarak oksidatif enerji metabolizmasında rol oynar. Glukoneogenez, yağ asidi oksidasyonu, üre sentezi ve kolesterol sentezi için özelleşmişlerdir. Eğer dolaşım bozulursa buradaki hücreler en son ölen ve ilk rejenere olan hücrelerir. Zon 1'deki sinüzoidler dar lümen ve en büyük fenestraya sahiptir. En fazla Kupffer hücresi ve aktif metabolik faaliyetler burada yer alır.

Zon 2 (Ara Zon): Zon 1 ve Zon 3 arasında bulunur sınırları çok belirgin değildir.

Zon 3 (Sentral Zon): Sentral vene en yakın, asinusun kısa eksenine en uzak hücre gruplarından oluşur. Bu zon klasik karaciğer lobülünün merkezi kısmına karşılık gelir. Zon 3 hepatositler glikoliz, lipogenez, ketogenez, glutamin sentezi ve safra asidi sentezi için özelleşmişlerdir. Özellikle ilaç biyotransformasyonu için önemlidir. CYP1A2 ve CYP2E1 gibi sitokrom p 450'leri metabolize eder. Zon 3'deki sinüzoidlerde geniş lümen, küçük fenestra, az Kupffer hücresi ve daha az metabolik faaliyetler bulunur. Zon 2'de buna yakın özelliktedir^{51,52,53,54,55}.

Zonlara ayrılma; karaciğer hücrelerinin vasküler perfüzyon kalitesi ve derecesine bağlı olarak, karaciğer parankimasında rejenerasyon, dejenerasyon ve spesifik toksik etkilerin değerlendirilmesinde ve yorumlanmasında önemlidir. Sinüzoidal kan akımının bir sonucu olarak, oksijen gradyenti, hepatositlerin metabolik aktivitesi ve hepatic enzimlerin dağılımı 3 zon boyunca değişiklik gösterir. İskemi ve toksik maddelere maruz kalma sonucunda gelişen karaciğer hasarının dağılımı zonlar

dikkate alınarak açıklanabilir. Sinüzoidal kan ile gelen, oksijen, besin ve toksinlerle ilk olarak zon 1 hücreleri karşılaşır. Yani oksijen ve besin bakımından en zengin kanı alır. Aynı zamanda safra duktusu oklüzyonu sonrasında morfolojik değişiklikler ilk olarak bu zondaki hepatositlerde görülür. Diğer taraftan zon 3 hücreleri kanlanma azaldığında iskemik nekrozun gözlendiği ilk hücreler olur iken aynı zamanda yağ depolanmasının görüldüğü ilk hücreler olma özelliğini de taşımaktadır. Bununla birlikte toksik maddelerden ve safra akımının durmasından en son etkilenen hücre popülasyonudur^{13,56}.

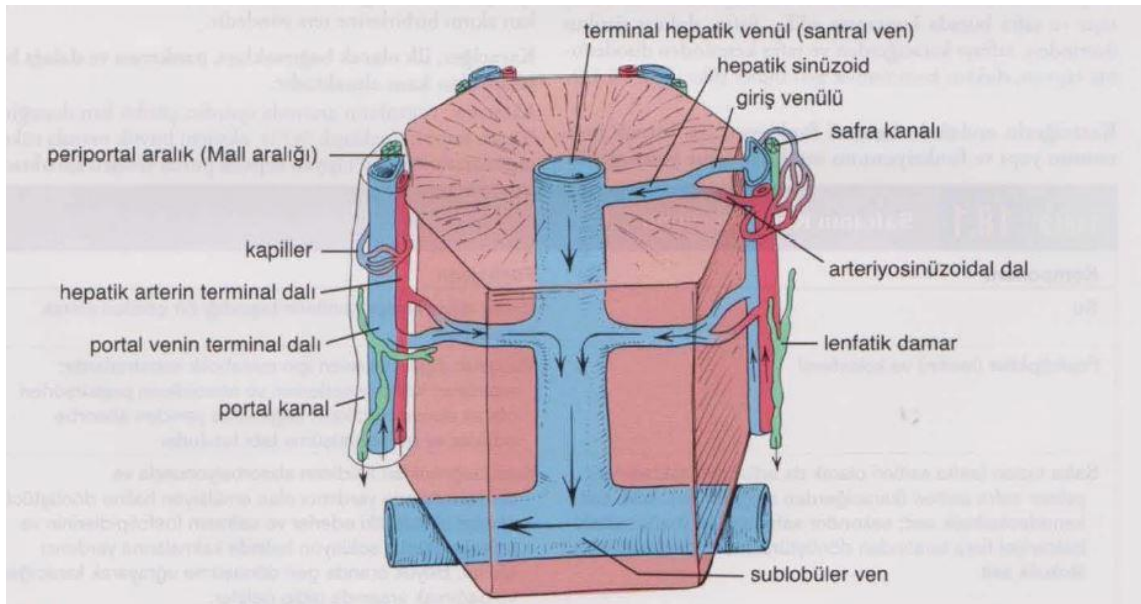


Şekil 3. Karaciğer asinüsündeki zonasyonun şematik gösterimi¹³.

Karaciğer Parankimasında Kan Damarları: Portal kanallarda bulunan kan damarları interlobüler damarlar olarak adlandırılmaktadır. Sadece en küçük portal triadları oluşturan interlobüler damarlar sinüzoidlere kan gönderirler. Sinüzoidlerde kan merkeze, santral vene doğru akmaktadır. Santral ven klasik karaciğer lobülü merkezi eksenini boyunca ilerler, lobül içinde ilerledikçe kalınlaşır ve bir sublobüler vene boşalır. Karaciğerdeki portal ven ve dallarının yapısı genel olarak tipik venlerin özelliklerini göstermektedir. Lümeni, ilişkili olduğu arterin lümeninden çok daha geniştir. Hepatik arterin yapısı diğer arterlere benzemektedir. Kalın müküler bir duvarı vardır. Hepatik sinüzoidler ince, kesintili endotel ile kaplıdır. Kesintili sinüzoid endoteli geniş alanlarda bulunmayan kesintili bir bazal laminaya sahiptir. Hepatik sinüzoidler, duvarlarındaki ikinci bir hücre tipi olan Stellat sinüzoidal makrofaj ya da Kupffer hücresinin damar

döşemesinin normal parçası olmasıyla diğer sinüzoidlerden farklıdır. Kupffer hücresi mononükleer fagositik sisteme aittirler. Perisinüzoidal aralık Disse aralığı adıyla da bilinir ve kan ile karaciğer hücreleri arasında madde alışverişinin olduğu alandır. Hepatosit bazal yüzeyleri ile sinüzoidleri döşeyen endotel hücrelerinin ve Kupffer hücrelerinin bazal yüzeyleri arasında yer almaktadır. Hepatositlerin bazal yüzeylerinden Disse aralığına küçük, düzensiz mikrovilluslar uzanmaktadır. Bu mikrovilluslar hepatositler ile plazma arasında madde alışverişini sağlayan yüzey alanını altı kat kadar artırmaktadırlar. Hepatik lenf de perisinüzoidal aralıkta oluşmaktadır. Karaciğer parankiminde lenfatik damar yoktur. Kan plazma filtratı kılcal damarlardan portal yolların bağ dokusu boşluklarına akar ve daha sonra portal lenfatik damarlara geçer^{13,57}.

Karaciğer sayısız önemli işlevi yerine getirebilmek için çok çeşitli hücre tipleri barındırır. Bu hücreler karaciğer içinde karmaşık ve koordineli bir ağ geliştirirler. Epitel kökenli parankimal hücreler (Hepatositler, Kolanjiositler) karaciğerin ana kütesini oluştururlar ve toplam karaciğer hücrelerinin %75'i kadardır. Nonparankimal hücreler (Karaciğer sinüzoidal endotelyal hücreleri, Kupffer Hücreleri, Hepatik Stellat Hücreleri) ise toplam karaciğer hücrelerinin %25'ini oluştururlar⁵⁸. Ayrıca karaciğer Progenitör Hücreleri, Pit Hücreleri, Dendritik Hücreler de mevcuttur^{59,60}.



Şekil 4. Karaciğer kan desteği¹³.

2.1.2. Karaciğer Yapısal Organizasyonu ve Hücreleri

2.1.2.1. Hepatosit

Toplam karaciğer hacminin %80'ini, toplam hücre sayısının %60'ını oluşturan hepatositler karaciğerdeki en büyük hücre popülasyonunu temsil eder ve ışınsal kordonlar şeklinde düzenlenmiştir. Tipik olarak poligonal şekilli olup, 20-30 µm boyutunda hücrelerdir. Sinüzoidal yüzeylerinde geniş mikrovillöz bir yüzeye sahip ve sinüzoidal endotel hücreleri ile temas halindeyken, yan yüzeylerinde safra kanalikülü oluşturmak için sıkıca birbirlerine tutunurlar. Safra kanalikül lümeni çok dar olup, yaklaşık 1 µm kadardır. Organellerle dolu sitoplazma hepatositlerin önemli özelliğidir ve genellikle asidofildir. Bazofilik alanlar ise granüllü endoplazmik retikulum ve serbest ribozomlar ile temsil edilir. Hepatosellüler hacmin % 15'i düz ve granüllü endoplazmik retikulumdan oluşur. Hepatositlerdeki endoplazmik retikulum membranı toplam hücre membranının % 50'sini oluşturur. Kalsiyum homeostazının sürdürülmesi diğer hücre tiplerinde de olduğu gibi endoplazmik retikulum fonksiyonları arasındadır. Hepatositlerde bulunan düz endoplazmik retikulum (aER) geniş yayılımı olabilmektedir, ancak hücrenin metabolik aktivitesine bağlı olarak değişkenlik gösterir. AER, toksinlerin ve ilaçların parçalanmasında ve konjugasyonunda görevli enzimlerin yanında lipoproteinlerin kolesterol ve lipit kısımlarının sentezinden sorumlu enzimleri de içermektedir. Alkol, çeşitli ilaçlar ve kanser tedavisinde kullanılan bazı kemoterapötik ajanların uygulanmasından sonra aER hipertrofiye uğramaktadır.

Hepatositlerde yaklaşık 30 kadar lizozom ve 500 kadar peroksizom vardır. Peroksizomlarda bulunan katalaz enzimi hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar. Bu tip reaksiyonlar da karaciğerde meydana gelen birçok detoksifikasyon olayında görevlidir. Hepatositlerin çekirdekleri geniş sferikal şekilli olup, hücrenin merkezinde yer alır. Her çekirdekte iki ya da daha fazla iyi gelişmiş çekirdekçik bulunur. Hepatositlerin çoğu tek çekirdekli ancak iki çekirdekli olanlar da yaygın olarak gözlenebilir. Hepatositler çok sayıda mitokondri ve Golgi Aparatına bitişik yüksek metabolik aktiviteyi yansıtan geniş endoplazmik retikulum ağına sahiptir. Çoğu hücrede olduğu gibi salgılanacak proteinler ribozomal sentez ile başlar ve endoplazmik retikulum lümenindeki Sec 61 translokazı yoluyla Golgiye gider. Hepatositlerde, sıkıca paketlenmiş üç-beş sisternadan oluşan 50 kadar Golgi birimi ve irili ufaklı birçok

vezikül bulunmaktadır. Golgi sisternaları ve veziküller 25-80 nm çapında elektron dens granüller içermektedir. Golgide glikolizasyon meydana gelir. Hepatosit lizozomları demir için de depo yeri, bazı hastalıklarda demir birikim bölgesi olabilir. Ayrıca lizozom sayısı, basit obstrüktif safra stazı, viral hepatit ve anemi gibi patolojik durumlarda artış gösterir. Mikrofilaman, mikrotübül ve ara filamanlar ise hücre şeklini ve salgılama olaylarını destekler. Toksik kimyasallar, alkol ve ilaçlar hücre iskeletini büyük ölçüde değiştirir^{13,61,62,63,64,65,66,67}. Mitokondriyonlar ise hücre enerjisi oluşumunda önemli bir role sahiptir. Yağ asidi oksidasyonu, trikarboksilik asit döngüsü ve oksidatif fosforilasyonda rol oynar. Hücre ölümü tiplerinin çoğu mitokondriyonların membranı tarafından tetiklenir. Bu nedenle ilaca bağlı karaciğer hasarında önemli bir rol oynar^{68,69}. İç mitokondriyal membranda bulunan kardiyolipin oksidatif strese oldukça duyarlıdır. Elektron transport sistem kompleksinin kaybı ile mitokondriyal disfonksiyon, Sitokrom C'nin sitozole salınmasıyla kaspaz aracılı apoptoz ve hücre ölümü gerçekleşir⁷⁰. Düşük ağırlıklı ROS üretimi; metabolik adaptasyonu, orta dereceli ROS üretimi; enflamatuar araçların düzenlenmesine, yüksek aracılı ROS üretimi ise; apoptoz ve otofaji gibi yolları aktive eder⁷¹. Mitofaji, işlevsiz mitokondriyonu ortadan kaldırmak için gerekli olan otofajik süreçtir⁷². Oldukça polarize bir hücre olan hepatositlerin polaritesinin oluşturulması ve sürdürülmesi hepatositlerin birçok işlevi için gereklidir. Özellikle iki ters yönlü akımı devam ettirmesi polarize olmalarıyla sağlanır^{73,74}. Hepatositler birbirlerine adherens tipi, sıkı bağlantı ve geçit bağlantıları (gap junction) ile bağlanır. Bunlar hücreler arası iletişimi düzenler ve safranin merkezden periferine doğru sızıntısız akmasını sağlar⁷⁵. Hepatositler glikojen ve lipid damlacıkları depolayabilir. Hepatosit ömrü ortalama 200-400 gün arasında değişir⁷⁶. Hepatositler protein sentezi, üre oluşumu, detoksifikasyon, karbonhidrat ve lipid, demir metabolizmasında görevlidir⁷⁷. Bu aktif metabolik fonksiyonlardan da görüldüğü gibi hücrenin işlevi tek tip değildir ve karaciğer asinusundaki konumuna göre farklılık gösterir⁷⁸. Örneğin, perivenöz hepatositler periportal hücrelere göre SER'den daha zengindir. Sentrlobüler parankimadaki detoksifikasyon aktivasyonu ile ilgili olarak alkol tüketimi ve ilaç kullanımında özellikle perivenöz hepatositlerde AER artar. Antioksidan fonksiyondan dolayı perivenöz hepatositlerdeki peroksizom sayısı da periportal hücrelerdeki peroksizom sayısından yaklaşık 2 kat daha fazladır. Perivenöz hücrelerdeki mitokondri ise boyut olarak daha küçük ancak daha fazla sayıdadır⁷⁹. Detoksifikasyonda

kullanılan enzimler topluca P450 olarak adlandırılır⁸⁰. ROS öncelikle mitokondride ve sitokrom P450 yardımı ile endoplazmik retikulumda üretilir.⁸¹

Karaciğerin asinusunda periportal bölge 1'de bulunan hepatositler glukoneogenez ve B oksidasyon konusunda özelleşmiş oysa merkezi ven bölgesinde bölge 3'de hepatositler daha fazla glikoliz, lipogenez ve detoksifikasyon önemlidir. Bu nedenle hepatositler fonksiyonel olarak heterojendir⁸². Hepatositlerin yüksek rejenerasyon yeteneği vardır⁸³. Hepatositler genelde hareketsiz durumdadır. Bununla birlikte cerrahi rezeksiyon gibi durumlarda rejenerasyon yeteneğini başlatır. Böylece karaciğer orijinal duruma dönmeye çalışır. Çok çeşitli hepatosit yaralanmalarının meydana geldiği ilaçla şiddetli bir karaciğer hasarı oluştuğunda hepatik kök hücreler daha önemli bir rol oynayabilir. Her iki durumda da hızlı ve etkili bir rejenerasyon sağlanamazsa işlevsiz bir karaciğer hayatı tehdit eden durumlara yol açabilir⁸⁴.

2.1.3.2. Kupffer Hücreleri

Kupffer hücreleri kendini yenileyen, esas olarak karaciğer homeostazını sağlayan yerleşik fagositlerdir. Proinflamatuvar, antienflamatuvar sitokinler ve diğer önemli biyolojik molekülleri üretir. Karaciğerde hasarlanma Kupffer hücrelerini tetikleyerek inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınmasına yol açar⁸⁵. Kupffer hücreleri karaciğerdeki makrofajların %80-90'nı ve karaciğerdeki hücrelerin %15'ini oluşturur ve mononükleer fagositler sistemin çok önemli bir parçasıdır ve monositlerden köken almaktadır^{86,13}. Yerleşik karaciğer makrofajları ismini bunları ilk kez fark eden patolog C. Von Kupffer'den almıştır ve Kupffer hücreleri potansiyel olarak tehlikeli uyarılara karşı ilk hızlı yanıt olan doğuştan gelen bağışıklığın önemli bir bileşenini temsil eder⁸⁷. Bağışıklık sistemlerinin önemli üyeleridirler ve sinüzoidde bulunurlar ve gastrointestinal sistemden kaynaklanan bakterilere, mikrobiyal kalıntılara ve endotoksinler karşı ilk savunma hattı olarak görev görürler. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve geçirimli elektron mikroskopu (TEM), Kupffer hücrelerinin sinüzoid döşemesinin parçası olduklarını açıkça göstermektedir^{88,13}. Kupffer hücreleri homeostaz sırasında fonksiyonel demir metabolizmasının sürdürülmesi ve bilirubin metabolizmasının devamlılığını sağlar. Fc reseptörlerini ve farklı reseptörlere sahip hasarlı hücreleri ortadan kaldırır. Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında kırmızı kan hücre fragmanlarının ve ferritin formunda demirin olması, dalaktan karaciğere gelen

yaşlanmış ya da hasarlı kırmızı kan hücrelerinin son yıkımlarında görevli olabileceklerini düşündürmektedir^{13,89}. Kupffer hücreleri yüksek fagositik kapasiteye sahiptir. Virüs, bakteri gibi yabancı maddeleri, apoptotik hücreleri ve hücre kalıntıları ortadan kaldırır⁹⁰. Kupffer hücreleri yalnızca intravasküler bölüm yani hepatik sinüzoidlerde bulunur ve sinüzoid ve hepatik sinüzoidal endotel hücreleri boyunca göç edebilirler oysa monosit türevli makrofajlar olan Dendritik hücreler ekstravasküler yerleşimli olabilir^{91,92}. Kupffer hücresi çekirdekleri oval veya girintilidir ve bazen lobülerdir. Peroksidaz aktivitesi GER’de mevcuttur. 3 aylık sıçandan alınan, 24 saat boyunca kültüre edilmiş Kupffer hücrelerinin ultrastrüktürel incelemelerinde; TEM’de bu hücrelerin en çarpıcı özelliklerinin farklı boyutta, çok sayıda lizozomlar içerdiği görülmektedir. Aktif Golgi kompleksi, ribozomlar, sentriyoller, mikofilamentler ve mikrotübüller de sitoplazmada bulunur. Hücre zarı genellikle düzensiz bir görünüme sahiptir^{93,94}. Kupffer hücresi hasarlı karaciğer hücrelerinin rejenerasyonu sırasında Wnt B ekspresyonunu artırır. Ölmekte olan hepatositler Kupffer aktivasyonuna ve ayrıca TGF-B artışına neden olur. Bu da Hepatik Stellat hücreleri etkiler ve Kupffer hücresi fibrozisin ilerlemesine katkıda bulunur. Kupffer hücreleri ilaca bağlı karaciğer hasarı ve toksin kaynaklı fibroziste koruyucu olabilirken; alkolik ya da alkolsüz yağlı karaciğerde, kronik inflamasyona katkıda bulunabilir⁹⁵. Hepatik makrofajlar, hepatosit ve Hepatik Stellat Hücreleri ile etkileşime girerek karaciğer fibrozu ve fibrolizini düzenlerken, patojenleri temizleyebildiği, karaciğer inflamasyonunu destekleyebildiği ya da inhibe edebildiği kaydedilmiştir. Kupffer hücreleri karaciğer harabiyeti sonrasında, onarım aşamasında IL-10 gibi antienflamatuvar sitokinleri salgılayarak, dokunun yeniden şekillenmesinde, inflamasyonun, doku debrislerinin ve apoptotik cisimlerin ortadan kaldırılmasında, ayrıca anjiogenezin oluşumunda da önemli rol oynarlar⁹⁶.

2.1.3.3. Hepatik Stellat Hücreleri (HSH)

Hepatik Stellat Hücreleri karaciğere özgü perisitlerdir. Hepatik sinüzoidler bilinen tipik perisitlerden yoksundur ve HSH’ler bu görevi yerine getirir. Bu hücreler yağ depolayan hücreler, ito hücreleri, perisinüzoidal hücreler, perisit, liposit, intersitisyel hücreler olarak da isimlendirilirler^{97,98}. Karaciğer boyunca dağılmış, Disse aralığında yerleşik olan HSH’lerin en karakteristik özelliği Vitamin A (Retinil

Esterleri) içeren lipid damlacıklarının varlığıdır⁹⁹. Karaciğer A vitamini içeriğinin %75'i bu hücrelerin sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarında bulunur. Karaciğerde bulunan A vitamini, toplam vücut A vitamininin yaklaşık %90'ını oluşturur. Kronik enflamasyon ya da karaciğer sirozu gibi bazı patolojik durumlarda hepatik stellat hücreler lipid ve A vitamini depolama yeteneklerini kaybederek miyofibroblastların özelliklerini sergileyen hücrelere farklılaşırlar. Fibroblastlara benzeyen bu hücreler sitoplazmalarında iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahiptirler. Bu hücreler Tip I, III kollajen, fibronektin, laminin, tenaskin, undulin, hyaluronik asit, biglikan ve dekorin gibi çeşitli hücre dışı matriks bileşenlerini sentezleyebilirler^{13,100}. Sitoplazmalarında az miktarda glikojen partikülleri bulunur. HSH'ler fagositik aktiviteye sahiptir ve lizozomları vardır. Erken ve geç endozomlarda multiveziküler cisimcikler de gösterilmiştir. Mikrofilament ve mikrotübüller hücre iskeletini oluşturur. Çekirdek girintili bir yapıya sahip olup bir ya da daha fazla çekirdekçik görülebilir¹⁰¹. Sahip oldukları hücre belirteçlerinden (Nestin, Gfap, Desmin, Vimentin, P 75, Neutropin) dolayı nöral krest ve mezenkimden geliştiği düşünülmektedir. Otokrin veya parakrin etkili moleküller de salgırlar. Lipotropin, sitokinler, follistatin ve IL-10 (Hepatoprotektif sitokin) HSH hücreleri tarafından salınır¹⁰². Çok sayıda karaciğer hasarına neden olan olaylarda, Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF), enflamatuar sitokinler, Transforming Growth Faktör- β (TGF- β), Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve IL-1 etkisi ile Hepatik Stellat hücreler inaktif durumdan aktif duruma geçerler. Hepatik Stellat Hücrelerin aktivasyonu önemli bir olaydır. Kollajen birikimine ve hepatik fibrozisin ilerlemesine yol açar. Hepatik Stellat Hücre aktivasyonu hücre çoğalması, miyofibroblastlara farklılaşması ve göçü ile karakterizedir. Miyofibroblastlara dönüştükten sonra büyük miktarda kollajen ve diğer ekstrasellüler matriks bileşenlerini sentezler ve sonuçta karaciğerde fibrozise yol açar¹⁰³. Karaciğer fizyolojisi ve fibrozis oluşumunda hayati rol oynayan karaciğere özgü mezenkimal hücreler olup, karaciğeri daha fazla hasardan korumak için yaralanma bölgesinde geçici bir hasar oluşturur. Ek olarak hepatik epitel hücrelerinin yenilenmesini destekleyen sitokin ve büyüme faktörleri salgılar¹⁰⁴. Dolayısı ile karaciğer rejenerasyonunda da önemli rol oynar. Karaciğer fibrozisi gibi durumlarda HSH'ler A vitaminini kaybeder ve büyük miktarda hücre dışı matriks sentezler. Fizyolojik koşullarda bu hücreler A vitamini homeostazının düzenlenmesinde önemli rol oynar.

Hücre yüzeylerinde retinole özgü bir bağlayıcı protein olan Retinol Bağlayıcı Protein için spesifik reseptörleri eksprese ederler¹⁰⁵.

2.1.3.4. Karaciğer Sinüzoidal Endotel Hücreler (KSEH)

Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, kan hücreleri ve hepatositlerle hepatik stellat hücreleri arasındaki ara yüzde bulunan endotel hücreleridir¹⁰⁶. Sinüzoidal duvarı oluştururlar. KSEH'ler oldukça geçirgendir, fenestra varlığı en önemli özellikleridir¹⁰⁷. Fenestralarının ortalama çapı 100 nm olup, fenestraların toplam alanı, KSEH'in tüm yüzeyinin % 10'unu oluşturur¹⁰⁸. Kıyaslandığı zaman sentrolobüler alandaki fenestraların daha büyük, periportal alandaki fenestraların daha az sayıda olduğu görülmüştür¹⁰⁹. Elektron mikroskopu ile yapılan analizde KSEH pencere çapı ve sayısının ilaç tedavisi, sıcaklık, hipoksi, basınç gibi koşullarda değiştiği gösterilmiştir^{110,111}. Fenestralar karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri içindeki gözeneklerdir. Yaşlanma ile KSEH'de önemli ultrastrüktürel değişim olur. Psödokapillerizasyon ile fenestra kaybı gerçekleşir¹¹². Hücre sitoplazmasında çok sayıda endositik veziküllere ve birçok lizozoma sahiptir. Bu makromoleküler komplekslerin reseptör aracılı endositoz yoluyla yüksek endositik aktivitesini gösterir. Fizyolojik koşullarda karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri sindirim esnasında hepatik kan akışındaki büyük değişimlere rağmen düşük portal basıncın sürdürülmesi için hepatik vasküler tonusu düzenlerler. Patolojik koşullarda ise kronik karaciğer hastalıklarının başlaması ve ilerlemesinde kilit rol oynarlar. Anjiyogenez ve vazokonstrüksiyonu teşvik ederler. KSEH'ler akut karaciğer hasarı ya da kısmi karaciğer rejenerasyonunda, enflamasyon ve enflamasyona bağlı karaciğer lezyonlarında hepatosellüler karsinom gelişimi ve ilerlemesinde rol oynar.^{113,114}. Karaciğer fibrozu sırasında vasküler endotelial büyüme faktörünün ekspresyon derecesinin artması KSEH'lerde proanjiogenik etkiye HSH'lerde profibrojenik etkiye yol açar¹⁰⁶.

2.1.3.5. Pit Hücreleri

Natural Killer hücreler, konağın doğuştan gelen bağışıklık hücreleri olarak tanımlanmıştır. Viral enfeksiyon ve tümörlere karşı ilk savunma hattını oluşturur¹¹⁵. Pit hücreleri ise bir tür hepatik sinüzoidal hücrelerdir ve morfolojik olarak büyük

granüler lenfositler olarak tanımlanır¹¹⁶. Bu hücreler lenfosit ve granülositler arasında bir çapa sahiptir¹¹⁷. Karaciğer Natural Killer hücreleri ilk olarak Wisse tarafından sıçanda Pit hücreleri olarak tanımlanmıştır. Bu hücreler sinüzoidal lümen içinde bulunup sinüzoidal endotel hücreleri ve Kupffer hücrelerine yapışır. T ve B hücreleriyle kıyaslandığında sinüzoidal duvara daha sıkı yapışan ve endotel hücre yüzeyi boyunca göç edebilen bir hücrelerdir^{118,119}. Periferik kan ve dalak NK hücreleri karşılaştırıldığında karaciğer ilişkili NK hücreleri daha fazla sayıda ancak daha küçük boyuttadır ve özellikle tümörlere karşı daha yüksek sitotoksositeye sahiptir¹²⁰. Bu hücreler birkaç karakteristik özellik gösterir. Çubuk şekilli veziküller, elektron dens granüller, iyi gelişmiş psödopodia bu özelliklerdendir. Bu özellikler Pit hücrelerini lenfositlerden ayırır. Kromatinden zengin yuvarlak veya oval çekirdeği ve yoğun granüller içeren soluk bir sitoplazması vardır. Pit hücrelerinde Golgi kompleksi iyi gelişmiştir ancak ER zayıftır¹²¹. Sitoplazmanın bir kısmında endoplazmik retikulum, Golgi kompleksi, serbest ribozomlar, birkaç küçük mitokondriyon bulunabilir. Pit hücresinde organeller, merkezi çekirdeğin bir tarafında bulunur. Bu hücrelerin fagositik ve endositik özelliği yoktur¹¹⁷. Yapılarındaki Perforin/Granzim içeren granüllerin ekzositozu ile de antitümöral fonksiyon görürler¹¹⁸.

2.1.3.6. Dendritik Hücreler (DH)

Dendritik hücreler, CD34 hematopoietik kök hücrelerden elde edilir ve normal koşullarda perivenüler bölge, portal alan ve Glisson kapsülü altında küçük DH popülasyonları ve parankim boyunca dağılmış birkaç DH bulunur. Dendritik hücreler portal alandan santral vene göç ederken farklılaşır. Bu hücreler daha sonra sinüzoidal lümeni endotelial porlardan geçerek Disse boşluğu yoluyla hepatik lenfe ulaşır. Disse boşluğunda ve portal triadlarda lenfositlerle yakın temas kurar. Enflamatuvar koşullarda portal yolla ilişkili lenfoid dokuya alınır ve burada T hücrelerini aktive eder^{122,123}. Hepatik dendritik hücreler aldıkları sinyallerle bağışıklık tepkilerini başlatır ve düzenler. Patolojik koşullarda intrahepatik bağışıklık tepkilerini ve karaciğer homeostazını sağlarlar. HCV enfeksiyonu, hepatosellüler karsinom ilerlemesi, karaciğer allogreft ve transplantasyonu ile oluşan kalıcı hepatitte görülen bozulmuş T hücre yanıtını düzenler ya da karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında antienflamatuvar yanıtı katılır. Ayrıca fibrozisin gerilemesini teşvik ederler¹²⁴. Dendritik hücreler ilk kez

Steinman ve Cohn tarafından 1973’de farelerin periferik lenfoid organlarında tanımlanan, az sayıda, aktif, hareketli, CD45 eksprese eden, radyosensitif, kemik iliğinden türeyen hücrelerdir. Dendritik hücreler doğuştan gelen bağışıklıkta ve T hücre aktivasyonunda önemli rol oynar. Antijeni alır, hem CD4 hem de CD8 hücrelerine sunum için işler ve her iki tip T hücresinin tam aktivasyonuna yol açar sonra da gösterirler. Otokin ve kemokinler salgılar. Genel olarak geleneksel DH ve plazmositoid DC olarak alt bölüme ayrılır. Ayrıca monosit türevli DC’ler olarak adlandırılan bir alt kümesi de vardır^{125,126}. Dendritik hücreler özellikle portal triad boyunca yüksek sayıda bulunur. Geleneksel DH tipleri periportal bölgede ve merkezi ven etrafında bulunurken, plazmositoid alt tipi karaciğer parankiminde bulunur¹²⁷. Karaciğer güçlü bir makrofaj sistemi ile donatılsa da sürekli dendritik hücre ve lenfosit kontrolü altındadır. Özellikle enfeksiyon durumunda karaciğerde dendritik hücre trafiği artar. Birçok dendritik ya da psödopod benzeri çıkıntısı olan, zayıf fagositik yeteneği olan (Farelerde sadece karaciğerde yerleşik CD 8a-DC alt kümesinin fagositik özellik sergilediği bildirilmiştir), yüzeylerinde yüksek düzeyde MHCII taşıyan bu hücreler çoğunlukla portal ven çevresine ve bazıları da karaciğer parankimine dağılmıştır. Dendritik hücrelerin alt tipleri farklı moleküler fenotiplere sahiptir ve farklı sitokinler salgılar. Olgunlaşmamış Dendritik hücreler, antijenleri yakalama ve sunma konusunda güçlü bir yeteneğe sahiptir. Dendritik hücreler antijenleri yakalar ve lenfatik damarlardan lenfatik dokuya seyahat ederken olgunlaşır. Daha sonra T hücrelerine antijen sunar ve T hücrelerinin aracılık ettiği bir bağışıklık etkisi aktive edilir. Bu nedenle dendritik hücreler ilk ve edinilmiş bağışıklıkta önemli hücrelerdir^{48,128,129}.

2.1.3.7. Hepatik Progenitör Hücreler (HPH)

Karaciğer sayısız önemli işlevi aracılığıyla hayati aktiviteyi sürdüren temel bir organdır. Yaralanma sonrası tamamen yenilenme konusunda eşsiz bir yeteneğe sahiptir. Fonksiyonel olgun karaciğer hücreleri için kaynak olan hepatik progenitör hücreleri karaciğerde hücrelerin yenilenmesi ve farklılaşması arasında bir dengenin düzenlenmesi için gereklidir¹³⁰. Akut karaciğer hasarı sonrası hepatosit bölünmesi parankimi yeniler ancak masif ya da kronik karaciğer hasarı esnasında intrinsik progenitör hücreler aktive edilir¹³¹. Hepatik progenitör hücreler ilk olarak 1956’da Farber tarafından tanımlanmıştır. Yetişkin hepatositlerden önemli ölçüde daha küçük olan, az organel,

zayıf sitoplazma ve belirgin oval şekilli çekirdeğe sahip hücrelerdir¹³². Çekirdeğinin şeklinden dolayı kemirgenlerde oval hücre olarak adlandırılırlar. Bu hücreleri tespit etmek için immünohistokimya ya da elektron mikroskobu gereklidir¹³³. Hepatik progenitör hücreler sıçan oval hücre belirteci OV-6, sitokeratin CK7, CK19 ve kromogranin-A için güçlü immünoreaktif küçük hücrelerdir¹³⁴. Hepatik progenitör hücreler karaciğerde periportal parankimde lokalize olan safra kanalları ve Hering kanalında bulunur. Burası safra kanalı epiteli ve hepatosit arasındaki geçiş bölgesidir. Karaciğerde patolojik bir durum yoksa bu hücreler ve niş hareketsiz durumdadır. Ciddi karaciğer hasarından sonra karaciğer rejenerasyonunda önemli bir aktivasyon görülür. Niş sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri arasındaki etkileşim hepatik progenitör hücrelerin etkinleşmesi için kritiktir. Hepatik progenitör hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması aktivasyon olarak adlandırılır ve bu süreç neredeyse tüm karaciğer hastalıklarında değişen derecelerde gerçekleşir. Birkaç çalışma hastalıklı karaciğerde hepatik progenitör hücre aktivasyonunun vagal innervasyon gibi nöral ve endokrin faktörler tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Hayvan karaciğerindeki oval hücrelere benzer şekilde insan hepatik progenitör hücrelerin hepatosellüler karsinoma ve diğer karaciğer tümörlerine yol açabileceğine dair kanıtlar vardır^{135,136}. Karaciğerde hasarlanmayla oluşan rejeneratif doku ya hepatosit duplikasyonu ya da karaciğer kök progenitör hücrelerinden türetilir. Hem hepatosit hem kolanjiosit belirteçlerine sahip olabilir ve her ikisine de farklılaşabilir¹³⁷. Hepatik progenitör hücrelerin farklılaşmasına makrofaj tarafından salgılanan Wnt-B Katenin yolu aracılık eder¹³⁸. Ultrastrüktürel olarak Hepatik progenitör hücreler 3 alt tipe bölünebilir. Tip 1 hücre: Farklılaşmamış hücredir ve hepatositlerin sinüzoidal kutbunda yer alır ve tonofilament demetleri içerir. Ek olarak Tip 2 hücre lateral interdigitasyonlar, apikal mikrovilluslar, bazal pinositik vakuoller ve iyi gelişmiş bir bazal membran gibi bazı biliyer özelliklere sahiptir. Buna karşılık hepatositlerin yanında yer alan Tip 3 hücre hemikanalikül ve glikojen rozetleri gibi bazı hepatositik özelliklere sahiptir. Hepatik progenitör hücre aktivasyonu sadece karaciğerde hasar, hepatosit ya da kolanjiosit kaybında gerçekleşir¹³⁷.

2.3. Karaciğer Fonksiyonları

Karaciğer enerji devamlılığını sağlayan ve yaşamsal fonksiyonlardan sorumlu bir organdır. Dolaşımdaki plazma proteinlerinin çoğu karaciğerde üretilir ve

salgılanırken, safra üretimi de karaciğerin ekzokrin fonksiyonudur. Karaciğer dolaşımdaki besin maddelerinin ve vitaminlerin alınmasında, depolanmasında ve dağıtımında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kan glikoz seviyesini sağlarken, dolaşımdaki çok düşük dansiteli lipoproteinlerin seviyesini de düzenler. Toksik madde ve ilaçların detoksifikasyonu ve indirgenmesi de karaciğerin önemli görevleri arasındadır.

1. Plazma Proteinlerinin Sentezi: Albüminler, lipoproteinler, glikoproteinler, protrombin, fibrinojen ve nonimmün globülinler dolaşımdaki plazma proteinlerinden olup karaciğerde üretilirler. Albüminler plazma kolloid basıncı arcılığı ile plazma hacminin ve doku sıvısı dengesinin düzenlenmesinde görev görürler. Lipoproteinlerden özellikle VLDL (Çok düşük dansiteli lipoprotein) ile az miktarda LDL (Düşük dansiteli lipoprotein) ve HDL'de (Yüksek dansiteli lipoprotein) karaciğerde sentezlenir. Glikoproteinlerden, haptoglobulin, transferrin ve hemopeksin gibi demir taşınmasında yer alan proteinler de karaciğerde sentezlenir. Non-immün α globulinler ve β globulinler de, plazma kolloid ozmotik basıncının devamlılığının sağlanmasında yardımcı olurlar ve çeşitli maddeler için taşıyıcı protein olarak görev yaparlar¹³. Hepatositler pıhtılaşma sistemi içindeki proteinlerin çoğunu sentezler. Karaciğer tarafından salgılanan prokoagülan faktörler; Faktör II, V, VII, X, XI, XII, XIII, fibrinojen antikoagülan faktörler; Antitrombin, Protein C ve Protein S'dir^{139,140}. Ayrıca birçok fibrinolitik protein ve trombopoietin de burada sentezlenir. Bu nedenle de karaciğer hemostazda merkezi bir rol oynar¹⁴¹. Kronik karaciğer hastalığı ya da akut hepatotoksisite bu faktörlerin hepatik sentezini önemli ölçüde değiştirebilir ve böylece pro ve antikoagülan faktörlerin sistemik dengesi ve genel seviyesi etkilenir¹⁴². Karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalarda koagülasyon faktörlerinin yapımında azalma, megakaryopoez ve trombosit yaşam süresinde azalma görülmektedir¹⁴³.

2. Safra Yapımı: Safra lipitten zengin hepatik bir sekresyondur¹⁴⁴. Safra; safra tuzları, kolesterol, safra pigmentleri, plazma elektrolitleri ve fosfolipitler içerir^{13,145}. Hepatositler tarafından yapılan safra bir sindirim salgısı olmasının yanı sıra aynı zamanda metabolik son ürünlerin de atıldığı bir sıvıdır. Vagal

uyarıyla beraber sekretin, glukagon, kolesistokinin ve gastrin hormonları da barsak lümenine safra salgılanmasında etkilidir¹⁴⁶.

- 3. Karbonhidrat Metabolizması:** Karaciğer glikozu depolama, sentezleme, metabolize etme ve kana iletmede önemli rol oynar. Memelilerde kan glikozu hepatosit plazma membranında bulunan ve glikoz transportunda rol alan GLUT2 proteini aracılığı ile hücre içine taşınır. Glukokinaz ve Glikojen Sentazla glikojen sentezlemek için kullanılır. Karaciğerde glikojen miktarı hormonal mekanizmalarla düzenlenir. Tam tersi açlıkta glikoz oluşturmak için glikojen fosforilaz kullanır^{147,148,149}. Karbonhidrat sınırlı ve insülin seviyeleri düşük olduğunda glukoneogenetik yollar aktive olur ve hepatik mitokondri yağ asidi ve bazı aminoasitleri keton üretmek için kullanır. Ketogenez olarak bilinen bu son işlem alternatif bir yakıt kaynağı sağlayarak glikozu yedekler. Bu nedenle karaciğer glukoneogenez ve ketogenezde önemlidir¹⁵⁰.
- 4. Lipit Metabolizması:** Karaciğer, lipit alımı, depolanması, parçalanması ve serbest bırakılması için kritik bir depodur. Hepatosit diyet lipitini şilomikron şeklinde alır ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) olarak dolaşıma geri verir¹⁵¹. Lipit alımı, esterleşme, oksidasyon ve yağ asitlerinin salgılanması hepatositlerde gerçekleşir. Hepatositler plazmadan aldığı serbest yağ asitlerini fosfolipit sentezinde kullanır. Kolesterol sentezi ve plazma kolesterol düzeyinin denetimi de karaciğerin görevlerindendir. Trigliseritler lipit metabolizması için karaciğere gelir. Hepatik lipit metabolizması homeostazı bozulduğunda yağlı karaciğer oluşur^{152,153}. Lipit metabolizmasının düzenlenmesinde insülin, adrenokortikotropik hormon, adrenalin, tiroid ve ghrelin hormonlarının önemli rolü vardır¹⁵⁴.
- 5. Protein Metabolizması:** Karaciğer dolaşımdaki protein hacminin %85-90'nın dan sorumludur. Albumin bu salgılanan proteinlerin en bol bulunanıdır ve plazma proteininin %55'ine katkıda bulunur. Karaciğer ayrıca akut faz proteinlerini, büyüme faktörlerini ve çok sayıda diğer peptidleri salgılar. Ek olarak karaciğerin parçalama kapasitesi yüksektir, protein ve aminoasitleri metabolize eder. Aminoasit metabolizmasıyla oluşan azotlu bileşiklerin atılması ise karaciğer üre döngüsü ile sağlanır^{148,13}. Karaciğer tüm memelilerde birçok

aminoasiti glutamat, glutamin, alanin, aspartat, asparajin, glisin, serin ve glutasyonu sentezler¹⁵⁵.

6. **Endokrin Benzeri Fonksiyonları:** Karaciğerin endokrin benzeri fonksiyonları, birçok hormonun yapı ve fonksiyonunu modifiye etme yeteneğidir. Tiroksin, büyüme hormonu, insülin, glukagon vb. hormonlar modifiye edilir¹³. Ayrıca gıdalarda bulunan vitamin D barsak lenfatikleri yoluyla emilip, karaciğer tarafından alınmadan önce şilomikronlardaki vitaminin yaklaşık %50'si vitamin D bağlayıcı globuline aktarılır. Vitamin D karaciğerde 25-hidroksikolekalsiferole dönüştürülür¹⁵⁶.
7. **İmmün Fonksiyon:** Hepatik bağışıklık sistemi sürekli olarak büyük miktarda diyet ve antijen yüküne maruz kalır. Portal ven yoluyla gastrointestinal sistemden ve hepatik arter yoluyla sistemik dolaşımdan dakikada 1,5 litre kan alan karaciğer immün sistem ile ilgili çok sayıda hücre içerir. Dendritik hücreler, Kupffer hücreleri, karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, hepatik stellat hücreleri bunlara örnektir. Hepatik sinüzoidlerde ayrıca patojen algılama, fagositoz, sitotoksikite, sitokin salınımı ve T hücrelerine antijen sunumu yapan çoklu tipte lökositler ve doğuştan gelen adaptif bağışıklık sistemi hücreleri bol bulunur¹⁵⁷. Karaciğer yetmezlikli hasta önce enfeksiyondan ölür. Sadece patojenler değil, apoptotik nötrofiller ve yaşlanan nötrofillerin üçte biri de karaciğer yoluyla atılır¹⁵⁸.
8. **İlaç ve Toksinlerin Detoksifikasyonu:** Karaciğer anatomik konumu ve biyokimyasal özellikleri nedeni ile birçok yabancı madde atılımında görevlidir. Ksenobiyotikler olarak sınıflanan ilaçlar da karaciğerde detoksifikasyona uğrar ve bu durum hepatositlerde gerçekleşir. Karaciğer ultrastrüktüründe portosentral eksen boyunca belirgin hepatosit heterojenliği ve enzim aktiviteleri farklı bölgelerde farklı işlev görür. Örneğin, sitokrom P450 dahil olmak üzere oksidasyon ile ilgili birçok izoenzimler (CYP), UDP glukronil transferazlar ve NADPH-sitokrom C redüktaz esas olarak perivenöz bölgede lokalizedir¹⁵⁹. Karaciğer ksenobiyotiklerin metabolik olayları, faz1 ve faz 2 ilaç metabolik süreçleri için ana organdır. ABC ve SLC ailelerinden gelen transmembran taşıma proteinleri, endojen bileşiklerin ve ksenobiyotiklerin hepatosite alınımına ve ayrıca hücrelerden eliminasyonuna aracılık eder^{160,161}.

9. Depolama Fonksiyonu: Karaciğer vitamin A, glikojen ve demir depolanmasında da görevlidir. Vitamin A, gözde rodopsinin sentezi için gerekli olan retinalin prekürsörüdür ve görmede önemli bir vitamindir. Kanda vitamin A düzeyi azaldığında hepatik stellat hücrelerdeki depolama bölgelerini harekete geçirir. Daha sonra, vitamin A retinol formunda, retinol bağlayıcı proteine (RBP) bağlanmış olarak dolaşıma bırakılır. Karaciğer RBP'yi de sentezlemektedir ve RBP sentezi plazmadaki A vitamini düzeyi tarafından düzenlenmektedir. A vitamini eksikliği, çoklu deri bozuklukları ve gece körlüğü ile ilişkilidir. Vitamin D ise vitamin A'dan farklı olarak karaciğerde depolanmaz ve iskelet kasları ile adipoz dokuya dağıtılır. Vitamin D gibi, K vitamini de iki kaynaktan alınmaktadır. Diyet ile alınır veya intestinal bakteriyel flora tarafından sentezlenir. K vitamini şilomikron ile karaciğere taşınır ve burada hızlıca absorbe edilip kısmen kullanılır ve daha sonra kısmen VLDL fraksiyonu ile salgılanır. Ayrıca karaciğer demirin depolanmasında, metabolizmasında ve homeostazında görevlidir. Demir, hepatosit sitoplazmasında ferritin formunda depolanır ya da hemosiderin granüllerine dönüştürülebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, demirin uzun süreli ana depolanma bölgelerinin hepatositler olduğu gösterilmiştir. Çoklu kan transfüzyonu gibi durumlarda oluşabilen fazla demir yüklenmesinde hemokromatozis denilen bir tablo ortaya çıkar¹³.

10. Kan Yapımı: Eritropoez vitellüs kesesinde (yolk kesesi) başlar. Embriyonik dönemde vitellüs kesesi duvarındaki mezoderm hücreleri hematopoetik ana hücreleri oluştururlar. Hematopoetik kök hücrelerin fetal karaciğeri kolonize etmesiyle, 9. haftada karaciğer eritropoezisin büyük bir kısmını üstlenir. 12. haftanın sonunda fetüs karaciğerinin bu görevi azalır ve dalak devreye girer. 2.trimester boyunca karaciğer asıl kan yapan organdır. Karaciğerdeki hücreler daha sonra kemik iliğine yerleşir ve fetal hayatın 5. ayında kemik iliği kan üretimine başlar böylece kemik iliği son yapım merkezi halini alır^{162,163}.

2.4. Doksorubisin

Doksorubisin, Adriamisin olarak da bilinen 1969'dan bu yana kanser tedavisinde yaygın kullanılan bir ilaçtır¹⁶⁴. Doksorubisin; şeker kısımlarına sahip seçici olmayan, sınıf 1 antrasiklin grubu güçlü bir kemoterapötiktir¹⁶⁵. Başlangıçta *Streptomyces Peacetius*'tan izole edilmiş bir antibiyotik olsa da şu an kimyasal olarak da sentezlenebilmektedir¹⁶⁶. Yaygın olarak lösemi, yumuşak doku sarkomları, meme, akciğer, mide, over, tiroid, Non Hodgkin ve Hodgkin Lenfoma ile multiple myelom ve pediatrik kanserlerin tedavisinde kullanılır^{167,168}. Kemoterapi esnasında hastalara 3 yol ile verilir: Çoğunlukla intravenöz infüzyon ile verilir iken over kanseri ve peritoneal karsinomatoziste intraperitoneal enjeksiyon ile ve rezeksiyon uygulanamayan ekstremitte tümörlerinde, yumuşak doku sarkomu ve melanom vakalarında ise izole bacak perfüzyonu kullanılabilir.

Doksorubisin; hızla bölünen hücrelerin spesifik olmayan hedeflenmesi sonucunda sağlıklı dokular üzerinde de belirgin etkilere sahiptir. Bu sitotoksik etkiler nedeniyle kullanım sınırlaması mevcuttur¹⁶⁹. Doksorubisin gastrointestinal sistemden absorbe edilemez ve enjeksiyondan sonra plazma proteinlerine bağlanarak dokulara dağılır. Doku hasarı yapıcı özelliği de intramüsküler ya da subkutan kullanıma izin vermez. Kan beyin bariyerini geçemez bu nedenle merkezi sinir sistemi tümörlerine etki etmez¹⁷⁰. Doksorubisin esas olarak karaciğerden safra yolu ile atılır. Ancak % 3-10 oranda böbreklerden ve %40-50 oranında da dışkı yoluyla atılır¹⁷¹. Biyotransformasyonu karaciğerde sitozolik karbonil redüktaz ve aldoketoredüktaz yoluyla C-13 deki ketonun stereospesifik indirgenmesiyle başlar ve sonrasında hidrolitik, glikosidik ve indirgeyici bölünme, O-sülfasyon, O-demetilasyon, ve O-glukuronidasyon ile metabolizma süreci tamamlanır¹⁷². Mitojenik ve sitotoksik etkiye sahip Doksorubisin kromozomlarda hasara yol açar¹⁷³. Büyük tedavi potansiyeli gösteren Doksorubisin gıda ve ilaç idaresi tarafından onaylanmış 132 kemoterapötik ilacın en güçlülerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte normal dokularda da bir dizi yan etkiye sebep olmaktadır¹⁷⁴. Doksorubisin kullanan hastalarda başta kalp olmak üzere, karaciğer, böbrek, beyin ve üreme organları önemli ölçüde toksik etkiye maruz kalmaktadır^{175,176}. Doksorubisin kemoterapisi ile ilgili yan etkiler doza bağlı olarak akut ya da kronik olarak sınıflandırılabilir. Akut yan etkiler genellikle yüksek dozda Doksorubisin alındıktan sonra dakikalar veya 2-3 gün içerisinde ortaya

çıkar ve geriye döndürülebilir, klinik olarak yönetilebilir. En sık görülen akut yan etkiler; mide bulantısı, kusma, lökopeni, kemik iliğinde kan yapımının baskılanması ve lokal doku nekrozudur. Karaciğerde Doksorubisin tedavisi vasküler tıkanıklık, mononükleer hücre infiltrasyonu veya hepatosit dejenerasyonu gibi histolojik değişikliklerle de ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, kronik toksisite, tekrarlayıcı dozlardan sonra birkaç hafta ya da yıl içinde belirtiler geliştirir, klinik olarak yönetilemez ve geri döndürülemez¹⁷⁷. Karaciğer, gıda ve ilaç biyotransformasyonunda yer alan birincil organdır. Doksorubisin; tedavi sırasında kalp, karaciğer gibi dokularda birikir ve plazmadan 5-10 kat kadar yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Çoğu zaman karaciğer bu durumu tolere edemeyerek toksisite oluşumuyla ciddi hasar görür. Yapılan çalışmalarda Doksorubisin ile tedavi edilen hastaların % 40'ında değişik derecelerde karaciğer hasarı geliştiği gözlenmiştir¹⁷⁴. Ayrıca karaciğerde siroza kadar ilerleyebilen Doksorubisin hepatotoksitesisi de bildirilmiştir¹⁷⁸. Doksorubisin kaynaklı hepatotoksisiteye karşı FDA tarafından hiçbir ajan onaylanmadığından karaciğer hasarını önlemek için sınırlı doz kullanma eğilimi vardır¹⁷⁹. Doksorubisin kaynaklı hücrel toksisite, oksidatif hasar artışının bir sonucu olarak ortaya çıkan hücrel disfonksiyon, mitokondriyal değişimler, apoptoz ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Risk faktörlerini tanımlamak, daha az toksik türevler geliştirmek ve toksisiteyi daha erken tespit etmek için çalışmalar yapılmış olsa da antrasiklin kaynaklı sitotoksisiteyi önlemek için en iyi yaklaşım konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Oksidatif stres artışı, antioksidan enzimlerde azalma, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonunda artış ve ROS artışına bağlı olarak apoptoz sürecinin tetiklenmesi Doksorubisinin neden olduğu hepatotoksitenin ana nedenleridir^{180,181}. Doksorubisin iç mitokondriyal membranda eksprese edilen bir fosfolipid olan kardiyolipine yüksek affinitesinden dolayı, mitokondriyonlarda birikme eğilimindedir. Doksorubisinin Kardiyolipin ile oluşturduğu kompleks onu elektron taşıma zincirinin yakınına yerleştirir ve redox döngüsü ve NADH Dehidrogenaz ile etkileşimine aracılık eder. Redoks aktivite ve NADH'ı oksitleyerek süperoksit radikalleri oluşturur. Süper oksit radikalleri, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi serbest radikal oluşumu hücrelerde lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasarı indükler. Hepatik hücre membran lipidleri bu oksijen radikal hasarına çok hassastır. Bu durum karaciğer dokusunda yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. Lipid peroksidasyonunu bir göstergesi olarak MDA seviyesi artar. Ayrıca

oksidatif stres DNA sentezi, DNA'ya bağımlı RNA sentezi ve protein sentezinde bozulmalara, hepatositlerde apoptoz ve nekroz gelişimine ve başta ALT ile AST olmak üzere kanda hepatik enzimlerin artışına yol açar^{182,183,184}. Doksorubisin sahip olduğu kinon ve hidrokinon kısımları sayesinde elektron yakalama özelliğindedir. Ancak sitokrom p 450 aracılığıyla elektron kaybederek semikinon forma dönüşür. Oluşan semikinon radikali kısa ömrü olmasına rağmen moleküler oksijen ile etkileşime girdiğinde ROS üreten bir reaksiyon başlar¹⁸⁵. Ayrıca Doksorubisin özellikle serbest radikal üretebilmek için Oksijen ve H₂O₂ ile reaksiyona giren demir ile kompleks oluşturabilir. Bu da ROS oluşumunu sağlar. Aşırı ROS üretimi IKB Kinaz aktivasyonuna neden olur. Bu durum NF-KB' yi aktif hale getirmek için fosforile eder. NF-KB daha sonra apoptoz oluşturmak için proinflamatuvar sitokinleri aktive eder. Doksorubisin aracılı toksisitenin meydana getirdiği ana etkilerden biri de inorganik fosfat, ADP ve ATP düzeylerinin ve hepatositlerde patolojik koşullara neden olan AMP düzeyinin azaltılmasından sorumlu olmasıdır¹⁸⁶. Artmış seramid üretimi de apoptozu indükleyen nedenlerden biridir. Böylece artmış serbest radikal üretimi mitokondriyal işlevi büyük ölçüde azaltabilen ve hücre ölümüne neden olabilecek olaylara yol açabilir¹⁸⁷.

Hücre iskeleti ve hücre dışı matriksin bozulması da Doksorubisin ile indüklenen doku hasarında öngörülen mekanizmalardan biridir¹⁸⁸.

Doksorubisin'in Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon (GSH) gibi antioksidan enzimleri de azaltarak toksisiteye neden olduğu görülmüştür. Sonuç olarak oksidan üretimi ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki ince denge bozulur. Aşırı ROS organellere ve hücre zarlarına sıkıca bağlanıp oksidatif organ hasarına yol açar. Sonuçta sitokrom c salınımı ve kaspaz 3 aktivasyonu ile apoptozis oluşur^{189,190}.

Artan ROS oranları ve antioksidanların endojen tükenmesi ile büyük bir immün reaksiyon tetiklenir. Birçok rapor enflamatuvar mediatörlerin artmış olduğunu gösterir ve mononükleer hücre infiltrasyonu Doksorubisin'in neden olduğu organ hasarında inflamasyonun rolünü düşündürür. Doksorubisin tarafından aktive edilen proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerden TNF-alfa, IL-6 ve Cox2 önemli faktörlerdir. Özellikle Cox2 fizyolojik koşullarda dokularda az miktarda bulunurken inflamatuvar reaksiyonlarda daha fazla rol oynar¹⁹¹.

Mikrovasküler endotelial hücreler sadece madde alışverişi, enerji, metabolizma ve hücreler ile kan arasındaki toksik maddelerin uzaklaştırılmasında yer almakla kalmayıp aynı zamanda onarımda da rol oynarlar. Doksorubisin'in kardiyak endotelial hücrelerin endotel fonksiyonunu tahrip edebildiğini ve angiogenezi baskılayarak sıçanlarda kardiyomyopatiye yol açabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte Doksorubisin'in hepatik mikrovasküler endotelial hücreler üzerinde herhangi bir etkileşimi olup olmadığı açık değildir¹⁹². Hepatotoksisiteye neden olan moleküler mekanizmaların esas olarak, karaciğerde ilacın metabolizması sırasında oluşan, artmış ROS ile oksidatif stres, azalmış antioksidan enzim seviyeleri, apoptozis ve mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkili olduğu bildirilmektedir^{193,194}. Sonuç olarak yapılan çalışmalarda, Doksorubisin'in hücre canlılığını ve hücre solunumunu belirgin şekilde inhibe ettiği, hücrenin morfolojik değişimini indüklediğini ve ROS seviyesini artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca Doksorubisinin farelerde ALT, AST ve MDA düzeylerini artırdığı, ve SOD düzeyini düşürerek patolojik hasara neden olduğu bildirilmektedir^{195,196}.

Doksorubisinin terapötik dozları (1mg/kg) sıçanlarda hepatik kordonların çözülmesi, fokal inflamasyon ve nekrotik dokuların görülmesi ile karakterize hepatotoksisiteye neden olmaktadır. Daha düşük dozlarda (0,2 mg/kg) ise periportal alanda fibrozis, hepatik kordonlarda dejenerasyon ve artan apoptoz şeklinde değişikliklere sebep olmaktadır. Ayrıca hepatositlerde mitokondriyal vakuolizasyonda artış, seyrek piknotik çekirdekler ve hücrelerarası boşluğun genişlemesi ile karakterize ultrastrüktürel değişikliklere neden olmaktadır. Daha yüksek Doksorubisin dozlarının ise (20mg/kg) sıçanlarda hepatosit dejenerasyonu, fokal nekroz ve kanama dahil olmak üzere yaygın doku hasarına neden olmaktadır. Ayrıca merkezi damarlarda belirgin tıkanıklık ve genişleme bildirilmiştir. Sonuç olarak Doksorubisin ile ilişkili hepatotoksisitede, nekroz, steatoz, fibroz, kolestaz ve vasküler hasarlanmalar görülür¹⁹⁷.

2.5. Kurkumin

Kurkumin; Zencefilgiller (Zingibaraceae) familyasındandır. Parlak turuncu-sarı renkli, kristal yapıda olup, renklendirici, gıda katkı maddesi, kozmetik ve tekstil alanlarında yaygın olarak kullanılır^{198,199}. Geleneksel tıpta da solunum problemleri, karaciğer ve dermatolojik problemler için sıklıkla kullanılmaktadır. Kurkumin,

Demetoksikuekumin ve Bisdemetoksikurkumin zerdeçalda tanımlanan biyoaktif polifenolik bileşiklerdir ve bunlara kurkuminoid ismi verilmiştir. Kurkumin FDA tarafından güvenli olarak kabul edilmiş ve klinik çalışmalarda 12 g/güne kadar kurkuminoid dozunun çok iyi tolere edildiği bildirilmiştir²⁰⁰. Kurkuminin antimikrobiyal, antienflamatuar²⁰¹, antioksidan, immünomodülatör, renoprotektif, hepatoprotektif, antikanser, gastroprotektif, antimalaryal, antidiyabetik, antialerjik, antidermatofit, nöroprotektif ve antimutajenik etkileri olduğu ileri sürülmektedir. Aynı zamanda kronik üveit, diyabetik retinopati, glokom, yaşa bağlı maküla dejenerasyonu ve kuru göz sendromu gibi durumlarda faydalı etkilerinin de olduğu görülmüştür. Kolay ulaşılabilmesi, düşük maliyet ve düşük toksisitesi olan kurkumin, organları kanser ve kemoterapiye bağlı toksisiteden korumayı hedefleyen pek çok çalışmada kullanılmıştır. Bağırsakta düşük emilimi ve karaciğerde Faz 1 ve Faz 2 biyotransformasyona uğraması nedeni ile oral biyoyararlanımı önemli ölçüde zayıftır^{223,203,204,205}. Oksidatif stres karaciğer hasarına neden olan önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Alkol, kullanılan ilaçlar, çevresel faktörler ve diyet oksidatif strese yol açabilir. Yapılan çalışmalar kurkuminin beyin, karaciğer ve böbreklerin kronik stres kaynaklı oksidatif hasarını engelleyebileceğini, koruyucu ve terapötik etkilerinin olduğunu göstermektedir²⁰⁶.

Kurkumin, hücrel ve moleküler mekanizmalar yolu ile oksidatif stres ile ilişkili karaciğer hasarında koruyucu etki göstermektedir. Hücre siklusu (Cyclin D ve Cyclin E), apoptoz (Kaspaz 3,6,9), çoğalma (HER-2, EGFR, AP-1), hayatta kalma (P13K/AKT yolağı), yayılma (MMP-9, Adezyon molekülü), yeni kan damarları ağı oluşumu (VEGF), metastaz (CXCR-4), inflamasyon (NF-KB, TNF, IL-6, IL-1, COX-2) ve bunların çoklu hücre sinyali yolağı üzerine müdahale ederek etki gösterdiği düşünülmektedir²⁰⁷. Deneysel kanıtlar, kurkuminin çeşitli hücrel sinyaller yoluyla oksidatif ilişkili karaciğer hastalıklarında iyileştirici olduğunu göstermiştir. Bu yollar ERK/P38/MAPK yolu hepatik Nrf2/ARE/Keap1 sinyalini içerir. Kurkumin çeşitli hücre tiplerinde ortak transkripsiyon faktörü Nükleer faktör kappa B'nin güçlü bir inhibitörüdür. Karaciğer hastalıklarını koruyup tedavi edebilir ve farklı hücrel yolları değiştirebilir. Örneğin: Hem Oksijenaz 1 ekspresyonunu indükler ve bu da CO, biliverdin, bilirubin ve antioksidan moleküller üretir^{202,208,209}. Kurkumin hem reaktif ürünlerle doğrudan reaksiyona girmesi hem de çeşitli sitoprotektif ve antioksidan

proteinleri arttırma kapasitesine sahip olması nedeniyle iki işlevli bir antioksidan olduğu bildirilmiştir. Süperoksit anyonunu, hidroksil radikallerini, nitrik oksiti, peroksinitrit ve peroksil radikallerini ortadan kaldırabilir²¹⁰. İnsanda kullanımı ilk kez 1937’de yayımlanmıştır. Kurkumin tüketimi karaciğerde AST, ALT, ALP, LDH, GGT aktivitelerinde ve total billurubinde azalma ayrıca serum proteinlerinde artışa neden olur²¹¹. Kurkuminin invivo ve invitro çalışmalarda Leptin sinyalini bloke etme, hücre içi glikoz ve lipit metabolizmasını düzenleme gibi etkileri vardır²¹². Kurkuminin çeşitli hücrelere de etkisi vardır. Kurkuminin enflamatuar tepkilerin düzenlenmesinde önemli rol oynayan monosit ve makrofajlardan salınan iki ana sitokin olan TNF alfa ve IL-1 üretimini engellediği gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz enzim aktivitesini de azaltır²¹³. Ayrıca makrofajların enflamatuar tepkilerini bastırdığı da gösterilmiştir. Kurkumin ile muamele edilmiş makrofajların mannoz reseptörü aracılığıyla antijen yakalama ve endositozda oldukça etkili olduğu gösterilmiştir. Kurkuminin antiinflamatuar özellikler IKBa geninin ifadesini azaltma kabiliyeti ile bağlantılıdır. Böylece Cox-2, PgE2, IL-1-6-8 ve TNF-alfa oluşumu, ek olarak serbest radikal üretimi etkilenir^{206,214,215}. Ayrıca Kurkumin PPAR-gama , NF-KB ve TGF-B sinyal yollarını düzenler, NF-KB’ye bağlı inflammatuar kemokin ve sitokilerin ekspresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Hepatik stellat hücrelerin aktivasyon ve proliferasyonunu inhibe ederek ekstrasellüler matriks kollojen oluşumunu azaltır ve karaciğeri fibrojenizden korur^{209,216}. Demir bağlama yeteneği sayesinde antioksidan rol oynayabilir²¹⁷. Kurkumin, transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, sitokin sinyal reseptörleri, büyüme faktörleri,yapışma molekülleri gibi proteinler ve ayrıca anti-apoptotik proteinlerle çoklu hücre sinyalizasyonu ile etkileşime girer. Deneysel sistemlerde serbest radikal aracılı lipit peroksidasyonunu zayıflattığı gösterilmiştir²¹⁸. Bir hücrede reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi oksidatif strese neden olur ve temel biyomoleküllere zarar verir. Çalışmalar Kurkuminin aşırı serbest radikalleri doğrudan uzaklaştırıp ROS üretimini önlediğini göstermiştir. Antioksidan enzim ve önemli ölçüde Paraoksanaz 1 arilesteraz(PON 1) aktivitesini arttırır. Curcuminin hepatoprotektif mekanizması da Nrf2 sinyal yolunu etkilemesi ve oksidatif stresi azaltmasıyla ilgili olabilir^{219,220,221,222}.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi ve Gruplara Ayrılması

Çalışmamızda, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 28 adet, 200-250 gram ağırlığa sahip dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Deney sürecindeki tüm işlemler ile doku örneklerinin alınışı etik kurul onayı ile veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi. Sıçanlar çalışma boyunca ortalama 22 °C sıcaklıkta, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık olacak şekilde paslanmaz tel kapaklı kafeslerde tutuldu. Sıçanların her grubu ayrı kafeslere konularak, içme suyu ve standart pellet yem serbest olarak verildi. Kafeslerin içerisine altlık olarak talaş serildi ve her gün talaşları değiştirildi. Havalandırma pencere tipi aspiratör ile sağlandı. Çalışmamızda sıçanlar rastgele dağıtılarak 4 gruba ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu (n=7); 6 hafta boyunca 0,2 ml zeytinyağı gavaj yoluyla uygulandı.

Grup 2: Kurkumin grubu (n=7); 6 hafta boyunca 0,2 ml zeytinyağında çözölen 200mg/kg/gün dozdaki Kurkumin (C1386, Sigma-Aldrich) gavaj yolu ile uygulandı²²¹.

Grup 3: Doksorubisin grubu (n=7); Haftada 2mg/kg doz Doksorubisin (Adrimisin 10 mg, Saba İlaç) 6 hafta boyunca intraperitoneal olarak uygulandı²²².

Grup 4: Kurkumin+ Doksorubisin grubu (n=7); 6 hafta boyunca 0,2 ml zeytinyağında çözölen 200 mg/kg/gün dozda Kurkumin (C1386, Sigma-Aldrich) gavaj yolu ile uygulanırken, 6 hafta boyunca haftada 2mg/kg doz Doksorubisin (Adrimisin 10mg, Saba İlaç) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Gavajdan yaklaşık 1 saat sonra enjeksiyon işlemi yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deneyin Yapılışı

Deneklerden kontrol grubuna 6 hafta boyunca gavaj yolu ile 0,2 ml zeytinyağı verildi. Kurkumin grubundaki hayvanlara da 0,2 ml zeytinyağında çözölmüş 200 mg/kg dozda Kurkumin (Sigma-Aldrich, C1386) gavaj yardımı ile 6 hafta boyunca verildi. Doksorubisin grubuna, Doksorubisin hidroklorür flakon (Adrimisin 10 mg. Saba İlaç) intraperitoneal (i.p.) olarak 2 mg/kg/hafta olacak şekilde 6 hafta boyunca doz 2'ye bölünerek uygulandı. Tedavi grubuna Kurkumin (Sigma-Aldrich, C1386) zeytinyağı

içinde çözülerek 6 hafta boyunca 200 mg/kg/gün dozunda oral olarak gavaj yoluyla verilirken Doksorubisin hidroklorür flakon (Adrimisin 10 mg. Saba İlaç) intraperitoneal (i.p.) olarak 2 mg/kg/hafta olacak şekilde 6 hafta boyunca doz 2'ye bölünerek uygulandı.

3.3. Işık Mikroskopi Yöntemi

Işık mikroskopik inceleme için alınan karaciğer örnekleri nötral formalin içerisine konulup 72 saat bekletilerek tespit olmaları sağlandı. Daha sonra formalinin uzaklaştırılması için dokular su ile yıkandı ve Leica TP 1020 Ototeknikon Cihazı ile tabloda belirtilen doku takip yöntemi uygulandı.

Tablo 1. Işık mikroskopik doku takip işlemi

Oda sıcaklığında	Formalin	30 dakika
Oda sıcaklığında	% 70'lik etil alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	% 80'lik etil alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	%90'lık etil alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol+ Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat 30 dakika
60 °C	Parafin	1 saat
60 °C	Parafin	1 saat 30 dakika

Doku takibinden sonra karaciğer örnekleri parafin bloklar haline getirildi ve 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen –Eozin (HE) ve Masson Trikrom ile boyandıktan sonra Olympus BX53(Tokyo, Japonya) ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.4. İmmünohistokimya Yöntemler²²³

TNF- α ve kaspaz 3 immünreaktivite incelemeleri için karaciğer doku örnekleri nötral formalinde tespit edildi. Leica TP 1020 Ototeknikon cihazı ile rutin doku takipleri yapıldıktan sonra parafine gömülen doku örneklerinden polilizin kaplı lamlara 4 μ m kalınlığında parafin kesitler alındı. Kesitler önce fön makinesi ile kurutulup sonrasında 15 dakika buzdolabında bekletildi. Buzdolabından çıkarıldıktan sonra kurutulmuş kesitler, 60° etüvde ksilol içinde bekletilerek deparafinize edildi. Doku kesitleri daha sonra, oda ısısında ksilol serileri ve ardından derecesi azalan alkol serileri içinde hidrate edilerek distile su içine alındı. Sonrasında kesitler, sitrat solüsyonu (PH:6) içerisine alınıp 95°C'lik su banyosunda 30 dakika bekletilerek antijenlerin açığa çıkması sağlandı. Oda sıcaklığında 45 dk bekletilerek soğuması sağlanan kesitler, distile suyla yıkanarak endojen peroksitleri engellemek amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (HO) içerisine alınıp 10 dakika kadar bekletildi. Kesitler, saf su ve fosfat tamponundan (PBS, PH: 7,2-7,4) geçirildi. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silinip, kurulandıktan sonra üzerine nonspesifik bağlanmayı engellemek amacıyla blocking solüsyonu (ab93705, Abcam, USA.) damlatıldı ve 15 dakika oda ısısında bekletilen kesitler distile su ile fosfat tamponundan geçirilip dokuların etrafı dikkatlice kurulandı. Sonrasında 1/250 oranında dilüe edilen Anti-TNF alpha antibody (TNFA/1172) Mouse Monoclonal IgM IHC-P (ABCAM ab220210) ve 1/500 oranında dilüe edilen Anti-Caspase-3 antibody Rabbit Polyclonal IgG IHC-P (ABCAM ab4051) primer antikorları damlatıldı. Primer antikor damlatılan tüm kesitler +4°C'de bekletilen kesitler , daha sonra distile su ve PBS'den geçirilip üzerlerine Biotin (ab93705, Abcam, USA.) damlatılarak 15 dakika boyunca oda ısısında tutuldu. 15 dakika sonra distile su ve PBS'den yıkanan kesitlerin etrafı kurulanıp Avidin (ab93705, Abcam, USA.) damlatıldı ve 20 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, aminoetilkarbozol (AEC, ab93705, Abcam, USA) solüsyonu damlatılarak 10 dakika bekletildi, çeşme suyunda yıkanan kesitler zıt boyama için hematoksilinle boyandı. Boyama işlemi bitince, çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular kapatıldı. Olympus BX53 ışık mikroskobu (Japan) ile incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.4.1. İmmünohistokimyasal Skorlama Yöntemi²²³

TNF- α ve kaspaz 3 ekspresyonlarını araştırmak amacıyla immünohistokimyasal skorlama yöntemi uygulandı. İmmünohistokimyasal skorlama için 40'lık objektifte rastgele seçilen 15 alanda H skorlama sistemi kullanıldı. H skoru, pozitif hücre yüzdesiyle birlikte dört farklı boyanma yoğunluğunun çarpımı toplanarak hesaplandı. Bu sisteme göre;

Boyanma derecesi = 0 (Hiç boyanma yok)

= 1 (Zayıf derecede boyanma)

= 2 (Orta derecede boyanma)

= 3 (Güçlü derecede boyanma) şeklinde değerlendirildi.

H skor değerini hesaplamak için 'I x PC' formülü kullanıldı.

I: Intensity (Yoğunluk)

PC: Percentage of positive cells (Her derecede boyanan hücre yüzdesi)

Gruplar arasındaki ekspresyon farklılıkları 'Mann Whitney U' testi kullanılarak değerlendirildi. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

3.5. Elektron Mikroskopi Yöntemi²²⁴

Karaciğer doku örnekleri, elektron mikroskopik doku analizi için Millonig fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanmış %5'lik gluteraldehit solüsyonuna konuldu. Karaciğer doku parçası 1 saatin sonunda dişçi mumu ile kaplı petri kabına alınıp üzerine birkaç damla gluteraldehit konulduktan sonra jilet ile 1 mm³'lük parçalara ayrıldı ve tekrar %5'lik gluteraldehit solüsyonuna alınıp 3 saat süre ile tespit edildi. Böylelikle dokuların toplam 4 saat süre tespiti sağlandı. Gluteraldehit ile yapılan birinci tespit işleminden sonra buffer solüsyonu olan Millonig fosfat tamponunda 2 kez 10'ar dakika yıkandı. Sonrasında Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1'lik osmium tetraoksit ile ikincil tespiti alındı. İkinci tespit solüsyonu olan %1'lik osmium tetraoksitte 2 saat bekletildi. Ardından yine fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dakika yıkandı. Daha sonra Tablo 2-3 'de belirtilen sıraya göre dehidratasyon, şeffaflandırma ve immersiyon işlemleri yapıldı.

Tablo 2. Elektron mikroskopik doku takibinde dehidratasyon işlemi

% 50’lik etil alkol	+4 °C	15 dakika
%70’lik etil alkol	+4 °C	15 dakika
%86’lık etil alkol	+4 °C	15 dakika
%96’lık etil alkol	+4 °C	15 dakika
%100’lük etil alkol	+4 °C	15 dakika
%100’lük etil alkol	+4 °C	15 dakika

Tablo 3. Elektron mikroskopik doku takibinde şeffaflandırma işlemi

%100 Etil alkol	Oda sıcaklığı	15 dakika
Propilen oksit	Oda sıcaklığı	15 dakika
Propilen oksit	Oda sıcaklığı	15 dakika

Dehidratasyon ve şeffaflandırma işlemlerinden sonra, doku parçaları 1 hacim propilen oksit ve 1 hacim rezinden (gömme materyali) oluşturulan karışım içerisinde 2’şer defa 30’ar dakika süreyle bekletildi ve immerse edildi. Bu işlemlerden sonra doku parçaları taze hazırlanmış rezin içerisine alınarak 1 gece boyunca rotatorda döndürülerek karıştırıldı ve rezinin doku parçaları içerisine daha iyi nüfuz etmesi sağlandı. Taze rezinin hazırlanışı Tablo 4’te belirtildiği gibidir.

Tablo 4. Gömme materyalinin hazırlanışı

Araldit (CY 212)	20 ml
Sertleştirici (HY 964)	20 ml
Hızlandırıcı (DY 064)	0,6 ml
Plastikleştirici- Dibütil Fitalat	1 ml

Ertesi gün rotatordan alınan doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak Beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan ultramikrotom (Zeiss Ultracut S) ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak %70’lik etil alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds’un kurşun

sitrat solüsyonları ile muamele edildi. Boyanan kesitler JEOL-JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japonya) ile incelendi.

3.6. Biyokimyasal Analiz

Tüm deney gruplarından alınan intrakardiyak kan örnekleri 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazma kısmı ayrıldı. Plazma kısmı eppendorf tüplerde işleme kadar -80 °C 'de bekletildi. AST ölçümü için sıçan plazması kullanılarak 'Elabscience' AST ölçüm kiti Reitman/Frankel metoduyla AST aktivitesi değerlendirildi , ALT ölçümü için sıçan plazması kullanılarak 'Elabscience' ölçüm kiti ile ALT ölçümü Reitman/Frankel metodu temel alınacak şekilde çalışıldı, ELİZA reader ile okunarak oluşturulan eğri yardımıyla AST ve ALT aktivitesi hesaplandı.

Plazma Cu-Zn SOD ölçümü için 'Elabscience' CuZn/Mn SOD ölçüm kiti kullanıldı. Malondialdehit(MDA),aerobik şartlarda, Ph 3,4 te MDA tiyobarbütirik asit ile 95°C'de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturur. Oluşan bu kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi ile örnek içeriğindeki MDA miktarı hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. İki den fazla grubun (kontrol, kurkumin, Doksorubisin ve Doksorubisin+ kurkumin)sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Grup içi varyansların homojen olduğu saptandı ve grupların ikili karşılaştırılmalarında Tukey testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Ağırlıklar ve Biyokimyasal Bulgular

Tüm gruplardaki sıçanların deneyin başında ve sonunda ölçülen vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde doksorubisin uygulanan gruptaki sıçanların vücut ağırlıklarının diğer gruplardakine göre azaldığı görüldü (Tablo 5).

Tablo 5. Deneyin başlangıcında ve sonunda sıçanların vücut ağırlık ortalamaları ve standart Sapmaları.

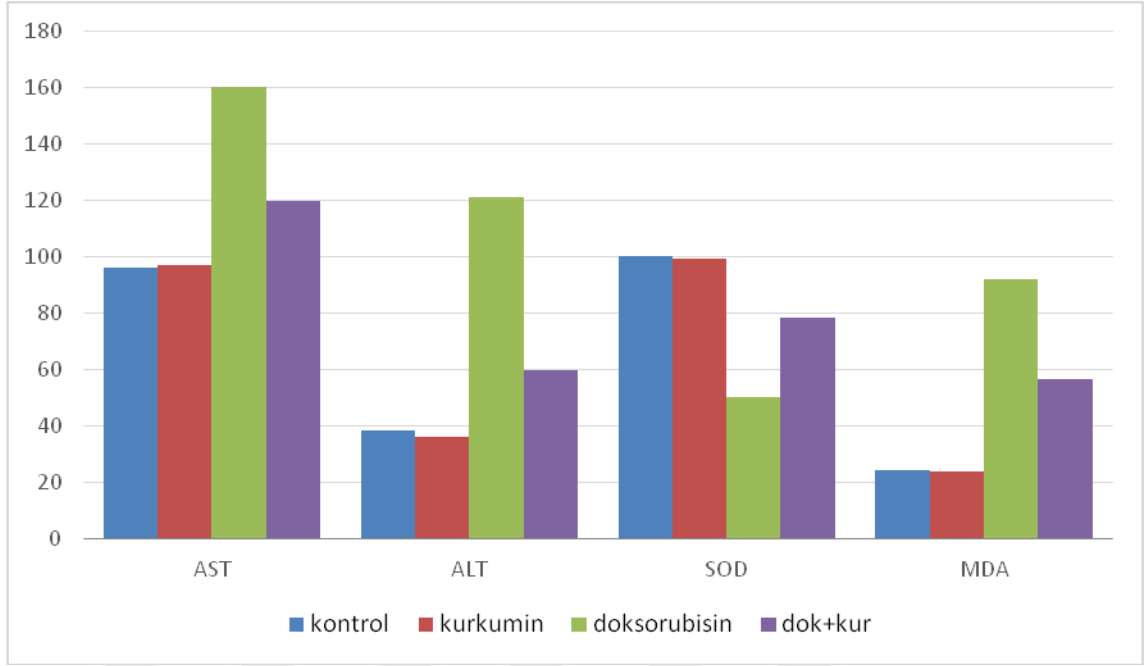
*= $p < 0,01$

	Deneyin başlangıcında vücut ağırlıkları (Gr) ORT $\pm$ SS	Deneyin sonunda vücut ağırlıkları (Gr) ORT $\pm$ SS
Kontrol Grubu (n=7)	233,6 $\pm$ 2,689	233,7 $\pm$ 3,227 ^{ns}
Kurkumin grubu (n=7)	232,1 $\pm$ 2,703	238,1 $\pm$ 2,595 ^{ns}
Doksorubisin grubu (n=7)	233,0 $\pm$ 2,237	220,0 $\pm$ 2,259 [*]
Doksorubisin+kurkumin grubu (n=7)	230,4 $\pm$ 2,136	232,3 $\pm$ 2,201 ^{ns}

Tablo 6. Deney gruplarından alınan kan örneklerinde biyokimyasal sonuçlarda ^a Doksorubisin ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$, ^b Doksorubisin+kurkumin grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

	Kontrol grubu	Kurkumin grubu	Doksorubisin grubu	Doksorubisin+kurkumin grubu	p
AST	96.1 $\pm$ 1.3 ^{ab}	97.2 $\pm$ 2.1 ^{ab}	160.6 $\pm$ 2.9 ^b	120.0 $\pm$ 1.7	<0.001
ALT	38.5 $\pm$ 1.9 ^{ab}	36.2 $\pm$ 2.7 ^{ab}	121.2 $\pm$ 1.8 ^b	59.6 $\pm$ 1.6	<0.001
Cu-Zn SOD	100.5 $\pm$ 1.5 ^{ab}	99.5 $\pm$ 1.3 ^{ab}	50.1 $\pm$ 1.1 ^b	78.3 $\pm$ 1.6	<0.001
MDA	24.3 $\pm$ 2.4 ^{ab}	23.7 $\pm$ 1.7 ^{ab}	92.1 $\pm$ 3.2 ^b	56.6 $\pm$ 1.7	<0.001

Sıçanlardan alınan kan örneklerinde serum ALT, AST, SOD ve MDA düzeyleri ölçüldü. Serum AST ve ALT değerleri kontrol ve kurkumin grubunda benzer seviyelerde bulunurken, doksorubisin grubunda yükseldiği, doksorubisin+kurkumin grubunda ise doksorubisin grubuna göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.



Şekil 5. Kontrol ve deney gruplarına ait AST, ALT SOD ve MDA değerleri

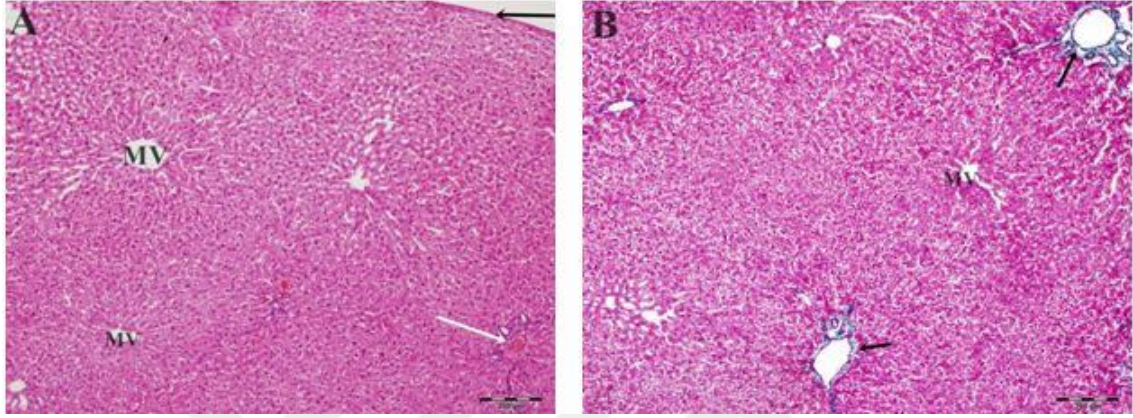
SOD değerlerinin Doksorubisin kullanılan grupta, kontrol ve kurkumin grubundakilere göre belirgin şekilde düştüğü, ancak Doksorubisin+kurkumin kullanılan grupta SOD değerlerinin kontrol grubundakilere yaklaştığı saptandı. MDA değerlerinin ise Doksorubisin grubunda oldukça yükseldiği, Doksorubisin ile kurkuminin birlikte kullanıldığı grupta ise doksorubisin grubuna göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Tablo 6, Şekil 5).

4.2. Işık Mikroskopik Bulgular

4.2.1. Kontrol grubu

Deney süresince gavaj yolu ile sadece zeytinyağı verilen bu grupta, karaciğeri dıştan saran ince, fibröz bağ dokusu yapısındaki Glisson kapsülü ve karaciğer parankiminin normal histolojik özelliklere sahip olduğu izlendi. Karaciğer parankiminde hegzagonal yapıdaki klasik karaciğer lobülleri ve bu lobüllerin merkezinde yer alan merkezi ven ile köşelerinde bulunan portal alanlar normal yapıda izlendi. Karaciğer lobülündeki hepatositlerin ışınal tarzda düzenlendiği, çekirdeklerinin sferikal şekilli olup, veziküler tipte olduğu gözlenmekteydi. Hepatosit plakalarının arasında, endotel ve Kupffer hücreleri ile döşeli sinüzoidal kapillerler normal yapıda

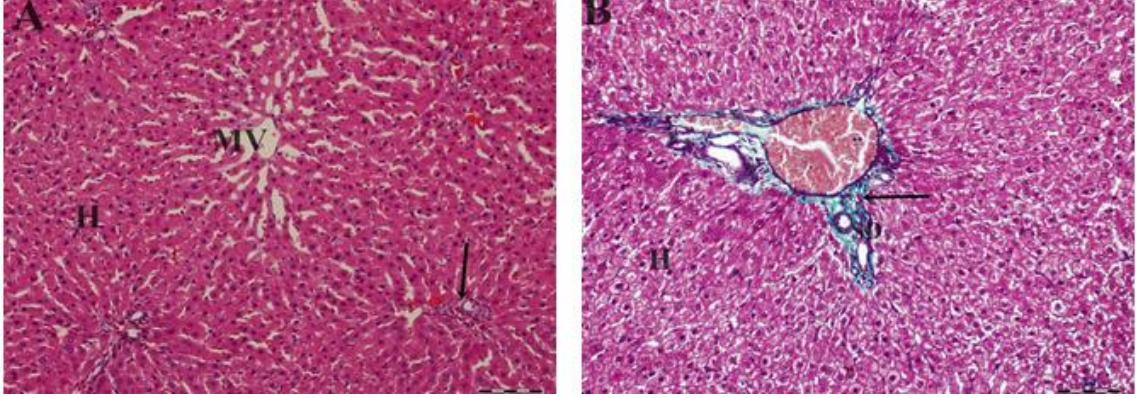
gözlenirken, portal alanlarda yerleşen hepatik arter, portal ven ve safra duktusları da normal olarak izlendi (Şekil 6A). Masson Trikrom boyası uygulanan örneklerde, hepatosit plakaları arasında ve merkezi ven duvarında yeşil renkte boyanmış kollajen lifler gözlenmezken, portal alanlarda damar ve safra duktusları etrafında kollajen liflerin varlığı normal olarak gözlemlendi (Şekil 6B).



Şekil 6. Kontrol grubu. (A) Karaciğeri dıştan saran Glisson kapsülü (siyah ok) ve parankimada klasik karaciğer lobülleri, merkezi ven (MV), portal alanlar (beyaz ok) normal yapıda izlenmekte. H&E. A Bar=200 µm. (B) Karaciğerde hepatosit plakaları, merkezi ven (MV), portal alanlarda kollajen lifler (siyah ok) normal olarak görülmekte. Masson Trikrom. Bar=200 µm.

4.2.2. Kurkumin Grubu

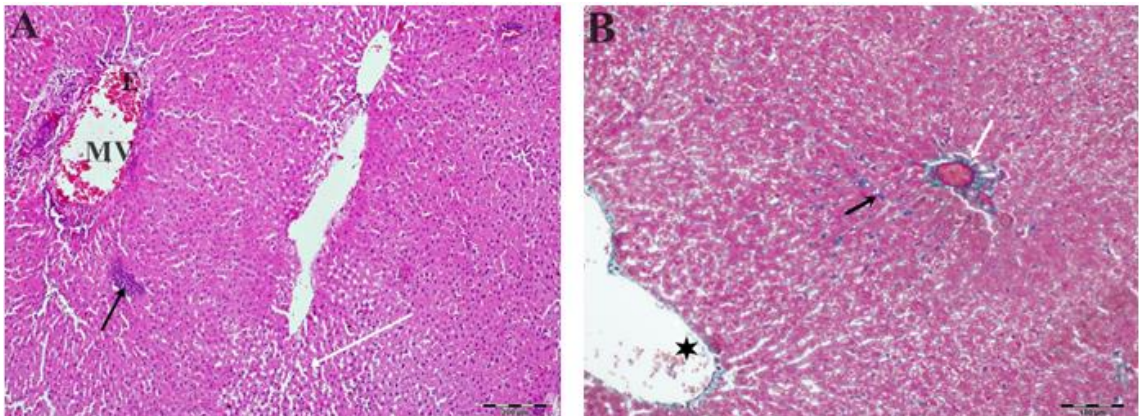
Kurkumin verilen gruptaki sıçanlardan alınan karaciğer dokularında hepatositler merkezi venin etrafında plakalar şeklinde düzenlenmiş olup, plakalar arasında bulunan sinüzoidler ve klasik karaciğer lobülünün köşelerinde bulunan portal alanlar normal histolojik özellikleri ile kontrol grubundakiler ile benzerlik göstermekteydi (Şekil 7A) Masson-Trikrom yöntemi ile boyanmış karaciğerlerde portal alanlarda bulunan kollajen lifler kontrol grubunda olduğu gibi yeşil renkte belirgin olarak görüldü(Şekil 7B).



Şekil 7. Kurkumin grubu. A- Hepatositler (H), merkezi ven (MV), portal alanlar (siyah ok) normal histolojik görünümde izlenmekte. H&E. Bar=100 µm. B- Karaciğer parankiminde hepatosit plakaları (H), portal alanlarda yeşil renkte kollajen lifler (siyah ok) normal olarak görülmekte. Masson Trikrom. Bar=100 µm.

4.2.3. Doksorubisin Grubu

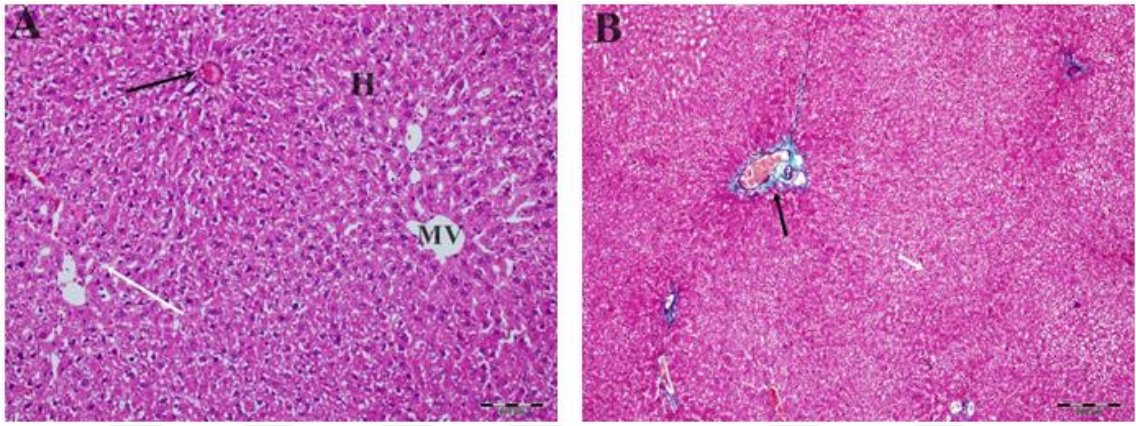
Doksorubisin uygulanan gruba ait karaciğerlerde hepatositler veziküler çekirdekleri ve geniş sitoplazmaları ile genellikle normal yapıda izlendi, ancak bazı alanlarda piknotik görünümlü çekirdek içeren hepatositlerin varlığı da görüldü. Bazı alanlarda ise hepatositler arasında ve portal kanallarda nötrofil, lenfosit, eozinofil ve plazma hücrelerinden oluşan enflamatuvar hücre infiltrasyon alanları izlenmekteydi. Sinüzoidal kapillerlerin nisbeten genişlediği görülürken, merkezi venlerin ise belirgin olarak genişlediği ve lümeninde yaygın kan hücrelerini içerdiği izlendi (Şekil 8A). Masson Trikrom boyama yöntemi uygulanan örnekler değerlendirildiğinde, portal alanların yanı sıra merkezi ven çevresi ve hepatosit plakaları arasında, perisinüzoidal alanda yeşil renkte boyanmış kollajen liflerin varlığı belirgin olarak izlendi (Şekil 8B).



Şekil 8. Doksorubisin grubu. A- Karaciğer parankimasında yer yer enflamatuvar hücre kümeleri (siyah ok), sinüzoidlerde (beyaz ok) ve merkezi vende (MV) genişleme ve bazı damarlarda konjesyon (E) izlenmekte. H&E. Bar=200 µm. B- Genişlemiş damarların (yıldız) etrafında, hepatosit plakaları arasında (siyah ok) ve portal alanda artmış kollajen lifler (beyaz ok) yeşil renkte görülmekte. Masson-Trikrom. Bar=100 µm.

4.2.4. Kurkumin+Doksorubisin Grubu

Kurkumin ve doksorubisin uygulanan gruba ait karaciğer dokuları incelendiğinde; karaciğer lobül yapısının iyi korunduğu, merkezi venin normal hacim ve yapıda olduğu, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığı ve sinüzoidlerin histolojik yapısının kontrol gruplarındakilere benzediği gözlemlendi (Şekil 9A). Ayrıca, portal alanlarda yeşil renkte boyanmış kollajen liflerin nisbeten azaldığı, hepatosit plakaları arasında ve merkezi ven etrafında ise yeşil rengin belirgin olmadığı ve kontrol gruplarındakiler ile benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 9B).

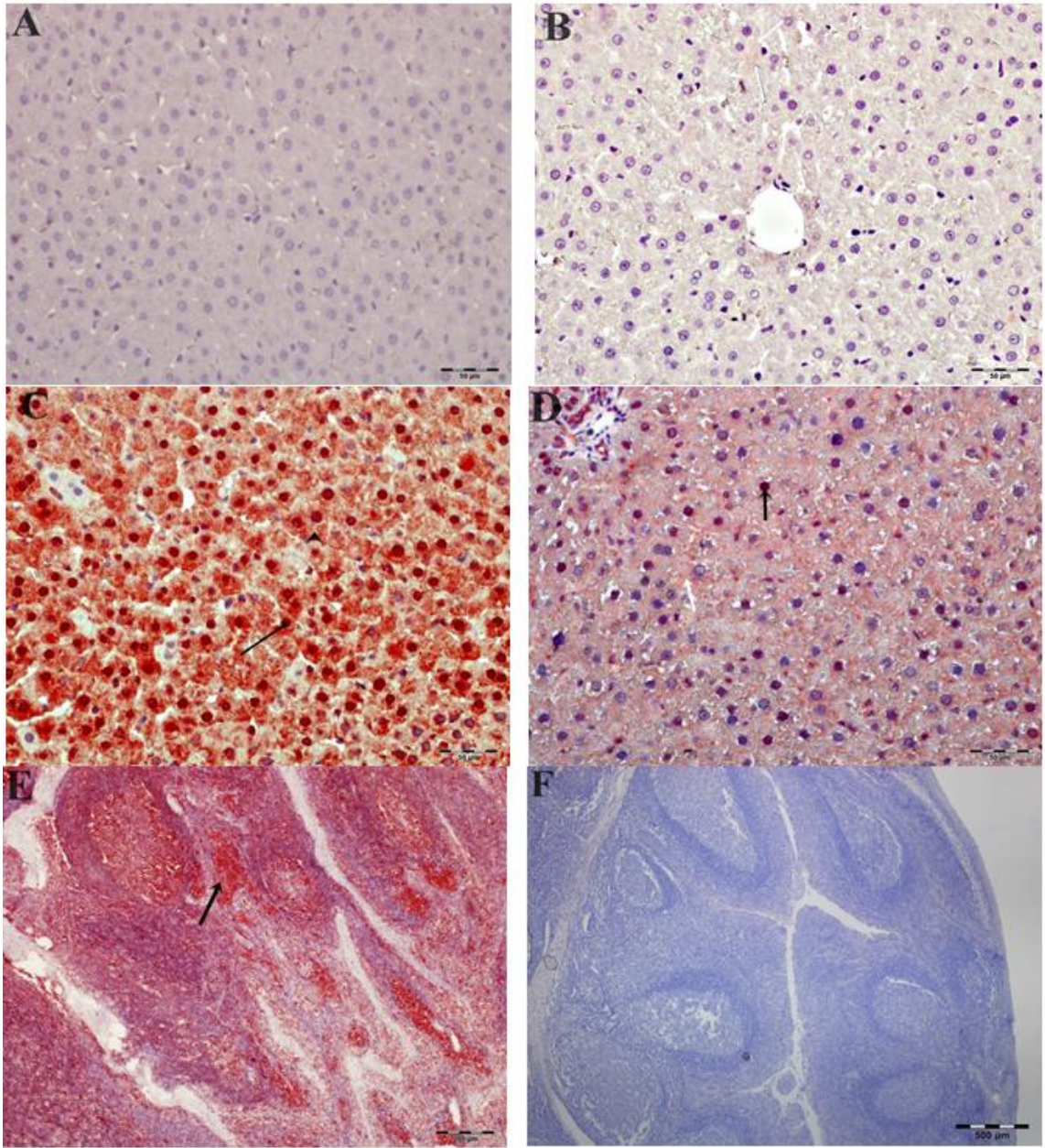


Şekil 9. Kurkumin+Doksorubisin grubu. A- Merkezi ven (MV), hepatositler (H), sinüzoidal kapillerler (beyaz ok) ve portal alanlar (siyah ok) normal olarak izlenmekte. H&E. Bar=100 µm. B- Portal alanlarda kollajen lifler (siyah ok), hepatositler arasında sinüzoidler (beyaz ok) kontrol gruplarındakiler ile benzer görünümde izlenmekte. Masson trikrom Bar=200µm.

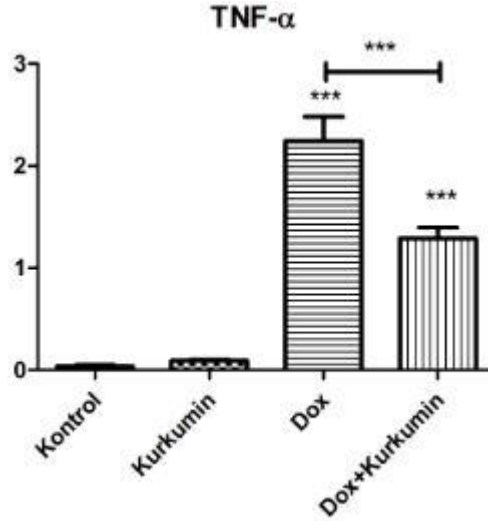
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tüm gruplarda kaspaz-3 ve TNF- α gen ifadeleri immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırıldı.

TNF- α 'nın kontrol ve kurkumin gruplarında hepatositlerin çekirdeğinde, sitoplazmasında ve kan damarları çevresinde çok ender eksprese olduğu görülürken, doksorubisin grubunda hepatositlerde yaygın bir şekilde ifade edildiği, doksorubisin ve kurkumin uygulandıktan sonra ise oldukça azaldığı saptandı (Şekil 10). TNF- α ifadesinin skorlaması sonucunda kontrol ve kurkumin gruplarında oranların benzer şekilde düşük olduğu, Doksorubisin grubunda; kontrol ve kurkumin gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu, Doksorubisin ve kurkuminin birlikte kullanıldığı grupta ise Doksorubisin grubuna oranla anlamlı derecede düşük olduğu, ancak kontrol gruplarına göre ise yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 11).

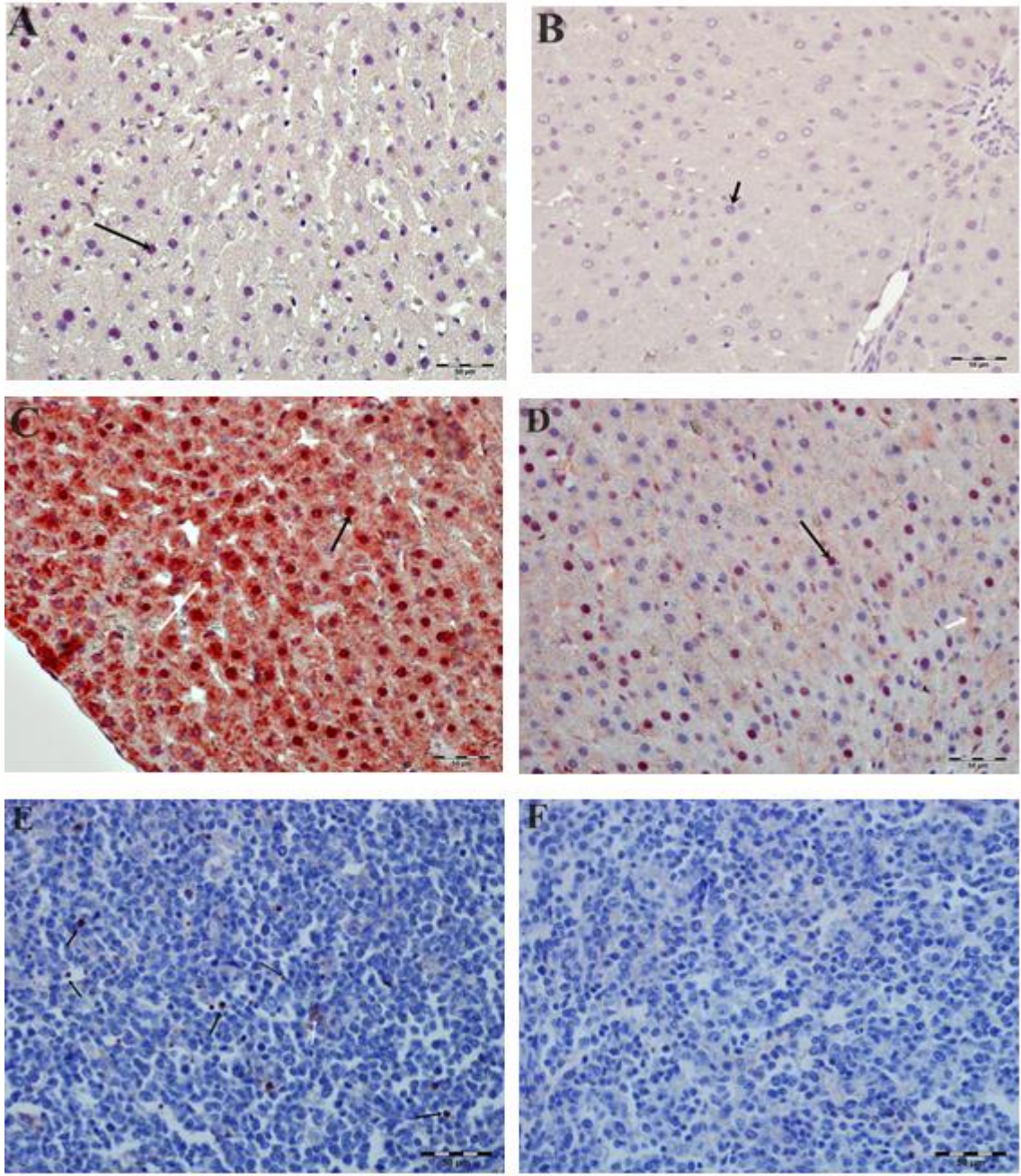


Şekil 10. Karaciğerde TNF- α immünoaktivitesi. A-Kontrol grubu Bar= 50 μ m, B-Kurkumin grubu Bar=50 μ m, C-Doksorubisin grubu Bar=50 μ m, D-Kurkumin+Doksorubisin grubu Bar=50 μ m. E-Pozitif kontrol. Tonsilla palatinada belirgin TNF- α immünoaktivitesi görülmekte (siyah ok) Bar=200 μ m. F-Negatif kontrol, Tonsilla palatina. Bar= 500 μ m.

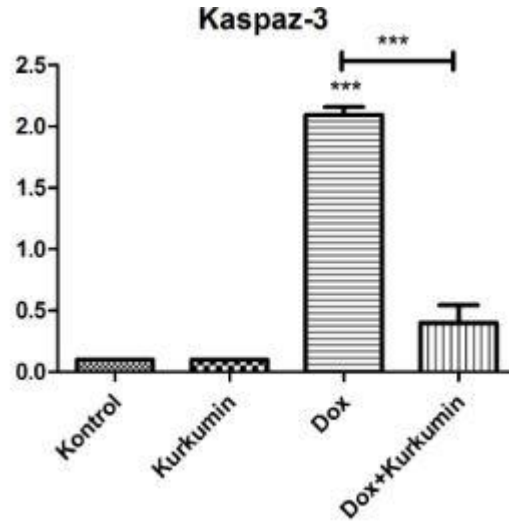


Şekil 11. TNF- α için immünohistokimyasal skorlama*** P < 0,0001, **P< 0, 001, *P < 0,01.

Kaspaz-3 kontrol ve kurkumin uygulanan gruplarda hepatosit çekirdeği, hepatosit sitoplazması ve kan damarları çevresinde zayıf bir tutulum gösterirken, doksorubisin uygulanan grupta oldukça kuvvetli ve yaygın ifade edildiği, doksorubisin ve kurkuminin birlikte uygulandığı grupta ise kaspaz-3 ifadesinin belirgin olarak azaldığı görüldü (Şekil 12). Kaspaz-3 ifadeleri skorlandığında kontrol ve kurkumin gruplarında ekspresyonun benzer şekilde düşük olduğu, Doksorubisin grubunda oldukça yüksek olduğu, Doksorubisin+kurkumin grubunda ise belirgin bir şekilde düştüğü gözlemlendi (Şekil 13).



Şekil 12. Karaciğerde Kaspaz-3 ekspresyonu. A-Kontrol grubu Bar = 50 µm. B-Kurkumin grubu Bar = 50 µm. C-Doksorubisin grubu Bar= 50 µm.D- Kurkumin+Doksorubisin grubu Bar=50 µm. E- Kaspaz-3 immünoaktivitesi için pozitif kontrol, Lenf düğümünde belirgin kaspaz-3 immünoaktivitesi (siyah oklar) Bar= 50µm. F-Negatif kontrol, lenf düğümü. Bar= 50µm.



Şekil 13. Kaspaz-3 için immünohistokimyasal skorum. *** P < 0,0001, ** P < 0,001, * P < 0,01.

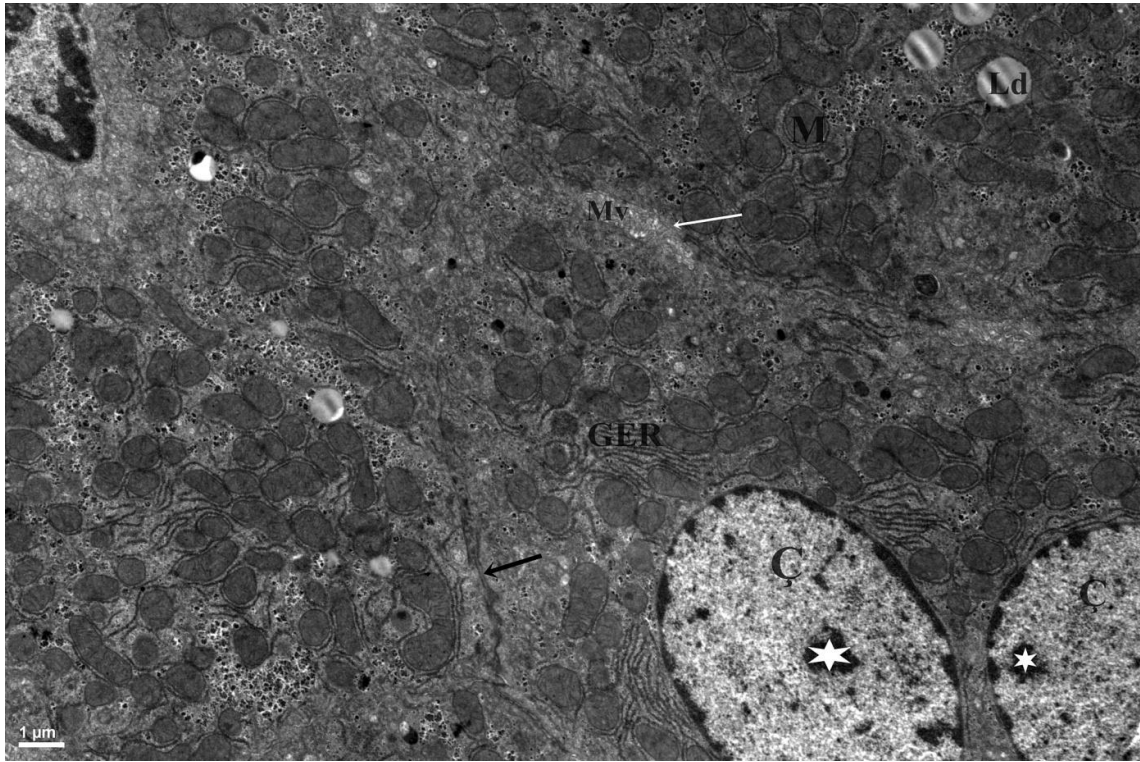
4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular

Tüm gruplara ait karaciğer doku örneklerinde hepatositler, portal alanlar, sinüzoidal kapillerler ve perisinüzoidal alanlar elektron mikroskop ile incelenerek değerlendirildi.

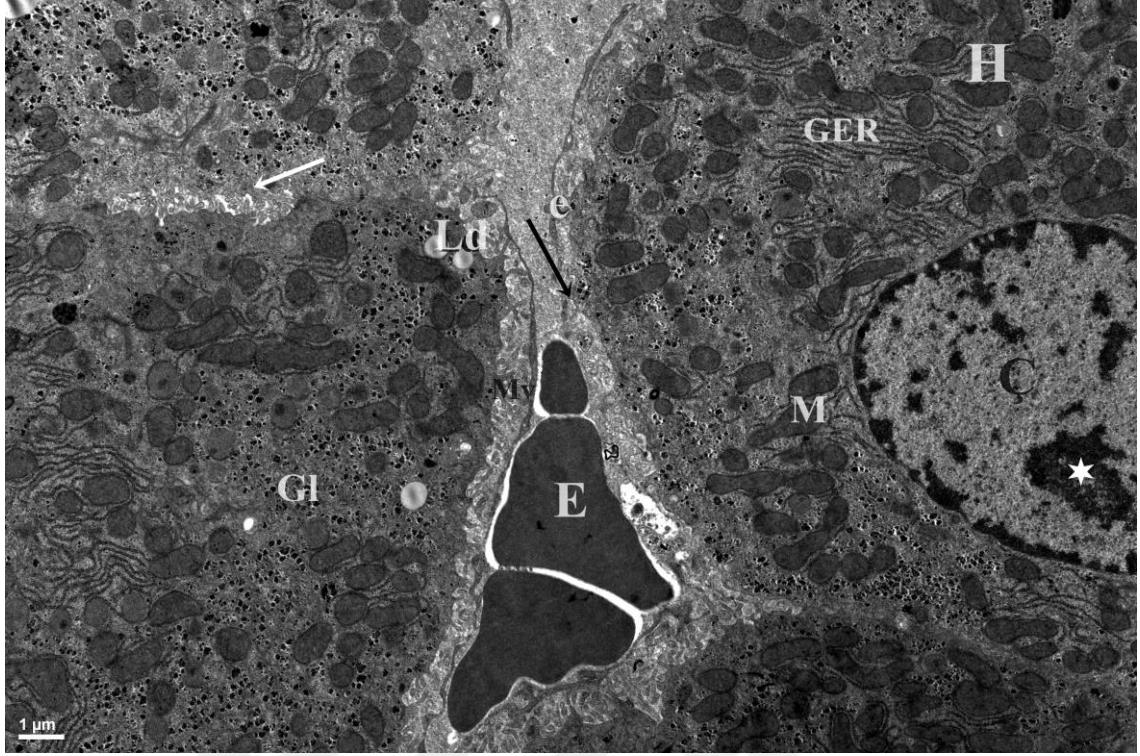
4.4.1.Kontrol Grubu

Bu gruba ait karaciğerlerde hepatositlerin sferikal şekilli, düzgün yüzeyli ve merkezi yerleşimli çekirdekleri ökromatik tipte olup, belirgin bir veya iki çekirdekçik içermektedir. Hepatositlerin bazıları ise çift çekirdek içermektedir. Hepatositlerin sitoplazmalarında serbest ribozomlar, elektron dens yapılar içeren yaygın lizozomlar ve sitoplazma boyunca dağılmış kümeler halinde, elektron dens görünümlü glikojen partikülleri ile ender elektron opak görünümlü, lipid damlacıkları bulunmaktaydı. Hepatositlerin sinüzoid duvarı ile komşu Disse aralığına bakan yüzeylerinde yaygın mikrovillusların varlığı gözlenirken, komşu iki hepatosit arasında genellikle membranların birbirine sıkıca tutunduğu ancak, bazı alanlarda komşu membranlar arasında küçük boşlukların olduğu ve bu boşluklara hepatosit yüzeyinden mikrovillusların uzandığı görüldü. Hepatositler arasındaki bu boşluklar safra kanaliküllerini oluşturmakta ve kanaliküller hepatosit membranları arasında bulunan zonula okludens, zonula adherens ve desmozom tipi bağlantılar ile sınırlandırılmışlardı. Hepatositlerin peri portal boşluğa bakan yüzeylerinde mikrovilluslar bulunmakta ve bu alanda safra duktulisi ile yakın yerleşimli olarak bulunmaktaydılar (Şekil 14,15,16).

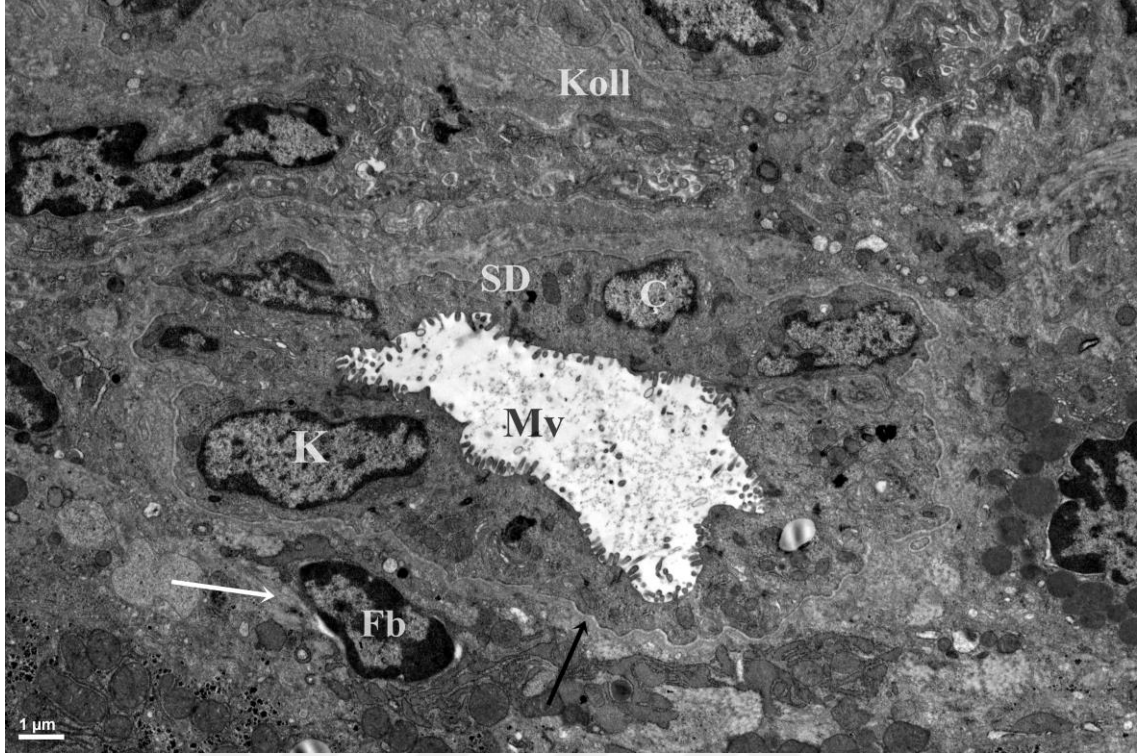
Portal alanda bulunan safra duktuslarının lümeninin, apikal yüzeylerinde kısa küt mikrovilluslar içeren, kübik şekilli epitel hücreleri ile döşeli olduğu izlendi. Kolanjiosit olarak da adlandırılan epitel hücreleri; merkezi olarak yerleşmiş hafif indentasyon gösteren sferikal ya da oval şekilli çekirdek, sitoplazmalarında yaygın mitokondriyonlar, ender lipit damlacıkları ve lizozomal yapılar içermektedir. Dıştan bir bazal lamina ile çevrili olan duktuslar fibroblast ve kollajen liflerden zengin bir bağ dokusu içerisinde yerleşmişti. Ayrıca portal alan ile hepatositler arasında bulunan Mall boşluğu normal olarak izlenmekteydi (Şekil 16)



Şekil 14. Kontrol grubu. Çift çekirdekli hepatositin (H) ökromatik çekirdeklerinde (Ç) belirgin çekirdekçikler (yıldız), sitoplazmalarında yaygın (GER), mitokondriyonlar (M), ender lipit damlacıkları (Ld), glikojen partikülleri görülmekte. Hepatositler arasında bağlantı kompleksleri (siyah ok) ve mikrovillusların (Mv) uzandığı safra kanalikülleri (beyaz ok) izlenmekte. Bar=1 µm.



Şekil 15. Kontrol grubu. Hepatosit (H) sitoplazmasında ökromatik çekirdek (Ç) ve çekirdekçik (*), yaygın mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikulum (GER) sisternaları, glikojen partikülleri (Gl), ender lipit damlacıkları (Ld) görülmekte. Hepatositlerin safra kanaliküllerine (beyaz ok) ve Disse aralığına bakan yüzeylerinde mikrovilluslar (mv) izlenmekte. Sinüzoid duvarında endotel hücre sitoplazmaları (e) arasında yer yer boşluklar (siyah ok) ve sinüzoid içerisinde eritrositler (E) izlenmekte. Bar=1 µm.



Şekil 16. Kontrol grubu. Portal alanda fibroblastlar (Fb), kollajen lifler (Koll) ve kolanjiyositler (K) ile döşeli safra duktusu (SD), izlenmekte. Kolanjiyositlerin hafif indentasyon gösteren çekirdekler (Ç), apikal yüzeylerinde mikrovilluslar (Mv) içerdiği ve belirgin bir bazal lamina (siyah ok) ile sarıldığı görülmekte. Portal alanlar ile hepatositler (H) arasında Mall boşluğu (beyaz ok) izlenmekte. Bar=1µm.

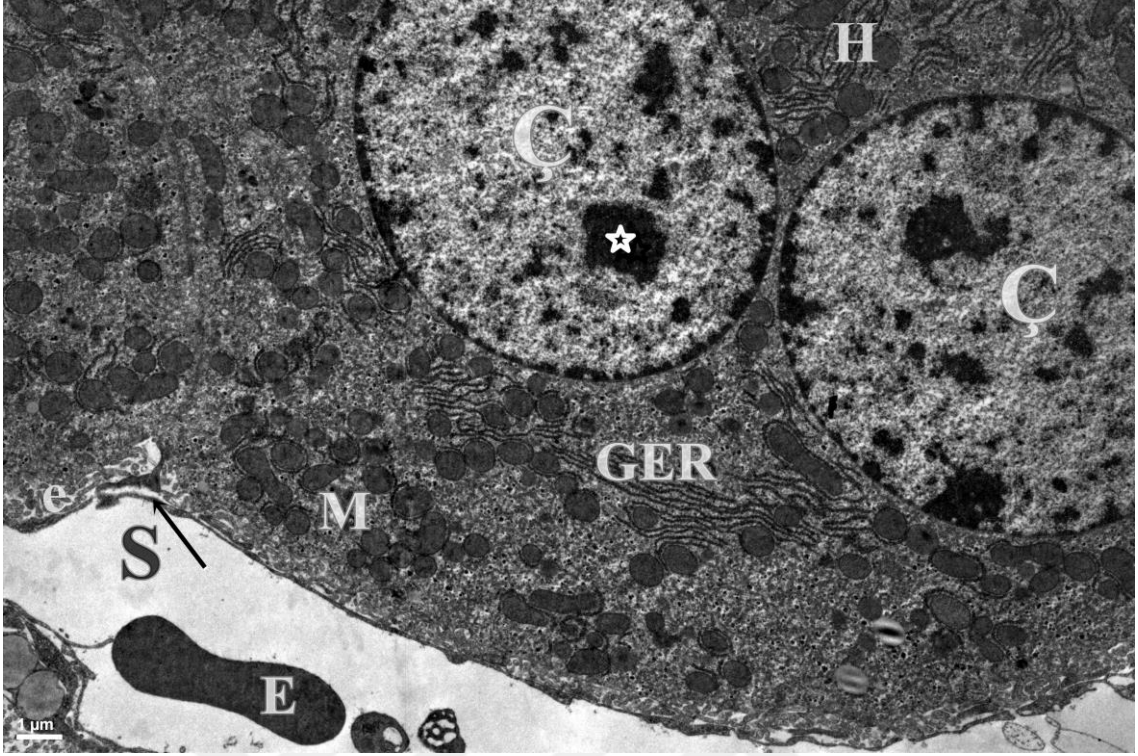
4.2.2. Kurkumin Grubu

Kurkumin grubuna ait karaciğer dokuları elektron mikroskopik olarak incelendiğinde genel olarak kontrol grubu ile benzer histolojik özellikleri taşıdığı gözlemlendi.

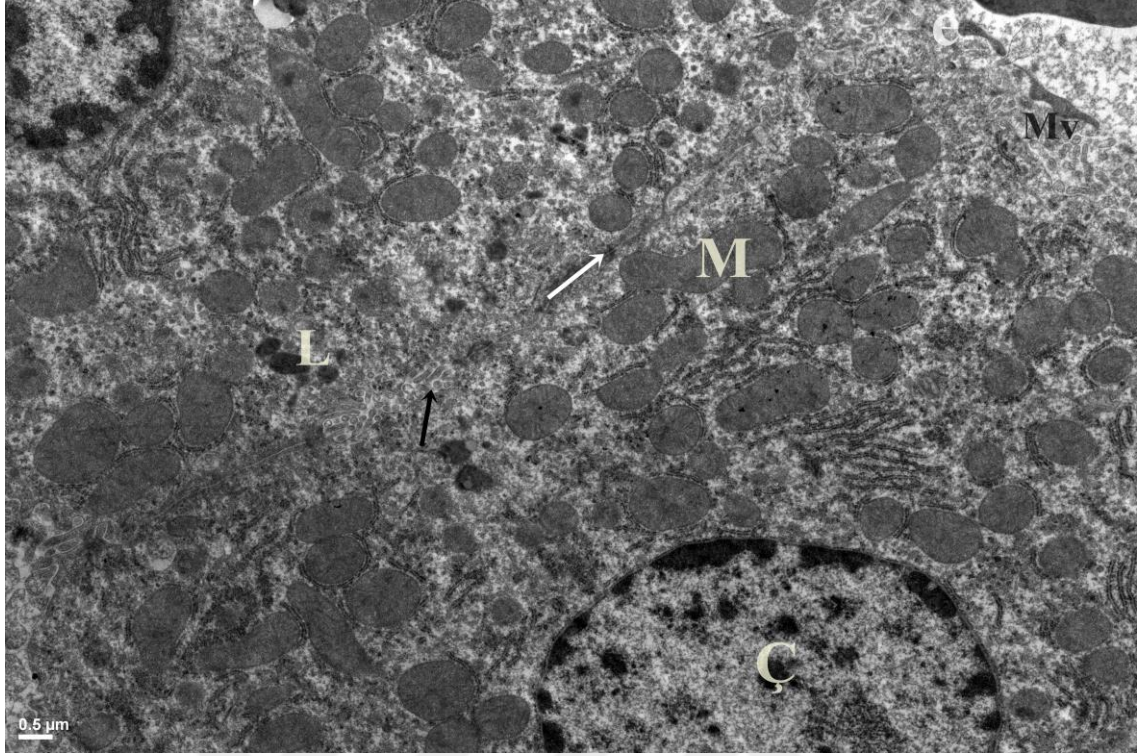
Hepatositler geniş bir sitoplazma ve düzgün yüzeyli, sferikal şekilli 1veya 2 çekirdeğe sahipti. Çekirdekleri yaygın ökromatin ve periferik yerleşimli heterokromatin granülleri yanında, belirgin 1-2 çekirdekçik içermektedir. Sitoplazmalarında çok sayıda mitokondriyon, yaygın GER sisternaları, lizozomlar, elektron dens görünümlü glikojen partikülleri ve elektron opak görünümlü lipid damlacıkları bulunmaktaydı. Sinüzoid duvarında Kupffer hücreleri ve endotel hücreleri normal histolojik özelliklerde izlendi. Perisinüzoidal alan ve perisinüzoidal alan ile ilişkili hepatositler doğal görünümde izlendi (Şekil 17,18).

Birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanan hepatosit membranları safra kanaliküllerini oluşturmuştu ve bu kanaliküllerin lümenine doğru mikrovilluslar uzanmaktaydı (Şekil 19).

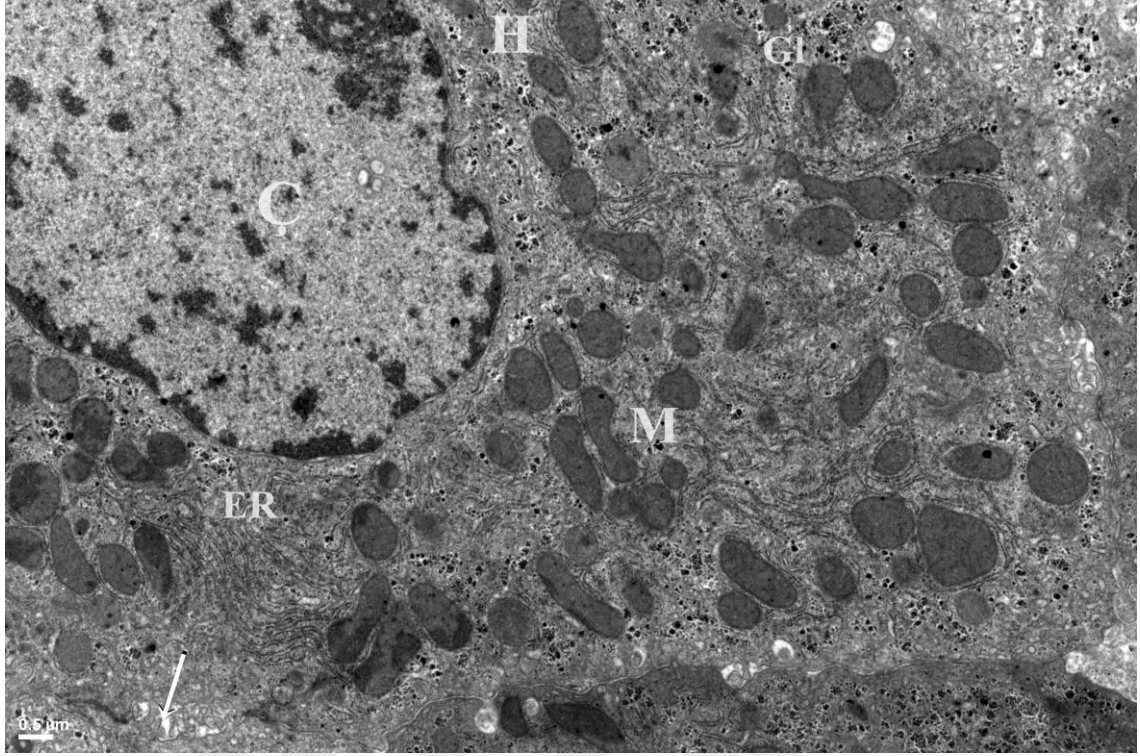
Portal alanda safra kanallarını döşeyen kolanjiyositler indentasyonlu çekirdekleri apikal yüzeylerindeki yaygın mikrovillusları ve tek bir primer silyumu ile normal olarak izlendi. Portal alan ile hepatositler arasında bulunan Mall boşluğu da doğal görünmekteydi (Şekil 20).



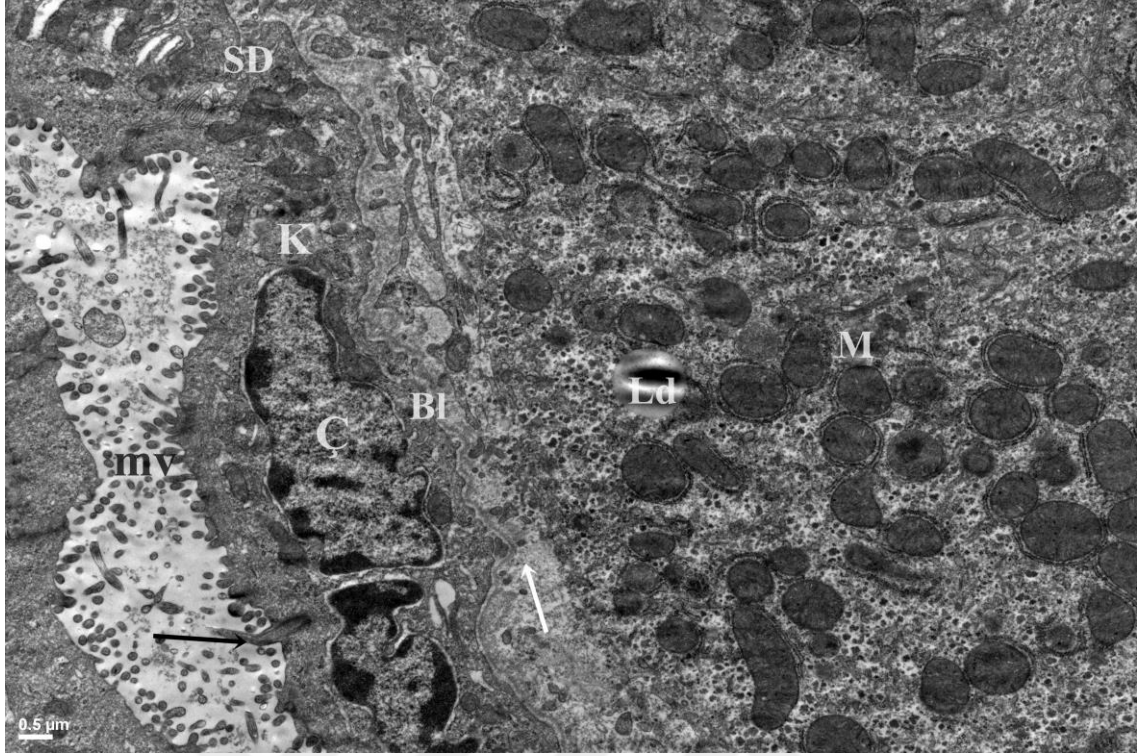
Şekil 17. Kurkumin grubu. Hepatositler (H) geniş bir sitoplazmaya ve düzgün yüzeyle bir veya iki ökaryotik çekirdeğe (Ç) sahip olup, çekirdeklerinde belirgin 1-2 çekirdekçik (*) sitoplazmalarında çok sayıda mitokondriyon (M), yaygın endoplazmik retikulum (GER) sisternaları içermekte. Sinüzoid (S) içerisinde eritrosit (E) ve sinüzoidi döşeyen endotel (e) hücreleri ve perisinüzoidal boşluk (ok) normal yapıda izlendi. Bar=1 µm.



Şekil 18. Kurkumin grubu. Hepatosit çekirdeği (Ç) ve sitoplazması içerisinde mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikulum sisternaları (GER) ve lizozomlar (L) normal olarak görüldü. İki hepatosit arasında sıkı bağlantılar (beyaz ok) ve safra kanalikülleri (siyah ok) doğal yapıda izlenmekte. Perisinuzoidal alan içerisinde bulunan mikrovilluslar (Mv) ve endotel (e) hücrelerinin sitoplazmik yapıları izlenmekte. Bar=0,5 µm.



Şekil 19. Kurkumin grubu. Hepatositin (H) ökromatik çekirdeği (Ç), sitoplazmasında yaygın mitokondriyonlar (M), glikojen partikülleri (Gl), endoplazmik retikülüm (ER) sisternaları görülmekte. Hepatosit hücreleri arasında safra kanalikülleri (beyaz ok) normal olarak izlenmekte. Bar=0,5μm

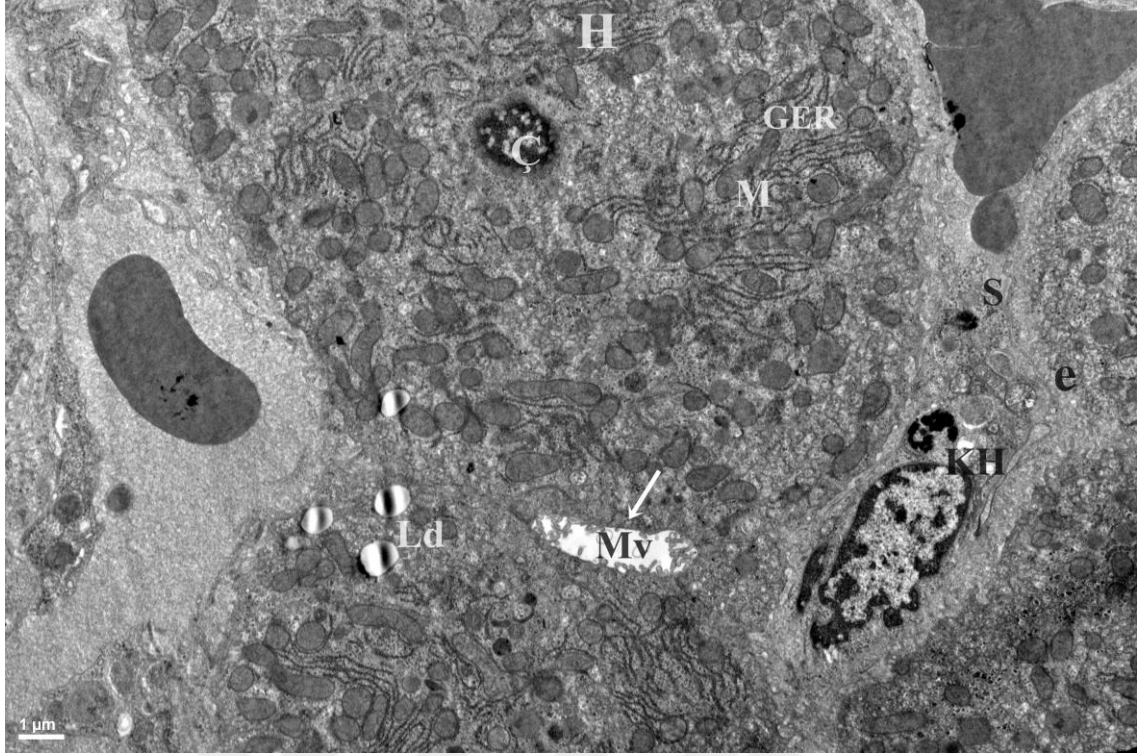


Şekil 20. Kurkumin grubu. Portal alan içerisinde safra duktusunu (SD) döşeyen kolanjiositlerin (K) apikal yüzeyinde mikrovilluslar (mv) ve primer silyum (siyah ok) görülürken çekirdeklerinin (C) indentasyon gösteren oval şekilli olduğu ve belirgin bir bazal lamina (Bl) üzerine oturduğu izlenmekte. Portal alan ile hepatositlerin (H) arasında bulunan Mall boşluğu (beyaz ok) normal olarak izlenmekte. Mitokondriyon (M), lipid damlacığı (Ld). Bar=0,5µm.

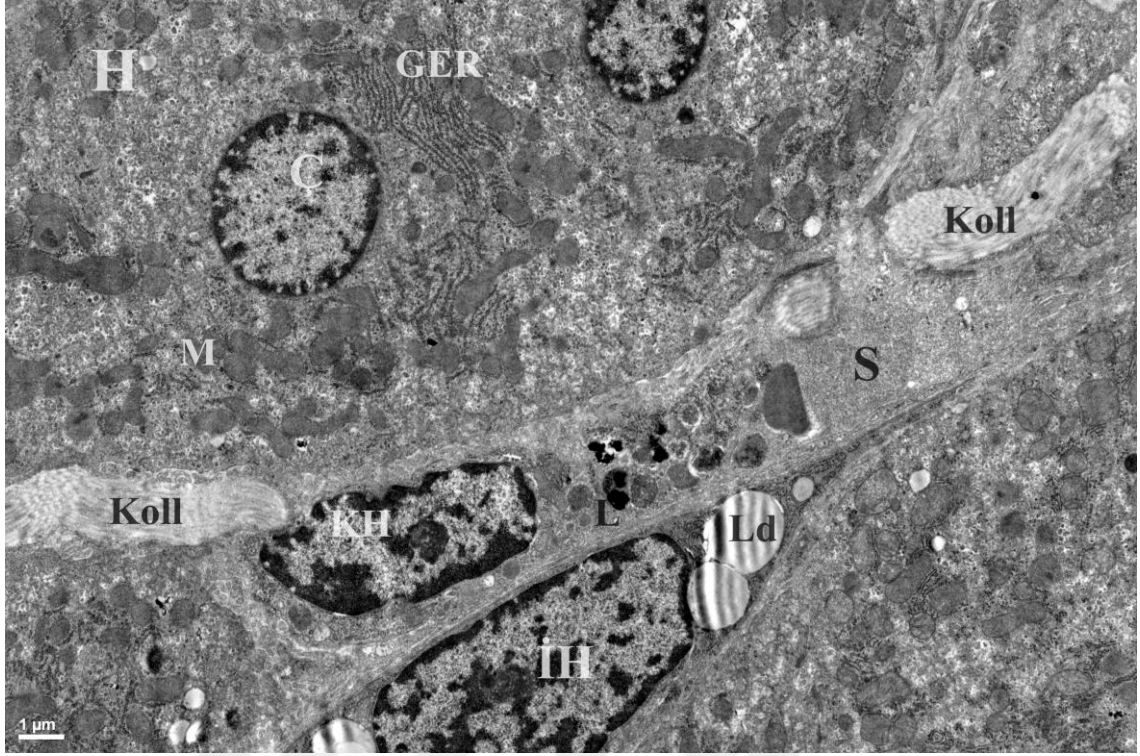
4.2.3. Doksorubisin Grubu

Doksorubisin grubunda bulunan sıçanların karaciğerleri ultrastrüktürel olarak değerlendirildiğinde kontrol ve kurkumin grubuna göre belirgin değişiklikler olduğu görüldü. Bu değişiklikler hepatositlerde gelişen yapısal ve apoptotik değişiklikler ile birlikte portal kanal ve Disse aralığında kollajen liflerin miktarında belirgin artış, İto hücreleri ve eozinofillerin oldukça yaygın olması ve konjesyon varlığı ile karakterizedydi. Bazı hepatositlerde çekirdeğin düzgün sferikal yapısının bozularak girintili çıkıntılı hal aldığı görülürken, bazılarında heterokromatin miktarının arttığı ve çekirdeğin periferinde yoğunlaştığı dikkati çekti. Hepatositlerin sitoplazmalarında yaygın olarak bulunan mitokondriyonların kristallarının genellikle kaybolduğu, matriks densitesinin arttığı, bazı alanlarda genişlediği dikkati çekti. Bazı alanlarda mitokondriyonların bir araya gelerek kümeler oluşturduğu görülürken, granüler endoplazmik retikulum sisternalarının da demetler halinde düzenlendiği gözlemlendi. GER sisternalarının bazı alanlarda mitokondriyonlar ile çok yakın yerleşimli olduğu, bazı alanlarda ise mitokondriyonları tamamen çevrelediği dikkati çekti. Mitokondriyonların GER sisternaları tarafından sarıldığı alanlarda, sitoplazmada da yer yer elektron lüsent alanların varlığı görüldü. Bazı alanlarda hepatositlerin sitoplazmalarında GER sisternalarının kümeleşmiş mitokondriyonlar arasında yoğun demetler halinde düzenlendiği ve yer yer genişlediği saptandı. Ayrıca glikojen partiküllerinin diğer gruplardaki hepatositlerdekine oranla oldukça seyrek olduğu da dikkati çekti (Şekil 21, 22, 23). Hepatositler arasındaki safra kanaliküllerinin genişlediği, hepatosit yüzeyindeki mikrovillusların seyrekleştiği, düzensiz bir hale geldiği dikkati çekti (Şekil 21). Hepatositlerde sitoplazmik lizis ve GER sisternalarının demetler oluşturması ile karakterize hücresel değişikliklerin yaygın olarak görüldüğü alanlarda eozinofillerin varlığı da sıklıkla dikkati çekti (Şekil 24)

Perisinüzoidal boşluk bazı alanlarda normal yapıda izlenirken, bazı alanlarda ise perisinüzoidal boşluğun genişlediği ve bu alanlarda yaygın kollajen lif demetlerinin varlığı dikkati çekti. Ayrıca bu alanlarda sitoplazmalarında yaygın lipit damlacıklarının varlığı ile karakterize İto hücreleri de sıklıkla izlenmekteydi. Bazı mikrograflarda ise kollajen lifler ile yakın ilişkili miyofibroblastların varlığı da izlendi. Sinüzoidlerin duvarında Kupffer hücreleri ve endotel hücreleri normal olarak görülmekteydi (Şekil 22,23).



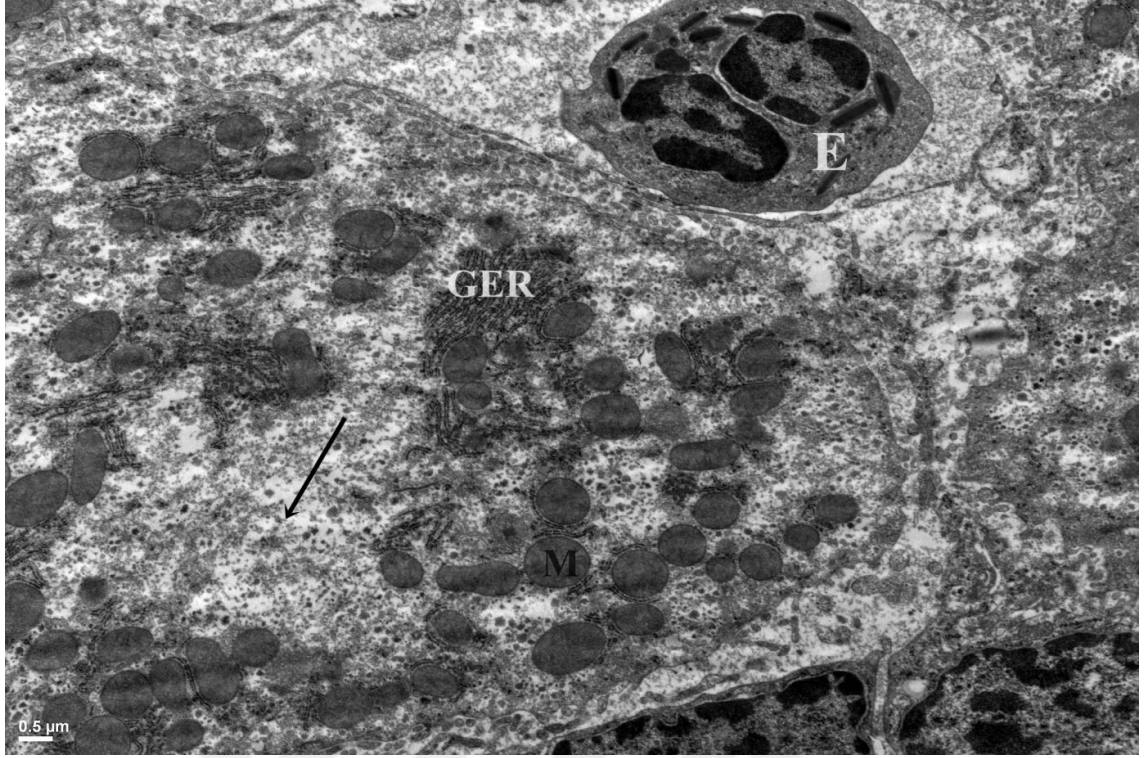
Şekil 21. Doksorubisin grubu. Hepatositlerin (H) sitoplazmasında çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M) ile yakın ilişkili granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternaları, ender lipit damlacıkları (Ld) izlenmekte. Hepatositler arasında bulunan safra kanaliküllerinin (beyaz ok) genişlediği, mikrovillusların (Mv) seyrekleştiği görülmekte. Sinüzoidleri (S) döşeyen endotel (e) ve Kupffer hücreleri (KH) normal olarak izlendi. Eritrosit (E). Bar=1 µm.



Şekil 22. Doksorubisin grubu. Hepatosit (H) sitoplazmasında mitokondriyonlar (M) ve granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternalarının kümeler oluşturduğu, hepatosit ile sinüzoid arasında kollajen liflerin (Koll) geliştiği görülmekte. Sinüzoid (S) duvarında Kupffer hücreleri (KH) sitoplazmasında lizozomları (L) ile normal olarak görülmekte. Perisinüzoidal boşlukta sitoplazmasında lipit (Ld) damlacıkları ile İto hücresi (İH) görülmekte. Bar=1 µm.



Şekil 23. Dokсорubisin grubu. Hepatosit (H) çekirdeğinde (Ç) heterokromatin miktarının arttığı, mitokondriyonlarda (M) şişme, krista yapılarında bozulma olduğu gözlemlendi. Perisinüzoidal boşlukta bulunan miyofibroblast (mf) hiperkromatik bir çekirdek (Ç), genişlemiş mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternaları içermekte ve kollajen (Koll) lif demetleri ve apoptotik cisim (A) ile yakın ilişkili olarak bulunmakta. Bar=0,5 µm.



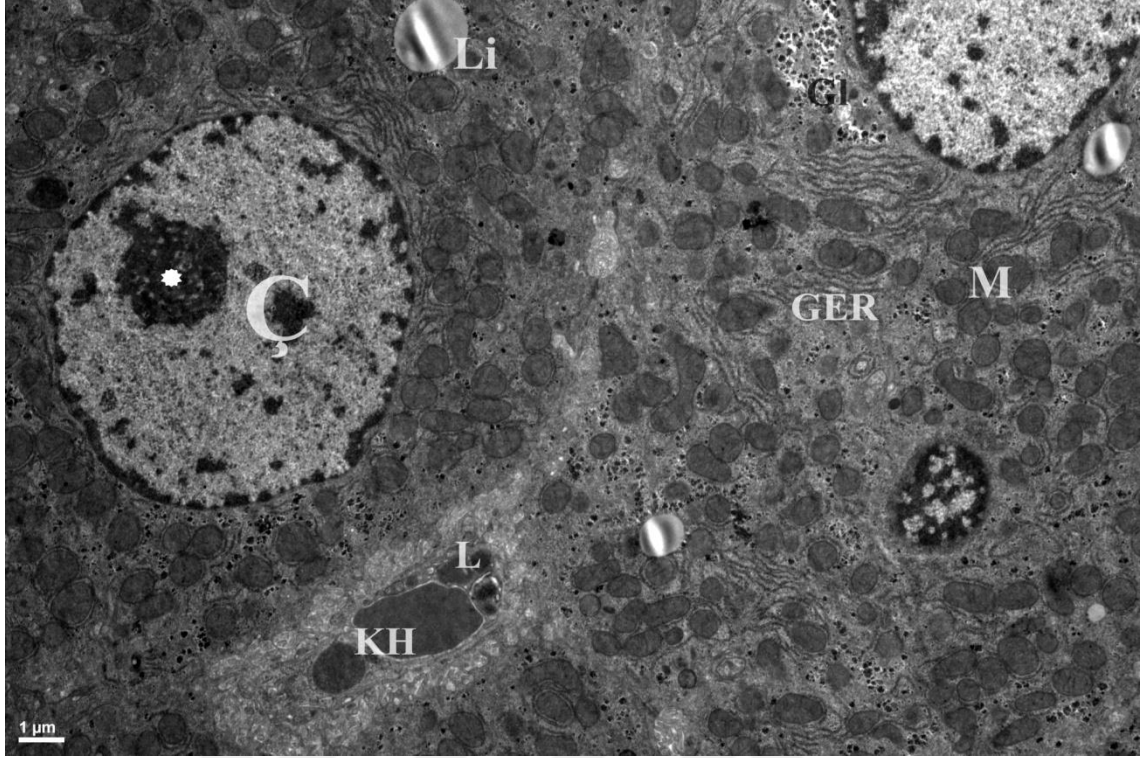
Şekil 24. Dokсорubisin grubu. Hepatositlerde kümeler halinde mitokondriyonlar (M) ve granüler endoplazmik retikulumun (GER) sisternaları, sitoplazmada elektron lüsent ve litik alanlar (siyah ok), sinüzoid içerisinde eozinofil (E) görülmekte. Bar=0,5 µm.

4.2.4. Doksorubisin+Kurkumin Grubu

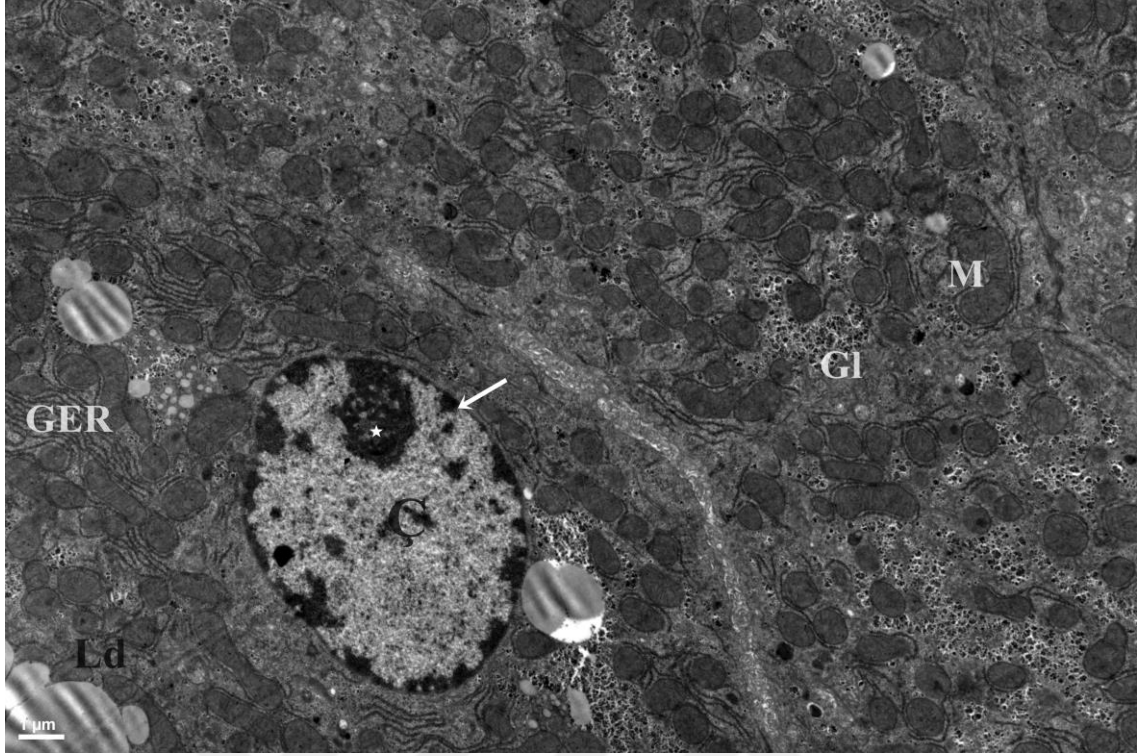
Doksorubisin+Kurkumin grubuna ait karaciğer dokularının elektron mikroskopik incelemesinde; hepatositlerin, sinüzoidal kapillerlerin ve perisinüzoidal alanların histolojik özelliklerinin kontrol ve kurkumin grubunda olduğu gibi, nispeten normal olarak gözlemlendi.

Poligonal şekilli hepatositler geniş bir sitoplazmaya, sferikal şekilli ve düzgün yüzeyle çekirdeğe, nükleoplazma içerisinde yaygın ökromatin ve belirgin bir çekirdekçiğe sahipti. Hepatosit sitoplazması içerisinde kontrol grubu ile benzer özelliklerde yaygın granüler endoplazmik retikulum sisternaları, çok sayıda raf şeklinde krista yapısına sahip mitokondriyon, elektron dens glikojen partikülleri bulunmaktaydı. Hepatosit bazal yüzünde perisinüzoidal alan içine doğru uzanan kısa, küt, çok sayıda mikrovillus bulunmaktaydı ve bunlar normal görünümdeydi. Karşı karşıya gelen hepatosit membranları zonula okludens, zonula adherens ve makula adherens tipinde bağlantılar içerdiği görüldü. Sinüzoid duvarını döşeyen endotel hücreleri ve Kupffer hücreleri kontrol grubu ile benzer özellikteydi (Şekil 25-27).

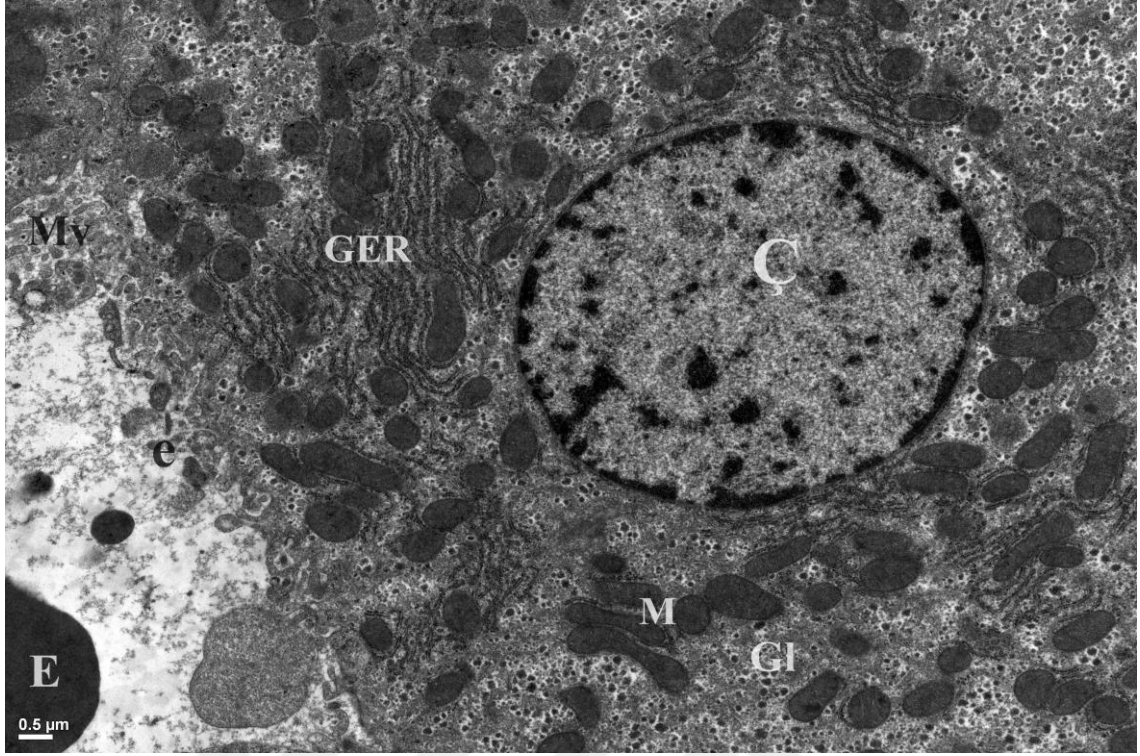
Komşu hepatositlerle hücrelerarası bağlantılar lateral yüzeyleri, safra kanaliküllerini oluşturan apikal yüzeyleri ve içerisinde yer alan mikrovilluslar doğal görünüme sahipti (Şekil 26).



Şekil 25. Kurkumin+Doksorubisin grubu. Hepatositlerin ökromatik çekirdeği (Ç), çekirdekçisi (*), sitoplazmasında lipit damlacıkları (Li), yaygın mitokondriyonlar (M) , granüler endoplazmik retikulum (GER) sisternaları, elektron dens glikojen partikülleri (Gl) normal olarak gözlenmekte. Sinüzoid duvarında Kupffer hücresi (KH) ve sitoplazmasında lizozomal (L) yapılar doğal olarak izlenmekte. Bar=1µm.



Şekil 26. Kurkumin+Doksorubisin grubu. Hepatositlerin ökromatik çekirdeği (Ç), belirgin çekirdekçiği (*), perinükleer sisternası (beyaz ok) normal histolojik görünümdeydi. Sitoplazma içinde at nalı şeklinde mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikulum (GER) sisternaları, lipid damlacıkları (Ld) ve glikojen (Gl) partikülleri bulunmaktaydı. Bar=1 µm.



Şekil 27. Kurkumin+Doksorubisin grubu. Hepatositlerin düzgün yüzeyle ökromatik çekirdeği (Ç) ve sitoplazma boyunca dağılmış mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikulum (GER) sisternaları, glikojen partikülleri (Gl) görülmekte. Sinüzoidal kapillerler (S) içerisinde eritrosit (E), duvarında endotel hücresi (e) ve perisinüzoidal alanda mikrovilluslar (Mv) izlenmekte. Bar=0,5µm.

5. TARTIŞMA

Doksorubisin antrasiklin grubundan bir antibiyotik olup kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte bugüne kadar yapılan çalışmalarda doksorubisin kullanımının kardiyotoksisite, nefrotoksisite, hepatotoksisite ve üreme sistemi üzerine belirgin etkilerinin olduğu rapor edilmiştir^{175,176}. Sunulan çalışmada deney grubuna 6 hafta boyunca 2 mg/kg/hafta dozda doksorubisin uygulanırken tedavi grubuna ise doksorubisine ilave olarak 6 hafta boyunca 200 mg/kg/gün dozda kurkumin gavaj yolu ile uygulandı. Doksorubisin uygulanan grupta belirgin biyokimyasal ve histolojik değişiklikleri ile birlikte vücut ağırlıklarının da azaldığı görüldü. Biyokimyasal değişiklikler; doksorubisin uygulanan grupta karaciğer enzimleri ALT ve AST düzeylerinde artış, SOD aktivitesinde düşüş, MDA aktivitesinde artış ile karakterize iken doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta ise tüm bu değerlerin kontrol gruplarındaki değerlere yaklaşma eğiliminde olduğu görüldü. Bunlara ilaveten TNF- α ve Kaspaz-3 ifadelerinin doksorubisin grubunda oldukça arttığı doksorubisin+kurkumin uygulanan grupta ise bu ifadelerin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Histolojik değişiklikler ise hepatositlerde piknotik çekirdekler, mitokondriyonlarda dejenerasyon ve kümeleşme, GER sisternalarında kümeleşme, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, konjesyon, fibrozis, İto hücreleri ve eozinofillerde artış ile karakterizeydi. Yapılan çalışmalarda Doksorubisin kaynaklı hepatotoksisitenin, serbest radikal oluşumu, mitokondriyal disfonksiyon, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres nedeni ile geliştiği bildirilmektedir^{189,192}. ALT sitozolik bir enzim olup karaciğere spesifiktir. AST ise hem sitozolik hem mitokondriyal enzim olup karaciğerden başka çizgili kas, beyin ve pankreasta da bulunmaktadır²²⁵. Doksorubisin uygulanan pek çok araştırmada, karaciğerde hasar geliştiğine dair belirteçler olan ALT, AST, LDH, kreatin kinaz, direkt ve toplam bilirubin seviyelerinde önemli derecede artış olduğu rapor edilmiştir^{192,226}. Doksorubisin uygulanması; hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon üretimine neden olmaktadır. NADPH-sitokrom P-450, Doksorubisini bir semikinon serbest radikale dönüştürür ve bu da daha sonra süperoksit anyon ve hidroksil radikal oluşumuna yol açar¹⁸⁵. Böylece üretilen ROS, ALT ve AST gibi karaciğer enzimlerinin seruma sızmasına neden olan, membran lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu enzimlerin seviyesi de hepatotoksisite için biyobelirteç görevi görür^{227,228}.

Nrf2 hücrel antioksidan cevabın regülasyonunda anahtar bir transkripsiyon faktörüdür ve bu yolak oksidatif stresi etkisizleştiren majör koruma mekanizmasıdır. Doksorubisin kaynaklı ROS üretimi sonucu oluşan oksidatif strese karşı antioksidan enzimler savunma yapar ve Nrf2 antioksidan protein ekspresyonunu düzenler. Doksorubisin kullanımıyla Nrf2/FOXO/HO-1 genlerinde etkilenmeye yol açar. GSH, SOD ve CAT gibi antioksidanların seviyesi azalır ve savunma mekanizmalarının çalışması inhibe olur^{2,180}. MDA ise peroksitlenmiş poli doymamış yağ asidi ana oksidasyon ürünüdür ve artan MDA içeriği lipit peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olup, Doksorubisin kullanımının MDA düzeylerini artırdığı rapor edilmektedir^{227,229}. Oksidatif strese bağlı karaciğer hasarını önleyebilmek için antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Antioksidan maddelerin en önemli özelliği, hücre membranı yapısında bulunan lipitleri peroksidasyona karşı korumaktır. Bunu da peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek yaparlar²³⁰. Kurkumin glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimler üzerine de etki ederek hücrel antioksidan savunmayı geliştirir ayrıca hücreleri protein karboksilasyonuna, lipit peroksidasyonuna ve mitokondriyal geçirgenlik artışına karşı korumaktadır. Ayrıca süperoksit anyonları (O_2^-), hidroksil radikalleri (OH), hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijen (O_2), nitrik oksit, peroksi nitrit ve peroksi radikalleri üzerine etki gösterip, sonuç olarak oluşan ROS'un birikimini engellemekte ve antioksidan savunmayı arttırarak akut ve kronik inflamasyonu baskılamaktadır. Kurkuminin terapötik potansiyeli aslında anti oksidan özelliği ile ilgilidir^{211,231,232}. Proinflamatuvar sitokinler karaciğer hasarında önemli patolojik rol oynar. Normalde vücudumuzda Nrf2 yolağı; SOD, CAT, HO-1 gibi hücrel antioksidan enzim aktivitelerini düzenleyen, oksidatif strese karşı önemli bir hücrel koruyucu yanıttır. Kurkumin tedavisinin Nrf-2 ile ilişkili faktör (Nrf2/ARE) sinyal yoluyla HO-1'i arttırıp, Tioredoksin redüktaz (Trx Rs) ve oksidatif stresi engelleyen SOD gibi antioksidan enzimleri aktive ettiği bildirilmektedir^{232,233}. Nitekim doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta AST ve ALT düzeylerinin belirgin bir şekilde düşmesi, SOD düzeyleri yükselirken, MDA düzeylerinin ise doksorubisin uygulanan gruba göre belirgin bir şekilde azalması, kurkuminin hepatotoksik etkiyi azaltarak, hücreyi lipit peroksidasyonundan koruduğunu ve antioksidan ajanları arttırdığını düşündürmektedir.

Işık mikroskopik değerlendirmelerimizde Doksorubisin kullanılan grupta vasküler konjesyonun geliştiği, yer yer sinüzoidal dilatasyonun ve mononükleer hücre infiltrasyonunun olduğu gözlenirken, Masson Trikrom boyama yöntemi uygulanan kesitlerde ise periportal alanda ve hepatosit plakları arasında kollajen liflerin arttığı gözlemlendi. Çeşitli nedenlerle oluşan karaciğer hasarının, proinflatuar mediatörlerin salınımına ve subendotelyal alanda lenfositleri içeren lökositlerin infiltrasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. CD4⁺ T lenfositlerin cevabının fibrozis gelişiminde önemli olduğu, belirli T-helper lenfositlerin hattındaki polarize CD4⁺ T lenfositlerin, hücre özelliklerinin değişimi ve fibrozis gelişiminde kritik öneme sahip olduğu rapor edilmektedir. Böylece TH2-Polarize T hücreleri miyofibroblastlarda profibrojenik gen ekspresyonlarını (prokollajen I ve III, MMP-2,9 ve TIMPs) ve makrofajlarda immünregülatör mediatörlerin (IL10, TGF- Fibrotik β) sentezini uyararak fibrozis gelişimine doğrudan etki ettiği bildirilmektedir²³⁴. Karaciğer fibrozisi; ekstrasellüler matriks proteinlerinin birikerek, fibröz skar dokusu oluşması şeklinde tanımlanmakta ve hasarlanmış normal karaciğer dokusunun yerini almaktadır. karaciğerde ekstrasellüler matriksin primer kaynağı miyofibroblastlardır. Miyofibroblastlar sağlıklı karaciğerde bulunmazlar ancak, karaciğer hasarına cevap olarak aktive olurlar. Miyofibroblastların kökeninin belirlenmesi her ne kadar zor olsa da elektron mikroskopik ve immünhistokimyasal çalışmalar portal fibroblastların ve hepatik stellat hücrelerin miyofibroblastlara değişebileceğini ileri sürmektedir²³⁵. Hepatik stellat hücreler olarak da adlandırılan İto hücreleri mezenşimal kökenli olup, sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarında vitamin A depolamaktadır. Kronik inflamasyon gibi bazı patolojik durumlarda bu hücrelerin lipid ve vitamin-A depolama kapasitesini yitirerek, miyofibroblast karakterine sahip hücrelere farkedildiği ve perisinüzoidal boşluk içerisinde Tip I ve Tip III kollajen sentez ederek karaciğer fibrozisine sebep olduğu da bilinmektedir. Perisinüzoidal fibröz stromada artış olması, karaciğerin toksik maddelere cevabının erken bir işareti olarak kabul edilmektedir^{13,235,236}.Yapılan deneysel çalışmalarda doksorubisin uygulanan sıçanlarda hepatositlerin arasında ve perisinüzoidal alanda kollajen liflerin arttığı ve karaciğerde fibrozis geliştiği rapor edilmektedir^{189,237}. Kurkuminin uygulandığı in vivo çalışmalarda, kurkuminin karaciğer hasarlarında hepatik enflamasyonu baskılayıp, mitokondriyonları desteklediği, hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunu engellediği, böylece fibrozis oluşumunun önüne geçtiği

rapor edilmiştir.^{211,238,239} . Nitekim çalışmamızda Doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta, Masson trikrom yöntemi uyguladığımız karaciğerlerde, perisünizoidal alanda ve hepatositlerin arasında kollajen liflere özel belirgin bir boyanmanın olmadığı, elektron mikroskopik değerlendirmelerde de kollajen lif demetlerine rastlanılmadığı ve bu bulguların kontrol gruplarındakiler ile benzer oranlarda olduğu görüldü. NF-Kb inflamasyonun, hücre içi homeostaz ve hücre ölümünün düzenlenmesinde rol oynamaktadır. İnflamasyon, iç ve dış faktörlerle oluşan oksidatif stres hücrede NF-Kb'yi aktive etmektedir. Bu durum TNF- α , IL-1B, İNOS, TGF- β gibi farklı proinflamatuvar mediatörlerin gen ekspresyonunu indüklemektedir. Kurkumin ise NF-Kb'yi inhibe ederek etki göstermekte, böylece TGF- β , tip 1 kollajen oluşumu ve fibrozis gelişimini engellemektedir^{232,233} .

Elektron mikroskopik değerlendirmelerde hepatositlerde mitokondriyal şişme ve krista kaybı, nüklear piknozis ve kromatin marjinasyonu, endoplazmik retikülümün demetler teşkil etmesi ve otofajik oluşumlar ile karakterize yapısal değişikliklerin olduğu görüldü. Karaciğerin major hücrelerinden olan hepatositler, ilaçlar, virüsler, alkol ve toksik maddeler gibi zararlı etkenlerle karşılaştıkları zaman hepatosit hasarını takiben hızla rejenerasyon yeteneği gösteren hücrelerdir. Karaciğer hücrelerinde apoptosis, nekroptosis, nekroz ve otofaji bağımlı hücre ölümü tipleri tanımlanmıştır. Apoptosis programlı hücre ölümü olarak adlandırılan, pek çok gen tarafından kontrol edilen, yaygın görülen fizyolojik bir süreçtir²⁴⁰ . Morfolojik olarak apoptozis çekirdekte kromatin yoğunlaşması ve marjinasyonu, DNA fragmentasyonu, plazma membranı şişkinlikleri, hücre büzüşmesi ve giderek hücrenin, hücre organeli içeren, membranla çevrili apoptotik cisimlere parçalanması ile karakterize olduğu rapor edilmektedir²⁴¹ . Apoptotik cisimler makrofajlar veya diğer hücreler tarafından ortamdan uzaklaştırılmaktadırlar^{240,241} . Nekroptosis ise programlı nekroz olup, morfolojik olarak nekrotik hücre ölümü ile karakterizedir ve otofaji içerir. Nekroz ise kontrol edilemeyen pasif bir doku hasarı süreci olarak ortaya çıkar ve hücre zarı hasarı, hücre şişmesi ve inflamasyona yol açan hücresel bozulma ile karakterizedir. Otofaji olayı intrasellüler katabolik bir süreç olup, sindirim için lizozomlara sitoplazmik komponent sağlamaktadır. Otofajik aktivitenin mitokondriyal yolak aracılığı ile hepatosit apoptozisini düzenleyebileceği de ileri sürülmektedir^{192,240} . Doksorubisin uyguladığımız grupta hücre ölümü belirteçlerinden olan TNF- α ve kaspaz-3 immümoreaktivitelerinin

belirgin olarak yüksek olması karaciğer hücrelerinin doksorubisin etkisi ile büyük oranda apoptozis veya nekropitozis yolu ile ölüme gittiğini göstermektedir. Idriss ve Naismith (2020) TNF- α nın akut inflamasyon sırasında makrofajlar/monositler tarafından salgılanan bir inflamatuvar sitokin olup, nekroz veya apoptoza sebep olan hücre içi sinyal yollarında görev aldığını rapor etmişlerdir²⁴². Zhao ve arkadaşları (2020) ise deneysel çalışmalarında TNF- α konsantrasyonunun hücrenin kaderini belirlemede kritik rol oynadığını, yüksek TNF- α konsantrasyonlarının hepatik hücre ölümünü tetiklediği, düşük TNF- α konsantrasyonunun ise hepatik hücrelerinin hayatta kalmasını düzenlediğini ileri sürmüşler, lipopolisakkaritlerin Kupffer hücrelerini aktive ederek, TNF- α miktarını artırdığını bildirmişlerdir²⁴³. Ayrıca proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α , mitokondriyonlarda reaktif oksijen radikallerinin sentezini arttırmakta, apoptozu uyarıp aşırı agresif bir inflamatuvar süreç başlatarak inflamatuvar hücrelerin karaciğerde toplanmasına neden olmakta, sonuç olarak da hepatosit hasarı ve ölüme yol açmaktadır²⁴⁴.

Kaspazlar ise apoptoz esnasında önemli rol oynayan sistin-proteaz grubu enzimlerdir. Apoptozis kaspaz aktivasyonu ile hücrede inaktif olarak bulunur ancak proteolitik olarak birbirlerini aktive ederler. Kaspazlar yapı ve işlevlerine göre; Lenfokin yapımında bulunanlar (kaspaz 1,4,5,11,12,13,14), apoptozun başlamasında görevli, sinyal iletiminde yer alan ve efektör kaspazları aktive edenler (başlatıcı kaspazlar 2,8,9,10) ayrıca çeşitli hücre proteinleri parçalayan ve küçük bağlanma bölgeleri olan kaspazlar (efektör kaspazlar 3,6,7) olarak sınıflandırılırlar. Ekstrinsik yolk kaspaz-8 ve 10'un aktivasyonu ile ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) oluşumuyla, intrinsik yolk kaspaz-9 aktivasyonu ve apoptozom kompleksi oluşumuyla kaspaz-3'ü indüklemektedir. Bu son basamakta kaspaz-3 tipik DNA fragmentasyonuna neden olmaktadır. Apoptoz indüksiyonu Doksorubisinin önemli sitotoksik mekanizmalarındandır. Doksorubisin kullanımında ROS üretimindeki artışın; mitokondriyal gen ifadelerine zarar vererek mitokondriyal disfonksiyonu tetiklediği, p53 sinyalini etkilediği, sitokrom C'yi serbest bırakabildiği ve apoptozu teşvik ettiği gösterilerek, apoptoz ya da nekroz gibi ciddi süreçlere neden olduğu bildirilmiştir^{245,246}. Doksorubisin hücrede mitokondriyonlarda birikerek, inorganik fosfat seviyelerini düşürmekte ve böylece ATP, ADP, AMP seviyeleri azalmaktadır. ATP üretimi için gerekli olan fosfokreatin seviyesi Doksorubisin kullanımı ile hızla düşmekte ve

böylece ATP üretimi azalmaktadır. Azalan ATP/ADP oranı karaciğer hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir¹⁹². Mitokondriyal membran potansiyelinin azalması ise Sitokrom C salınımı ile mitokondriyal sinyal yolu aracılığıyla apoptozu aktive etmektedir²⁴⁷. Nitekim Doksorubisin uygulanan sıçanların karaciğerinin ultrastrüktürel değerlendirmelerinde, hepatositlerin mitokondriyonlarında belirgin yapısal değişikliklerin olduğu saptandı. Ayrıca Doksorubisin kullanımıyla oluşan serbest radikallerin DNA, RNA, hücre zarı ve proteinlerle etkileşime girerek aşırı proinflatuar maddelerin salınımına yol açması da apoptotik yolları aktive etmektedir^{192,194,248}. Bir hücrenin apoptoz eğilimli olup olmaması Bcl-2 aile genlerinin heterodimer ya da homodimer formuna bağlıdır. Bcl-2 ailesi birbirine zıt 2 gruptan oluşur. Proapoptotik üyeler: Bad, Bax, Bcl-2, Bcl-xl ve antiapoptotik üyeler: Bcl-2, Bcl-xl dir. p53 ise hücrede DNA hasarı oluştuğunda hücre siklusunu G1 fazında durdurup hücreye DNA tamiri için zaman veren transkripsiyon faktörüdür. Hasar tamir edilemeyecek durumda ise Bax, APAF-1 ve Fas yapımı artırılıp Bcl-2, Bcl-xl baskılanıp apoptoz indüklenir. Doksorubisin kullanımı sonucu oluşan ROS ile p53 sinyali aktive olmaktadır. Bax ve Fas ekspresyonu ile sitokrom c, kaspaz-3, kaspaz-9 seviyeleri gibi apoptotik belirteçlerin seviyeleri yükselirken, antiapoptotik Bcl-2 proteinlerinin ise inhibe olduğu bildirilmektedir^{192,249,250,251}. Kurkuminin karaciğer nekrozu ve apoptozunu önlediği ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda kurkuminin oksidatif stresi hafifleterek ve Sirt-Foxo1 ve PI3K -Akt sinyal yolları aracılığıyla apoptozu inhibe ettiği, ya da antiapoptotik protein olan Bcl-2 mRNA ekspresyonunu artırıp, proapoptotik protein olan Bax'ı azaltarak etki gösterdiği bildirilmiştir^{252,253,254}. Nitekim immünohistokimyasal ve ultrastrüktürel değerlendirmelerimizde Doksorubisin ile birlikte Kurkumin uygulanmasının hepatositlerin apoptoz ve nekropitozis yolu ile ölümünü büyük oranda engelleyerek korunmasında etkili olabileceğini saptadık.

Sonuç olarak; Doksorubisin kullanımına bağlı olarak hepatositlerde apoptoz ve nekropitoz olarak adlandırılan programlı hücre ölüm şekillerinin gerçekleştiği ve İto hücrelerinin aktivasyonu ile de karaciğerde kollajen lif sentezine bağlı olarak fibrozis geliştiği, ancak Doksorubisin ile birlikte Kurkumin kullanımının hepatositlerde hücre ölümünü ve bunun sonucunda gelişen fibrozisi engelleyebileceği kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Yu, J., Wang, C., Kong, Q., Wu, X., Lu, J. J., & Chen, X. (2018). Recent progress in doxorubicin-induced cardiotoxicity and protective potential of natural products. *Phytomedicine*, 40, 125-139.
2. Mansouri, E., Jangaran, A., & Ashtari, A. (2017). Protective effect of pravastatin on doxorubicin-induced hepatotoxicity, 118 (05), 273–277.
3. Kabel, A. M., Alzahrani, A. A., Bawazir, N. M., Khawtani, R. O., & Arab, H. H. (2018). Targeting the proinflammatory cytokines, oxidative stress, apoptosis and TGF- β 1/STAT-3 signaling by irbesartan to ameliorate doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Journal of infection and chemotherapy*, 24(8), 623-631.
4. Yagmurca, M., Bas, O., Mollaoglu, H., Sahin, O., Nacar, A., Karaman, O., & Songur, A. (2007). Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Archives of medical research*, 38(4), 380-385.
5. Thorn, C. F., Oshiro, C., Marsh, S., Hernandez-Boussard, T., McLeod, H., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and genomics*, 21(7), 440.
6. Aktaş I, Özmen Ö, Tutun H, Yalçın A, Türk A. Artemisinin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Biotech Histochem*. 2020 Feb;95(2):121-128. doi: 10.1080/10520295.2019.1647457. Epub 2019 Sep 6. PMID: 32064961.
7. Mohajeri M, Rezaee M, Sahebkar A. Cadmium-induced toxicity is rescued by curcumin: A review. *Biofactors*. 2017 Sep 10;43(5):645-661. doi: 10.1002/biof.1376. Epub 2017 Jul 18. PMID: 28719149.
8. Liu, X., Zhang, Y., Yang, Y., Lin, J., Huo, X., Du, X., ... & Fang, M. (2018). Therapeutic effect of curcumin and methylprednisolone in the rat spinal cord injury. *The Anatomical Record*, 301(4), 686-696.
9. Bataller, R., & Brenner, D. A. (2005). Liver fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 115(2), 209-218.
10. Zheng, S., Yumei, F., & Chen, A. (2007). De novo synthesis of glutathione is a prerequisite for curcumin to inhibit hepatic stellate cell (HSC) activation. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(3), 444-453.
11. Priya, S., & Sudhakaran, P. R. (2008). Curcumin-induced recovery from hepatic injury involves induction of apoptosis of activated hepatic stellate cells.
12. Garg, R., Gupta, S., & Maru, G. B. (2008). Dietary curcumin modulates transcriptional regulators of phase I and phase II enzymes in benzo [a] pyrene-treated mice: mechanism of its anti-initiating action. *Carcinogenesis*, 29(5), 1022-1032.
13. Histology a text and atlas Seventh Edition , Wojciech Powlina, Michael H. Ross
14. Sancak B,Cumhur M, Fonksiyonel Anatomi Baş Boyun ve iç organlar, Ankara ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık
15. Ovalle WK, Nahirney PC Netter's Essential Histology with histopatology 3 rd. Ed 2020

16. Juza RM, Pauli EM. Clinical and surgical anatomy of the liver: a review for clinicians. *Clin Anat*. 2014 Jul;27(5):764-9. doi: 10.1002/ca.22350. Epub 2014 Jan 22. PMID: 24453062.
17. Wang H, Liang X, Gravot G, Thorling CA, Crawford DH, Xu ZP, Liu X, Robert MS. Visualizing liver anatomy, physiology and pharmacology using multiphoton microscopy. *J Biophotonics*. 2017 Jan;10(1):46-60. doi: 10.1002/jbio.201600083. Epub 2016 Jun 17. PMID: 27312349
18. Sobotta Atlas of Anatomy syf.105
19. Kliniğe Yönelik Anatomi Keith L. Moore, Arthur F. Dolley ,syf.263
20. Sibulesky L. Normal liver anatomy. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2013 Mar 29;2(Suppl 1):S1-S3. doi: 10.1002/cld.124. PMID: 30992874; PMCID: PMC6448666.
21. Bogdanos DP, Gao B, Gershwin ME. Liver immunology. *Compr Physiol*. 2013 Apr;3(2):567-98. doi: 10.1002/cphy.c120011. PMID: 23720323; PMCID: PMC4201126.
22. Muzaffer Başak, Deniz Akan Türk Radyoloji Seminerleri, Trd, Sem 2015
23. Lev-Toaff AS, Friedman AC, Cohen LM, Radecki PD, Caroline DF. Hepatic infarcts: new observations by CT and sonography. *AJR Am J Roentgenol*. 1987 Jul;149(1):87-90. doi: 10.2214/ajr.149.1.87. PMID: 3296715.
24. Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *Surg Clin North Am*. 2010 Aug;90(4):643-53. doi: 10.1016/j.suc.2010.04.017. PMID: 20637938; PMCID: PMC4038911
25. Michels NA. Newer anatomy of the liver and its variant blood supply and collateral circulation. *Am J Surg*. 1966 Sep;112(3):337-47. doi:10.1016/0002-9610(66)90201-7. PMID: 5917302.
26. Guyton A, Hall J.E Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji 13. Baskı Ankara Güneş tıp kitabevleri 2012
27. Buob S, Johnston AN, Webster CR. Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Vet Intern Med*. 2011 Mar-Apr;25(2):169-86. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00691.x. PMID: 21382073.
28. Vilgrain V, Paradis V, Van Wettere M, Valla D, Ronot M, Rautou PE. Benign and malignant hepatocellular lesions in patients with vascular liver diseases. *Abdom Radiol (NY)*. 2018 Aug;43(8):1968-1977. doi: 10.1007/s00261-018-1502-7. PMID: 29460040.
29. Gürbüz H. Karaciğer Damar Sistemi 2004, Trakya Üniversitesi Tıp Dergisi 211133 syf 31-35
30. Mortelé KJ, Ros PR. Anatomic variants of the biliary tree: MR cholangiographic findings and clinical applications. *AJR Am J Roentgenol*. 2001 Aug;177(2):389-94. doi: 10.2214/ajr.177.2.1770389. PMID: 11461869.
31. Hyodo T, Kumano S, Kushihata F, Okada M, Hirata M, Tsuda T, Takada Y, Mochizuki T, Murakami T. CT and MR cholangiography: advantages and pitfalls in preoperative evaluation of biliary tree. *Br J Radiol*. 2012 Jul;85(1015):887-96. doi: 10.1259/bjr/21209407. Epub 2012 Mar 14. PMID: 22422383; PMCID: PMC3474084.
32. Nykonenko A, Vávra P, Zonča P. Anatomic Peculiarities of Pig and Human Liver. *Exp Clin Transplant*. 2017 Feb;15(1):21-26. PMID: 28122484.
33. Strazzabosco M, Fabris L. Functional anatomy of normal bile ducts. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008 Jun;291(6):653-60. doi: 10.1002/ar.20664. PMID: 18484611; PMCID: PMC3743051.

34. Malarkey DE, Johnson K, Ryan L, Boorman G, Maronpot RR. New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathol.* 2005;33(1):27-34. doi:10.1080/01926230590881826. PMID: 15805053.
35. Kan Z, Madoff DC. Liver anatomy: microcirculation of the liver. *Semin Intervent Radiol.* 2008 Jun;25(2):77-85. doi: 10.1055/s-2008-1076685. PMID: 2132654
36. Mahadevan, V. (2014). *Anatomy of the liver. Surgery (Oxford).* doi:10.1016/j.mpsur.2014.10.004
37. Krishna M. Microscopic anatomy of the liver. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2013 Mar 29;2(Suppl 1):S4-S7. doi: 10.1002/cld.147. PMID: 30992875; PMCID: PMC6448667.
38. Ohtani O, Ohtani Y. Lymph circulation in the liver. *Anat Rec (Hoboken).* 2008 Jun;291(6):643-52. doi: 10.1002/ar.20681. PMID: 18484610.
39. Matsuno K, Ezaki T. Dendritic cell dynamics in the liver and hepatic lymph. *Int Rev Cytol.* 2000;197:83-136. doi: 10.1016/s0074-7696(00)97003-7. PMID: 10761116.
40. Hundt M, Basit H, John S. Physiology, Bile Secretion. 2020 Oct 3. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 29262229.
41. Visentin M, Lenggenhager D, Gai Z, Kullak-Ublick GA. Drug-induced bile duct injury. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018 Apr;1864(4 Pt B):1498-1506. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.08.033. Epub 2017 Sep 4. PMID: 28882625.
42. Ben-Moshe S, Itzkovitz S. Spatial heterogeneity in the mammalian liver. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019 Jul;16(7):395-410. doi:10.1038/s41575-019-0134-x. PMID: 30936469.
43. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas syf: 338-339
44. William K, Patrick C. Netter's Essential Histology. Müftüoğlu S, Kaymaz F. Atilla P (Çeviri Editörü) Ankara: Güneş kitabevleri 2009, 312-323
45. McConnell M, Iwakiri Y. Biology of portal hypertension. *Hepatol Int.* 2018 Feb;12(Suppl 1):11-23. doi: 10.1007/s12072-017-9826-x. Epub 2017 Oct 26. PMID: 29075990; PMCID: PMC7090883.
46. Elvevold K, Smedsrød B, Martinez I. The liver sinusoidal endothelial cell: a cell type of controversial and confusing identity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008 Feb;294(2):G391-400. doi: 10.1152/ajpgi.00167.2007. Epub 2007 Dec 6. PMID: 18063708.
47. Histology and cell biology an introduction to pathology çeviri edit. Demir R. Ankara Palme yayıncılık 2006 447-474
48. Godoy P, Hewitt NJ, Albrecht U, Andersen ME, Ansari N et al.. Recent advances in 2D and 3D invitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME. *Arch Toxicol.* 2013 Aug;87(8):1315-530. doi: 10.1007/s00204-013-1078-5. Epub 2013 Aug 23. PMID: 23974980; PMCID: PMC3753504.
49. Siggers JH, Leungchavaphongse K, Ho CH, Repetto R. Mathematical model of blood and interstitial flow and lymph production in the liver. *Biomech Model Mechanobiol.* 2014 Apr;13(2):363-78. doi: 10.1007/s10237-013-0516-x. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23907149; PMCID: PMC3968522.
50. Saxena R, Theise ND, Crawford JM. Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces. *Hepatology.* 1999 Dec;30(6):1339-46. doi:10.1002/hep.510300607. PMID: 10573509.

51. .Burtis C,Ashwood ER. Textbook of clinical chemistry 3 rd Ed. London:WB Saunders Company 1999:1125-1172
52. Fu X, Sluka JP, Clendenon SG, Dunn KW, Wang Z, Klaunig JE, Glazier JA. Modeling of xenobiotic transport and metabolism in virtual hepatic lobulemodels. PLoS One. 2018 Sep 13;13(9):e0198060. doi: 10.1371/journal.pone.0198060. PMID: 30212461; PMCID: PMC6136710.
53. Kan Z, Madoff DC. Liver anatomy: microcirculation of the liver. Semin Intervent Radiol. 2008 Jun;25(2):77-85. doi: 10.1055/s-2008-1076685. PMID: 21326548; PMCID: PMC3036477.
54. Huppert SS, Iwafuchi-Doi M. Molecular regulation of mammalian hepatic architecture. Curr Top Dev Biol. 2019;132:91-136. doi:10.1016/bs.ctdb.2018.12.003. Epub 2018 Dec 26. PMID: 30797519; PMCID:PMC6590693.
55. Vernon H, Wehrle CJ, Kasi A. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Liver. 2020 Jul In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan–. PMID: 29763190.
56. Thompson WL, Takebe T. Human liver model systems in a dish. Dev Growth Differ. 2021 Jan;63(1):47-58. doi: 10.1111/dgd.12708. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33423319; PMCID: PMC7940568.
57. Patarshvili LG, Tsomaia KB, Bebiashvili IS, Kordzaia DJ, Gusev SA. Spatial Organization of the Transport of Interstitial Fluid and Lymph in Rat Liver (Scanning Electron Microscopy of Injection Replicas). Bull Exp Biol Med. 2021 Jan;170(3):395-399. doi: 10.1007/s10517-021-05074-x. Epub 2021 Jan 16. PMID:33452992.
58. Dolganiuc A. Role of lipid rafts in liver health and disease. World JGastroenterol. 2011 May 28;17(20):2520-35. doi: 10.3748/wjg.v17.i20.2520. PMID:21633657; PMCID: PMC3103810.
59. Zeilinger K, Freyer N, Damm G, Seehofer D, Knöspel F. Cell sources for in vitro human liver cell culture models. Exp Biol Med (Maywood). 2016 Sep;241(15):1684-98. doi: 10.1177/1535370216657448. Epub 2016 Jul 5. PMID: 27385595; PMCID: PMC4999620.
60. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. World J Gastroenterol. 2014 Jun 21;20(23):7312-24. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7312. PMID: 24966602; PMCID: PMC4064077.
61. Braet F, Taatjes DJ, Wisse E. Probing the unseen structure and function of liver cells through atomic force microscopy. Semin Cell Dev Biol. 2018 Jan;73:13-30. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.001. Epub 2017 Jul 6. PMID: 28688930
62. Boyer JL. Bile formation and secretion. Compr Physiol. 2013 Jul;3(3):1035-78. doi: 10.1002/cphy.c120027. PMID: 23897680; PMCID: PMC4091928.
63. Goldblatt PJ, Gunning WT 3rd. Ultrastructure of the liver and biliary tract in health and disease. Ann Clin Lab Sci. 1984 Mar-Apr;14(2):159-67. PMID: 6370090.
64. Maiers JL, Malhi H. Endoplasmic Reticulum Stress in Metabolic Liver Diseases and Hepatic Fibrosis. Semin Liver Dis. 2019 May;39(2):235-248. doi:10.1055/s-0039-1681032. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30912096; PMCID: PMC6530577.
65. Schulze RJ, Schott MB, Casey CA, Tuma PL, McNiven MA. The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. J Cell Biol. 2019 Jul 1;218(7):2096-2112. doi: 10.1083/jcb.201903090. Epub 2019 Jun 14. PMID: 31201265; PMCID: PMC6605791.
66. Schaff Z, Lapis K. Fine structure of hepatocytes during the etiology of several common pathologies. J Electron Microsc Tech. 1990 Mar;14(3):179-207. doi: 10.1002/jemt.1060140302. PMID: 2187062.

67. Vilas-Boas V, Cooreman A, Gijbels E, Van Campenhout R, Gustafson E, Ballet S, Annaert P, Cogliati B, Vinken M. Primary hepatocytes and their cultures for the testing of drug-induced liver injury. *Adv Pharmacol.* 2019;85:1-30. doi: 10.1016/bs.apha.2018.08.001. Epub 2018 Sep 1. PMID: 31307583.
68. Pessayre D, Fromenty B, Berson A, Robin MA, Lettéron P, Moreau R, Mansouri A. Central role of mitochondria in drug-induced liver injury. *Drug Metab Rev.* 2012 Feb;44(1):34-87. doi: 10.3109/03602532.2011.604086. Epub 2011 Sep 6. PMID: 21892896.
69. Hepatotoxicity due to mitochondrial dysfunction D.Pessayre, A. Mansouri
70. Lee J, Park JS, Roh YS. Molecular insights into the role of mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Pharm Res.* 2019 Nov;42(11):935-946. doi:10.1007/s12272-019-01178-1. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31571145.
71. Mansouri A, Gattolliat CH, Asselah T. Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Chronic Liver Diseases. *Gastroenterology.* 2018 Sep;155(3):629-647. doi:10.1053/j.gastro.2018.06.083. Epub 2018 Aug 2. PMID: 30012333
72. Chang CW, Lo JF, Wang XW. Roles of mitochondria in liver cancer stem cells. *Differentiation.* 2019 May-Jun;107:35-41. doi: 10.1016/j.diff.2019.04.001. Epub 2019 May 30. PMID: 31176254; PMCID: PMC6612304.
73. Gissen P, Arias IM. Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease. *J Hepatol.* 2015 Oct;63(4):1023-37. doi: 10.1016/j.jhep.2015.06.015. Epub 2015 Jun 24. PMID: 26116792; PMCID: PMC4582071.
74. Treyer A, Müsch A. Hepatocyte polarity. *Compr Physiol.* 2013 Jan;3(1):243-87. doi: 10.1002/cphy.c120009. PMID: 23720287; PMCID: PMC3697931
75. Kojima T, Yamamoto T, Murata M, Chiba H, Kokai Y, Sawada N. Regulation of the blood-biliary barrier: interaction between gap and tight junctions in hepatocytes. *Med Electron Microsc.* 2003 Sep;36(3):157-64. doi: 10.1007/s00795-003-0220-5. PMID: 14505059.
76. Tsuchiya A, Lu WY. Liver stem cells: Plasticity of the liver epithelium. *World J Gastroenterol.* 2019 Mar 7;25(9):1037-1049. doi: 10.3748/wjg.v25.i9.1037.
77. Ramachandran P, Matchett KP, Dobie R, Wilson-Kanamori JR, Henderson NC. Single-cell technologies in hepatology: new insights into liver biology and disease pathogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020 Aug;17(8):457-472. doi: 10.1038/s41575-020-0304-x. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32483353.
78. Kanamura S, Kanai K, Watanabe J. Fine structure and function of hepatocytes during development. *J Electron Microsc Tech.* 1990 Feb;14(2):92-105. doi: 10.1002/jemt.1060140204. PMID: 2406390.
79. Mak KM, Png CYM. The Hepatic Central Vein: Structure, Fibrosis, and Role in Liver Biology. *Anat Rec (Hoboken).* 2020 Jul;303(7):1747-1767. doi: 10.1002/ar.24273. Epub 2019 Oct 18. PMID: 31581357.
80. Stanger BZ. Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver. *Annu Rev Physiol.* 2015;77:179-200. doi: 10.1146/annurev-physiol-021113-170255. PMID: 25668020; PMCID: PMC5830102
81. Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 7;20(25):8082-91. doi: 10.3748/wjg.v20.i25.8082. PMID: 25009380; PMCID: PMC4081679.

82. Gilgenkrantz H, Collin de l'Hortet A. Understanding Liver Regeneration: From Mechanisms to Gotama, K. T., Soetikno, V., Louisa, M., & Arozal, W. (2019). Hepatoprotective effects of l-citrulline against doxorubicin-induced liver damage in rats: an analysis of serum biomarkers. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11, 230-233. *Regenerative Medicine. Am J Pathol.* 2018 Jun;188(6):1316-1327. doi: 10.1016/j.ajpath.2018.03.008. Epub 2018 Apr 16. PMID: 29673755.
83. Messina A, Luce E, Hussein M, Dubart-Kupperschmitt A. Pluripotent-Stem-Cell-Derived Hepatic Cells: Hepatocytes and Organoids for Liver Therapy and Regeneration. *Cells.* 2020 Feb 12;9(2):420. doi: 10.3390/cells9020420. PMID:32059501; PMCID: PMC7072243
84. Ozaki M. Cellular and molecular mechanisms of liver regeneration: Proliferation, growth, death and protection of hepatocytes. *Semin Cell Dev Biol.* 2020 Apr;100:62-73. doi: 10.1016/j.semcdb.2019.10.007. Epub 2019 Oct 25. PMID:31669133.
85. Tsutsui H, Nishiguchi S. Importance of Kupffer cells in the development of acute liver injuries in mice. *Int J Mol Sci.* 2014 May 5;15(5):7711-30. doi:10.3390/ijms15057711. PMID: 24802875; PMCID: PMC4057701
86. Yuan F, Zhang W, Mu D, Gong J. Kupffer cells in immune activation and tolerance toward HBV/HCV infection. *Adv Clin Exp Med.* 2017 Jul;26(4):739-745. doi: 10.17219/acem/62759. PMID: 28691411.
87. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int.* 2006 Dec;26(10):1175-86. doi: 10.1111/j.1478-3231.2006.01342.x. PMID: 17105582.
88. Li P, He K, Li J, Liu Z, Gong J. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. *Mol Immunol.* 2017 May;85:222-229. doi:10.1016/j.molimm.2017.02.018. Epub 2017 Mar 15. PMID: 28314211.
89. Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol.* 2017 May;17(5):306-321. doi: 10.1038/nri.2017.11. Epub 2017 Mar 20. PMID: 28317925.
90. Sato K, Hall C, Glaser S, Francis H, Meng F, Alpini G. Pathogenesis of Kupffer Cells in Cholestatic Liver Injury. *Am J Pathol.* 2016 Sep;186(9):2238-47. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.06.003. Epub 2016 Jul 22. PMID: 27452297; PMCID: PMC5012503.
91. David BA, et al. Combination of Mass Cytometry and Imaging Analysis Reveals Origin, Location, and Functional Repopulation of Liver Myeloid Cells in Mice. *Gastroenterology.* 2016 Dec;151(6):1176-1191. doi: 10.1053/j.gastro.2016.08.024. Epub 2016 Aug 26. PMID: 27569723.
92. MacPhee PJ, Schmidt EE, Groom AC. Evidence for Kupffer cell migration along liver sinusoids, from high-resolution in vivo microscopy. *Am J Physiol.* 1992 Jul;263(1 Pt 1):G17-23. doi: 10.1152/ajpgi.1992.263.1.G17. PMID: 1636711.
93. Naito M, Hasegawa G. Differentiation and function of Kupffer cells: medical electron microscopy.
94. de Leeuw AM, Brouwer A, Barelds RJ, Knook DL. Maintenance cultures of Kupffer cells isolated from rats of various ages: ultrastructure, enzyme cytochemistry, and endocytosis. *Hepatology.* 1983 Jul-Aug;3(4):497-506. doi: 10.1002/hep.1840030405. PMID: 6345331.
95. Dixon, L. J., Barnes, M., Tang, H., Pritchard, M. T., & Nagy, L. E. (2013). *Kupffer Cells in the Liver. Comprehensive Physiology.* doi:10.1002/cphy.c120026
96. Sun YY, Li XF, Meng XM, Huang C, Zhang L, Li J. Macrophage Phenotype in Liver Injury and Repair. *Scand J Immunol.* 2017 Mar;85(3):166-174. doi:10.1111/sji.12468. PMID: 27491503.

97. Hellerbrand C. Hepatic stellate cells--the pericytes in the liver. *PflugersArch.* 2013 Jun;465(6):775-8. doi: 10.1007/s00424-012-1209-5. Epub 2013 Jan 5. PMID: 23292551.
98. Häussinger D, Kordes C. Space of Disse: a stem cell niche in the liver. *Biol Chem.* 2019 Dec 18;401(1):81-95. doi: 10.1515/hsz-2019-0283. PMID: 31318687.
99. Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol.* 2013 Oct;3(4):1473-92. doi: 10.1002/cphy.c120035. PMID: 24265236.
100. Braet F, Taatjes DJ, Wisse E. Probing the unseen structure and function of liver cells through atomic force microscopy. *Semin Cell Dev Biol.* 2018 Jan;73:13-30. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.001. Epub 2017 Jul 6. PMID: 28688930.
101. Senoo H, Yoshikawa K, Morii M, Miura M, Imai K, Mezaki Y. Hepatic stellate cell (vitamin A-storing cell) and its relative--past, present and future. *Cell Biol Int.* 2010 Dec;34(12):1247-72. doi: 10.1042/CBI20100321. PMID: 21067523
102. Kostallari E, Shah VH. Pericytes in the Liver. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1122:153-167. doi: 10.1007/978-3-030-11093-2_9. PMID: 30937868; PMCID: PMC7137998.
103. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014 Jun 21;20(23):7312-24. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7312. PMID: 24966602; PMCID: PMC4064077.
104. Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainier DY. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest.* 2013 May;123(5):1902-10. doi: 10.1172/JCI66369. Epub 2013 May 1. PMID: 23635788; PMCID: PMC3635734.
105. Senoo H, Kojima N, Sato M. Vitamin A-storing cells (stellate cells). *Vitam Horm.* 2007;75:131-59. doi: 10.1016/S0083-6729(06)75006-3. PMID: 17368315.
106. Sato K, Kennedy L, Liangpunsakul S, Kusumanchi P, Yang Z, Meng F, Glaser S, Francis H, Alpini G. Intercellular Communication between Hepatic Cells in Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019 May 2;20(9):2180. doi: 10.3390/ijms20092180. PMID: 31052525; PMCID: PMC6540342.
107. Li P, Zhou J, Li W, Wu H, Hu J, Ding Q, Lü S, Pan J, Zhang C, Li N, Long M. Characterizing liver sinusoidal endothelial cell fenestrae on soft substrates upon AFM imaging and deep learning. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2020 Dec;1864(12):129702. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129702. Epub 2020 Aug 16. PMID: 32814074.
108. Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, McCuskey RS. The liver sieve: considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology.* 1985 Jul- Aug;5(4):683-92. doi: 10.1002/hep.1840050427. PMID: 3926620.
109. Jacobs F, Wisse E, De Geest B. The role of liver sinusoidal cells in hepatocyte-directed gene transfer. *Am J Pathol.* 2010 Jan;176(1):14-21. doi: 10.2353/ajpath.2010.090136. Epub 2009 Nov 30. PMID: 19948827; PMCID: PMC2797863.
110. Di Martino J, Mascalchi P, Legros P, Lacomme S, Gontier E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Moreau V, Saltel F. STED microscopy: A simplified method for liver sinusoidal endothelial fenestrae analysis. *Biol Cell.* 2018 Jul;110(7):159-168. doi: 10.1111/boc.201800016. Epub 2018 Jun 25. PMID: 29808906.
111. Braet F, De Zanger R, Baekeland M, Crabbé E, Van Der Smissen P, Wisse E. Structure and dynamics of the fenestrae-associated cytoskeleton of rat liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology.* 1995 Jan;21(1):180-9. PMID: 7806153.

112. Cogger VC, Mohamad M, Solon-Biet SM, Senior AM, Warren A, O'Reilly JN, Tung BT, Svistounov D, McMahon AC, Fraser R, Raubenheimer D, Holmes AJ, Simpson SJ, Le Couteur DG. Dietary macronutrients and the aging liver sinusoidal endothelial cell. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016 May 1;310(9):H1064-70. doi: 10.1152/ajpheart.00949.2015. Epub 2016 Feb 26. PMID: 26921440.
113. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, Durand F, Moreau R, Valla D, Rautou PE. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017 Jan;66(1):212-227. doi: 10.1016/j.jhep.2016.07.009. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27423426.
114. Meyer J, Lacotte S, Morel P, Gonelle-Gispert C, Bühler L. An optimized method for mouse liver sinusoidal endothelial cell isolation. *Exp Cell Res*. 2016 Dec 10;349(2):291-301. doi: 10.1016/j.yexcr.2016.10.024. Epub 2016 Nov 1. PMID: 27815020.
115. Liu P, Chen L, Zhang H. Natural Killer Cells in Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma and the NK Cell-Based Immunotherapy. *J Immunol Res*. 2018 Sep 4;2018:1206737. doi: 10.1155/2018/1206737. PMID: 30255103; PMCID: PMC6142725.
116. Luo D, Vanderkerken K, Bouwens L, Kuppen PJ, Crabbé E, Wisse E. The number and distribution of hepatic natural killer cells (pit cells) in normal rat liver: an immunohistochemical study. *Hepatology*. 1995 Jun;21(6):1690-4. PMID: 7768514.
117. Peng H, Wisse E, Tian Z. Liver natural killer cells: subsets and roles in liver immunity. *Cell Mol Immunol*. 2016 May;13(3):328-36. doi: 10.1038/cmi.2015.96. Epub 2015 Dec 7. PMID: 26639736; PMCID: PMC4856807.
118. Nakatani K, Kaneda K, Seki S, Nakajima Y. Pit cells as liver-associated natural killer cells: morphology and function. *Med Electron Microsc*. 2004 Mar;37(1):29-36. doi: 10.1007/s00795-003-0229-9. PMID: 15057602.
119. Peng H, Tian Z. NK cells in liver homeostasis and viral hepatitis. *Sci China Life Sci*. 2018 Dec;61(12):1477-1485. doi: 10.1007/s11427-018-9407-2. Epub 2018 Nov 2. PMID: 30421296.
120. Gao, Bin, Svetlana Radaeva, and Ogyi Park. "Liver natural killer and natural killer T cells: immunobiology and emerging roles in liver diseases." *Journal of leukocyte biology* 86.3 (2009): 513-528.
121. Kaneda K, Wake K. Distribution and morphological characteristics of the pit cells in the liver of the rat. *Cell Tissue Res*. 1983;233(3):485-505. doi: 10.1007/BF00212219. PMID: 6627348.
122. Sumpter TL, Lunz JG 3rd, Castellaneta A, Matta B, Tokita D, Turnquist HR, Mazariegos GV, Demetris AJ, Thomson AW. Dendritic cell immunobiology in relation to liver transplant outcome. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2009 Jun 1;1:99-114. doi: 10.2741/E11. PMID: 19482629.
123. Huang H, Lu Y, Zhou T, Gu G, Xia Q. Innate Immune Cells in Immune Tolerance After Liver Transplantation. *Front Immunol*. 2018 Nov 9;9:2401. doi: 10.3389/fimmu.2018.02401. PMID: 30473690; PMCID: PMC6237933.
124. Dou L, Ono Y, Chen YF, Thomson AW, Chen XP. Hepatic Dendritic Cells, the Tolerogenic Liver Environment, and Liver Disease. *Semin Liver Dis*. 2018 May;38(2):170-180. doi: 10.1055/s-0038-1646949. Epub 2018 Jun 5. Erratum in: *Semin Liver Dis*. 2018 Aug;38(3):298. PMID: 29871022.
125. Soysa R, Wu X, Crispe IN. Dendritic cells in hepatitis and liver transplantation. *Liver Transpl*. 2017 Nov;23(11):1433-1439. doi: 10.1002/lt.24833. Epub 2017 Oct 9. PMID: 28752938
126. Nakamoto S, Ito Y, Nishizawa N, Goto T, Kojo K, Kumamoto Y, Watanabe M, Narumiya S, Majima M. EP3 signaling in dendritic cells promotes liver repair by inducing IL-13-mediated

- macrophage differentiation in mice. *FASEB J.* 2020 Apr;34(4):5610-5627. doi: 10.1096/fj.201901955R. Epub 2020 Feb 28. PMID: 32112485
127. Almeda-Valdes P, Aguilar Olivos NE, Barranco-Fragoso B, Uribe M, Méndez- Sánchez N. The Role of Dendritic Cells in Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int.* 2015;2015:768071. doi: 10.1155/2015/768071. Epub 2015 Aug 3. PMID: 26339640; PMCID: PMC4538585.
 128. Xing XK, Wu HY, Feng HG, Yuan ZQ. Immune function of nonparenchymal liver cells. *Genet Mol Res.* 2016 Mar 24;15(1). doi: 10.4238/gmr.15018524. PMID: 27050984.
 129. Lau AH, Thomson AW. Dendritic cells and immune regulation in the liver. *Gut.* 2003 Feb;52(2):307-14. doi: 10.1136/gut.52.2.307. PMID: 12524419; PMCID: PMC1774973.
 130. Koike H, Taniguchi H. Characteristics of hepatic stem/progenitor cells in the fetal and adult liver. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2012 Nov;19(6):587-93. doi: 10.1007/s00534-012-0544-4. PMID: 23010995.
 131. Bird TG, Lorenzini S, Forbes SJ. Activation of stem cells in hepatic diseases. *Cell Tissue Res.* 2008 Jan;331(1):283-300. doi: 10.1007/s00441-007-0542-z. Epub 2007 Nov 29. PMID: 18046579; PMCID: PMC3034134.
 132. Sangan CB, Tosh D. Hepatic progenitor cells. *Cell Tissue Res.* 2010 Nov;342(2):131-7. doi: 10.1007/s00441-010-1055-8. Epub 2010 Oct 19. PMID: 20957497.
 133. Roskams T, Katoonizadeh A, Komuta M. Hepatic progenitor cells: an update. *Clin Liver Dis.* 2010 Nov;14(4):705-18. doi: 10.1016/j.cld.2010.08.003. PMID: 21055691.
 134. Roskams T, De Vos R, Van Eyken P, Myazaki H, Van Damme B, Desmet V. Hepatic OV-6 expression in human liver disease and rat experiments: evidence for hepatic progenitor cells in man. *J Hepatol.* 1998 Sep;29(3):455-63. doi: 10.1016/s0168-8278(98)80065-2. PMID: 9764994.
 135. Libbrecht L, Roskams T. Hepatic progenitor cells in human liver diseases. *Semin Cell Dev Biol.* 2002 Dec;13(6):389-96. doi: 10.1016/s1084952102001258. PMID: 12468238.
 136. Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017 Jun;46(2):409-420. doi: 10.1016/j.gtc.2017.01.011. PMID: 28506372.
 137. Wei S, Tang J, Cai X. Founder cells for hepatocytes during liver regeneration: from identification to application. *Cell Mol Life Sci.* 2020 Aug;77(15):2887-2898. doi: 10.1007/s00018-020-03457-3. Epub 2020 Feb 14. PMID: 32060582.
 138. Kaur S, Siddiqui H, Bhat MH. Hepatic Progenitor Cells in Action: Liver Regeneration or Fibrosis? *Am J Pathol.* 2015 Sep;185(9):2342-50. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.06.004. Epub 2015 Aug 6. PMID: 26255773.
 139. Intagliata NM, Davis JPE, Caldwell SH. Coagulation Pathways, Hemostasis, and Thrombosis in Liver Failure. *Semin Respir Crit Care Med.* 2018 Oct;39(5):598-608. doi: 10.1055/s-0038-1673658. Epub 2018 Nov 28. PMID: 30485890.
 140. Forkin KT, Colquhoun DA, Nemergut EC, Huffmyer JL. The Coagulation Profile of End-Stage Liver Disease and Considerations for Intraoperative Management. *Anesth Analg.* 2018 Jan;126(1):4661. doi: 10.1213/ANE.0000000000002394. PMID: 28795966.
 141. Lisman T, Kwaan HC. Hemostatic Dysfunction in Liver Diseases. *Semin Thromb Hemost.* 2015 Jul;41(5):445-6. doi: 10.1055/s-0035-1550441. Epub 2015 Jun 30. PMID: 26126004.

142. Kopec AK, Luyendyk JP. Coagulation in liver toxicity and disease: role of hepatocyte tissue factor. *Thromb Res.* 2014 May;133 Suppl 1(0 1):S57-9. doi: 10.1016/j.thromres.2014.03.023. PMID: 24759146; PMCID: PMC4034136.
143. Karaciğer hastalıklarında koagülasyon bozuklukları DR.Cafer Adıgüzel Türk Hematoloji Derneği Hematolog 2012 2:2
144. Reshetnyak VI. Physiological and molecular biochemical mechanisms of bile formation. *World J Gastroenterol.* 2013 Nov 14;19(42):7341-60. doi: 10.3748/wjg.v19.i42.7341. PMID: 24259965; PMCID: PMC3831216.
145. Hişmioğulları AA, Bozdayi AM, Rahman K. Biliary lipid secretion. *Turk J Gastroenterol.* 2007 Jun;18(2):65-70. PMID: 17602352.
146. Üçok, Kağan, et al. "Safra sistemi fizyolojisi." *Journal of Surgical Arts* 3.1 (2010): 1-8.
147. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol.* 2014 Jan;4(1):177-97. doi: 10.1002/cphy.c130024. PMID: 24692138; PMCID: PMC4050641.
148. Trefts E, Gannon M, Wasserman DH. The liver. *Curr Biol.* 2017 Nov6;27(21):R1147-R1151. doi: 10.1016/j.cub.2017.09.019. PMID: 29112863; PMCID: PMC5897118.
149. Erhan, Füsün, and Levent Ergün. "Kanatlı ve memeli karaciğerinde karbonhidrat ve yağ metabolizmasının karşılaştırılması." *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute* 6.1 (2018): 33-42.
150. Huang TY, Goldsmith FR, Fuller SE, Simon J, Batdorf HM, Scott MC, Essajee NM, Brown JM, Burk DH, Morrison CD, Burke SJ, Collier JJ, Noland RC. Response of Liver Metabolic Pathways to Ketogenic Diet and Exercise Are Not Additive. *Med Sci Sports Exerc.* 2020 Jan;52(1):37-48. doi: 10.1249/MSS.0000000000002105. PMID: 31389908; PMCID: PMC6910928.
151. Schulze RJ, Schott MB, Casey CA, Tuma PL, McNiven MA. The cell biology of the hepatocyte: A membrane trafficking machine. *J Cell Biol.* 2019 Jul 1;218(7):2096-2112. doi: 10.1083/jcb.201903090. Epub 2019 Jun 14. PMID: 31201265; PMCID: PMC6605791.
152. Jones JG. Hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia.* 2016 Jun;59(6):1098-103. doi: 10.1007/s00125-016-3940-5. Epub 2016 Apr 5. PMID: 27048250.
153. Ding HR, Wang JL, Ren HZ, Shi XL. Lipometabolism and Glycometabolism in Liver Diseases. *Biomed Res Int.* 2018 Dec 12;2018:1287127. doi: 10.1155/2018/1287127. PMID: 31205932; PMCID: PMC6530156.
154. Sözbilir NB, Bayşu N. 2008. *Biyokimya. Güneş Tıp Kitabevleri*, 101-500.
155. Hou Y., Hu S., Li X., He W., Wu G. (2020) Amino Acid Metabolism in the Liver: Nutritional and Physiological Significance. In: Wu G. (eds) *Amino Acids in Nutrition and Health. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1265. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45328-2_2
156. Kumar, Rajiv. "The metabolism and mechanism of action of 1, 25-dihydroxyvitamin D3." *Kidney international* 30.6 (1986): 793-803
157. Doherty DG. Immunity, tolerance and autoimmunity in the liver: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2016 Jan;66:60-75. doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.020. Epub 2015 Sep 7. PMID: 26358406.

158. Kubes P, Jenne C. Immune Responses in the Liver. *Annu Rev Immunol*. 2018 Apr 26;36:247-277. doi: 10.1146/annurev-immunol-051116-052415. Epub 2018 Jan 12. PMID: 29328785.
159. Lerche-Langrand C, Toutain HJ. Precision-cut liver slices: characteristics and use for in vitro pharmaco-toxicology. *Toxicology*. 2000 Nov 16;153(1-3):221-53. doi: 10.1016/s0300-483x(00)00316-4. PMID: 11090959.
160. Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug Metabolism in the Liver. *Clin Liver Dis*. 2017 Feb;21(1):1-20. doi: 10.1016/j.cld.2016.08.001. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27842765.
161. Jetter A, Kullak-Ublick GA. Drugs and hepatic transporters: A review. *Pharmacol Res*. 2020 Apr;154:104234. doi: 10.1016/j.phrs.2019.04.018. Epub 2019 Apr 17. PMID: 31004787.
162. Sağlıklı Erişkinlerde eritrositer parametreler demir ve Eritropoetin ilişkisinin araştırılması Gönül Şimşek 1988
163. Wang L, Yu H, Cheng H, He K, Fang Z, Ge L, Cheng T, Jin Y. Deletion of Stk40 impairs definitive erythropoiesis in the mouse fetal liver. *Cell Death Dis*. 2017 Mar 30;8(3):e2722. doi: 10.1038/cddis.2017.148. PMID: 28358362; PMCID: PMC5386544.
164. Renu K, V G A, P B TP, Arunachalam S. Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy - An update. *Eur J Pharmacol*. 2018 Jan 5;818:241-253. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.10.043. Epub 2017 Oct 23. PMID: 29074412.
165. Koleini N, Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget*. 2017 Jul 11;8(28):46663-46680. doi: 10.18632/oncotarget.16944. PMID: 28445146; PMCID: PMC5542301.
166. Varela-López A, Battino M, Navarro-Hortal MD, Giampieri F, Forbes-Hernández TY, Romero-Márquez JM, Collado R, Quiles JL. An update on the mechanisms related to cell death and toxicity of doxorubicin and the protective role of nutrients. *Food Chem Toxicol*. 2019 Dec;134:110834. doi: 10.1016/j.fct.2019.110834. Epub 2019 Sep 29. PMID: 31577924.
167. Songbo M, Lang H, Xinyong C, Bin X, Ping Z, Liang S. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Toxicol Lett*. 2019 Jun 1;307:41-48. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.02.013. Epub 2019 Feb 25. PMID: 30817977.
168. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, Altman RB. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics*. 2011 Jul;21(7):440-6. doi: 10.1097/FPC.0b013e32833ffb56. PMID: 21048526; PMCID: PMC3116111.
169. Smuder AJ. Exercise stimulates beneficial adaptations to diminish doxorubicin-induced cellular toxicity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2019 Nov 1;317(5):R662-R672. doi: 10.1152/ajpregu.00161.2019. Epub 2019 Aug 28. PMID: 31461307; PMCID: PMC6879842.
170. Speth PA, van Hoesel QG, Haanen C. Clinical pharmacokinetics of doxorubicin. *Clin Pharmacokinet*. 1988 Jul;15(1):15-31. doi: 10.2165/00003088-198815010-00002. PMID: 3042244.
171. Doksorubisin kaynaklı ovaryum hasarında adipoz kökenli mezenkimal kök hücrelerin PTEN/AKT/FOX3A yolağı ve folikülogenez üzerine etkilerinin incelenmesi, Doktora tezi Arş. Gör. Hatice Oruç Demirbağ Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji ABD 2020

172. Armstrong J, Dass CR. Doxorubicin Action on Mitochondria: Relevance to Osteosarcoma Therapy? *Curr Drug Targets.* 2018;19(5):432-438. doi: 10.2174/1389450116666150416115852. PMID: 25882220.
173. Lipshultz SE, Alvarez JA, Scully RE. Anthracycline associated cardiotoxicity in survivors of childhood cancer. *Heart.* 2008 Apr;94(4):525-33. doi: 10.1136/hrt.2007.136093. PMID: 18347383.
174. Wang Y, Mei X, Yuan J, Lu W, Li B, Xu D. Taurine zinc solid dispersions attenuate doxorubicin-induced hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015 Nov 15;289(1):1-11. doi: 10.1016/j.taap.2015.08.017. Epub 2015 Sep 1. PMID: 26335259.
175. Mohajeri M, Sahebkar A. Protective effects of curcumin against doxorubicin-induced toxicity and resistance: A review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2018 Feb;122:30-51. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.12.005. Epub 2017 Dec 14. PMID: 29458788.
176. Aktaş I, Özmen Ö, Tutun H, Yalçın A, Türk A. Artemisinin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Biotech Histochem.* 2020 Feb;95(2):121-128. doi: 10.1080/10520295.2019.1647457. Epub 2019 Sep 6. PMID: 32064961.
177. Navarro-Hortal MD, Varela-López A, Romero-Márquez JM, Rivas-García L, Speranza L, Battino M, Quiles JL. Role of flavonoids against adriamycin toxicity. *Food Chem Toxicol.* 2020 Dec;146:111820. doi: 10.1016/j.fct.2020.111820. Epub 2020 Oct 17. PMID: 33080329.
178. Rudolfová P, Hanušová V, Skálová L, Bártíková H, Matoušková P, Boušová I. Effect of selected catechins on doxorubicin antiproliferative efficacy and hepatotoxicity in vitro. *Acta Pharm.* 2014 Jun;64(2):199-209. doi: 10.2478/acph-2014-0018. PMID: 24914720.
179. Sikandar A, Farhat K, Afzal A, Ajmal K, Laeeq M, Khokhar A. Protective Effects Of Trimetazidine Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity And Hepatotoxicity In Mice. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2020 Jul-Sep;32(3):304-309. PMID: 32829541.
180. Shokrzadeh M, Bagheri A, Ghassemi-Barghi N, Rahmanian N, Eskandani M. Doxorubicin and doxorubicin-loaded nanoliposome induce senescence by enhancing oxidative stress, hepatotoxicity, and in vivo genotoxicity in male Wistar rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2021 Aug;394(8):1803-1813. doi: 10.1007/s00210-021-02119-w. Epub 2021 Jul 5. PMID: 34219194.
181. Nagai K, Oda A, Konishi H. Theanine prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity by reducing intrinsic apoptotic response. *Food Chem Toxicol.* 2015 Apr;78:147-52. doi: 10.1016/j.fct.2015.02.009. Epub 2015 Feb 11. PMID: 25680506.
182. Jacevic V, Djordjevic A, Srdjenovic B, Milic-Tores V, Segrt Z, Dragojevic-Simic V, Kuca K. Fullereneol nanoparticles prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity in rats. *Exp Mol Pathol.* 2017 Apr;102(2):360-369. doi:10.1016/j.yexmp.2017.03.005. Epub 2017 Mar 16. PMID: 28315688.
183. Spears N, Lopes F, Stefansdottir A, Rossi V, De Felici M, Anderson RA, Klinger FG. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. *Hum Reprod Update.* 2019 Nov 5;25(6):673-693. doi: 10.1093/humupd/dmz027. PMID: 31600388; PMCID: PMC6847836.
184. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther.* 2014 Oct-Dec;10(4):853-8. doi: 10.4103/0973-1482.139267. PMID: 25579518.

185. Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S. T., Arjumand, W., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2013). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. *Toxicology mechanisms and methods*, 23(5), 337-345.
186. Tacar O, Sriamornsak P, Dass CR. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol*. 2013 Feb;65(2):157-70. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x. Epub 2012 Aug 2. PMID: 23278683.
187. Niu QY, Liu YT, Li ZY, Qin XM. [Metabolomics study of doxorubicin induced hepatotoxicity]. *Yao Xue Xue Bao*. 2015 Jun;50(6):708-13. Chinese. PMID: 26521441.
188. Cengiz O, Baran M, Balcioglu E, Suna PA, Bilgici P, Goktepe O, Onder GO, Goc R, Yay A. Use of selenium to ameliorate doxorubicin induced hepatotoxicity by targeting pro-inflammatory cytokines. *Biotech Histochem*. 2021 Jan;96(1):67-75. doi: 10.1080/10520295.2020.1760353. Epub 2020 May 13. PMID: 32400214.
189. Liu X, Qiu Y, Liu Y, Huang N, Hua C, Wang Q, Wu Z, Lu J, Song P, Xu J, Li P, Yin Y. Citronellal ameliorates doxorubicin-induced hepatotoxicity via antioxidative stress, antiapoptosis, and proangiogenesis in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021 Feb;35(2):e22639. doi: 10.1002/jbt.22639. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33051984.
190. Ayla, Ş., Oktar, H., TANRIVERDİ, G., Cengiz, M., ÖZKILIÇ, A. Ç., Can, G., ... & Batur, Ş. (2009). DOKSORUBİSİN NEDENLİ SIĞAN HEPATOTOKSİSİTESİNE NİKOTİNAİİDİN (KORUYUCU) ETKİSİ. *Anadolu University Journal of Sciences & Technology*, 10(1).
191. Wali AF, Rashid S, Rashid SM, Ansari MA, Khan MR, Haq N, Alhareth DY, Ahmad A, Rehman MU. Naringenin Regulates Doxorubicin-Induced Liver Dysfunction: Impact on Oxidative Stress and Inflammation. *Plants (Basel)*. 2020 Apr 24;9(4):550. doi: 10.3390/plants9040550. PMID: 32344607; PMCID: PMC7238146.
192. Prasanna PL, Renu K, Valsala Gopalakrishnan A. New molecular and biochemical insights of doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Life Sci*. 2020 Jun 1;250:117599. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117599. Epub 2020 Mar 29. PMID: 32234491.
193. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Velmurugan BK, Jacob JA, Karuppusamy I. Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life Sci*. 2018 May
194. Zhao X, Jin Y, Li L, Xu L, Tang Z, Qi Y, Yin L, Peng J. MicroRNA-128-3p aggravates doxorubicin-induced liver injury by promoting oxidative stress via targeting Sirtuin-1. *Pharmacol Res*. 2019 Aug;146:104276. doi: 10.1016/j.phrs.2019.104276. Epub 2019 May 18. Erratum in: *Pharmacol Res*. 2019 Nov 26;:104474. PMID: 31112750.
195. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Oliveira PJ, Moreira PI, Magalhães J, Ascensão A. The beneficial role of exercise in mitigating doxorubicin-induced Mitochondrionopathy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018 Apr;1869(2):189-199. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.01.002. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29408395.
196. Prša P, Karademir B, Biçim G, Mahmoud H, Dahan I, Yalçın AS, Mahajna J, Milisav I. The potential use of natural products to negate hepatic, renal and neuronal toxicity induced by cancer therapeutics. *Biochem Pharmacol*. 2020 Mar;173:113551. doi: 10.1016/j.bcp.2019.06.007. Epub 2019 Jun 8. PMID: 31185225.
197. Mandziuk S, Matysiak W, Korga A, Burdan F, Pasnik I, Hejna M, Korobowicz-Markiewicz A, Grzycka-Kowalczyk L, Kowalczyk M, Poleszak E, Jodłowska-Jedrych B, Dudka J. Tirapazamine has no Effect on Hepatotoxicity of Cisplatin and 5-fluorouracil but Interacts with Doxorubicin Leading to Side Changes in Redox Equilibrium. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016 Sep;119(3):330-40. doi: 10.1111/bcpt.12576. Epub 2016 May 6. PMID: 26990033.

198. Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa M. Curcumin and Health. *Molecules*. 2016 Feb 25;21(3):264. doi:10.3390/molecules21030264. PMID: 26927041; PMCID: PMC6273481.
199. Lestari ML, Indrayanto G. Curcumin. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol*. 2014;39:113-204. doi: 10.1016/B978-0-12-800173-8.00003-9. PMID: 24794906.
200. Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules*. 2019 Aug 13;24(16):2930. doi:10.3390/molecules24162930. PMID: 31412624; PMCID: PMC6720683.
201. Farzaei MH, Zobeiri M, Parvizi F, El-Senduny FF, Marmouzi I, Coy-Barrera E, Naseri R, Nabavi SM, Rahimi R, Abdollahi M. Curcumin in Liver Diseases: A Systematic Review of the Cellular Mechanisms of Oxidative Stress and Clinical Perspective. *Nutrients*. 2018 Jul 1;10(7):855. doi: 10.3390/nu10070855. PMID: 29966389; PMCID: PMC6073929.
202. Unlu A, Nayir E, Dogukan Kalenderoglu M, Kirca O, Ozdogan M. Curcumin (Turmeric) and cancer. *J BUON*. 2016 Sept-Oct;21(5):1050-1060. PMID: 27837604.
203. Dei Cas M, Ghidoni R. Dietary Curcumin: Correlation between Bioavailability and Health Potential. *Nutrients*. 2019 Sep 8;11(9):2147. doi: 10.3390/nu11092147. PMID: 31500361; PMCID: PMC6770259.
204. Rahmani AH, Alsahli MA, Aly SM, Khan MA, Aldebasi YH. Role of Curcumin in Disease Prevention and Treatment. *Adv Biomed Res*. 2018 Feb 28;7:38. doi: 10.4103/abr.abr_147_16. PMID: 29629341; PMCID: PMC5852989.
205. Pescosolido N, Giannotti R, Plateroti AM, Pascarella A, Nebbioso M. Curcumin: therapeutical potential in ophthalmology. *Planta Med*. 2014 Mar;80(4):249-54. doi: 10.1055/s-0033-1351074. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24323538.
206. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T, Samini F. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney. *Biomed Pharmacother*. 2017 Mar;87:223-229. doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.105. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28061405.
207. Anand, P., Sundaram, C., Jhurani, S., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin and cancer: an "old-age" disease with an "age-old" solution. *Cancer letters*, 267(1), 133-164.
208. Schulze-Tanzil G, Mobasheri A, Sendzik J, John T, Shakibaei M. Effects of curcumin (diferuloylmethane) on nuclear factor kappaB signaling in interleukin-1beta-stimulated chondrocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 2004Dec;1030:578-86. doi: 10.1196/annals.1329.067. PMID: 15659840.
209. Vera-Ramirez L, Pérez-Lopez P, Varela-Lopez A, Ramirez-Tortosa M, Battino M, Quiles JL. Curcumin and liver disease. *Biofactors*. 2013 Jan-Feb;39(1):88-100. doi: 10.1002/biof.1057. Epub 2013 Jan 10. PMID: 23303639.
210. Trujillo J, Chirino YI, Molina-Jijón E, Andérica-Romero AC, Tapia E, Pedraza-Chaverrí J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Recent findings. *Redox Biol*. 2013 Sep 17;1(1):448-56. doi: 10.1016/j.redox.2013.09.003. PMID: 24191240; PMCID: PMC3814973.
211. Khan H, Ullah H, Nabavi SM. Mechanistic insights of hepatoprotective effects of curcumin: Therapeutic updates and future prospects. *Food Chem Toxicol*. 2019 Feb;124:182-191. doi: 10.1016/j.fct.2018.12.002. Epub 2018 Dec 5. PMID: 30529260.

212. Saadati S, Hatami B, Yari Z, Shahrbafe MA, Eghtesad S, Mansour A, Poustchi H, Hedayati M, Aghajani-Pasha M, Sadeghi A, Hekmatdoost A. The effects of curcumin supplementation on liver enzymes, lipid profile, glucose homeostasis, and hepatic steatosis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Clin Nutr.* 2019 Mar;73(3):441-449. doi: 10.1038/s41430-018-0382-9. Epub 2019 Jan 4. PMID: 30610213.
213. Nozari E, Moradi A, Samadi M. Effect of Atorvastatin, Curcumin, and Quercetin on miR-21 and miR-122 and their correlation with TGFβ1 expression in experimental liver fibrosis. *Life Sci.* 2020 Oct 15;259:118293. doi:10.1016/j.lfs.2020.118293. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32822714.
214. Akbik D, Ghadiri M, Chrzanowski W, Rohanizadeh R. Curcumin as a wound healing agent. *Life Sci.* 2014 Oct 22;116(1):1-7. doi: 10.1016/j.lfs.2014.08.016. Epub 2014 Sep 6. PMID: 25200875.
215. Mohammadi A, Blesso CN, Barreto GE, Banach M, Majeed M, Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization and function in response to curcumin, a diet-derived polyphenol, as an immunomodulatory agent. *J Nutr Biochem.* 2019 Apr;66:1-16. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.12.005. Epub 2018 Dec 21. PMID:30660832.
216. Sun Y, Peng ML. [Recent advances in curcumin and its derivatives for treatment of liver diseases]. *Yao Xue Xue Bao.* 2014 Nov;49(11):1483-90. Chinese. PMID: 25757271.
217. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol.* 2007;595:1-75. doi: 10.1007/978-0-387-46401-5_1. PMID:17569205.
218. Darvesh AS, Aggarwal BB, Bishayee A. Curcumin and liver cancer: a review. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012 Jan;13(1):218-28. doi:10.2174/138920112798868791. PMID: 21466422
219. Xu XY, Meng X, Li S, Gan RY, Li Y, Li HB. Bioactivity, Health Benefits, and Related Molecular Mechanisms of Curcumin: Current Progress, Challenges, and Perspectives. *Nutrients.* 2018 Oct 19;10(10):1553. doi: 10.3390/nu10101553. PMID: 30347782; PMCID: PMC6213156.
220. Yan, C., Zhang, Y., Zhang, X., Aa, J., Wang, G., & Xie, Y. (2018). Curcumin regulates endogenous and exogenous metabolism via Nrf2-FXR-LXR pathway in NAFLD mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 274-281.
221. Liu, Z., Huang, P., Law, S., Tian, H., Leung, W., & Xu, C. (2018). Preventive effect of curcumin against chemotherapy-induced side-effects. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1374.
222. Sakr, S. A., Mahran, H. A., & Lamfon, H. A. (2011). Protective effect of ginger (*Zingiber officinale*) on adriamycin-induced hepatotoxicity in albino rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(1), 133-140.
223. Şaker D. Deneysel Spinal Kord Yaralanmasında Mir-20a ve Mir-125b Ekspresyonlarının Nöronal Apoptoz ve Enflamasyon Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana/Türkiye. 2017
224. Coşkun G. Yetişkin Leydig Hücrelerinin Farklanmaları Sırasında Osteokalsin'in Testosteron ve İnsülin-Benzeri Faktör 3 Sentezine Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana/Türkiye. 2018
225. Ersoy, O. (2012). Karaciğer enzim yüksekliğinin değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, 12(3), 129-135.

226. Gotama, K. T., Soetikno, V., Louisa, M., & Arozal, W. (2019). Hepatoprotective effects of l-citrulline against doxorubicin-induced liver damage in rats: an analysis of serum biomarkers. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11, 230-233.
227. Barakat BM, Ahmed HI, Bahr HI, Elbahaie AM. Protective Effect of Boswellic Acids against Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity: Impact on Nrf2/HO-1 Defense Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Feb 6;2018:8296451. doi: 10.1155/2018/8296451. PMID: 29541348; PMCID: PMC5818967.
228. Zhao X, Zhang J, Tong N, Chen Y, Luo Y. Protective effects of berberine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in mice. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(5):796-800. doi: 10.1248/bpb.35.796. PMID: 22687420
229. Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin. *Toxicology*. 2005 Apr 1;209(1):39-45. doi: 10.1016/j.tox.2004.12.003. Epub 2005 Jan 8. PMID: 15725512
230. Tanrıverdi, G. *Karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulmuş karaciğer hasarında değişik dozlardaki nikotinamidin protektif etkisinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi*. Diss. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye, 2005.
231. Zia A, Farkhondeh T, Pourbagher-Shahri AM, Samarghandian S. The role of curcumin in aging and senescence: Molecular mechanisms. *Biomed Pharmacother*. 2021 Feb;134:111119. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111119. Epub 2020 Dec 24. PMID:33360051
232. Li, D., Zhang, Y., Pei, X., Liu, X., Dai, C., Li, C., ... & Tang, S. (2020). Molecular mechanism of olaquinox-induced hepatotoxicity and the hepatic protective role of curcumin. *Food and Chemical Toxicology*, 145, 111727.
233. Gowifel AMH, Khalil MG, Nada SA, Kenawy SA, Ahmed KA, Salama MM, Safar MM. Combination of pomegranate extract and curcumin ameliorates thioacetamide- induced liver fibrosis in rats: impact on TGF- β /Smad3 and NF- κ B signaling pathways. *Toxicol Mech Methods*. 2020 Oct;30(8):620-633. doi:10.1080/15376516.2020.1801926. Epub 2020 Aug 19. PMID: 32718261
234. Roehlen, Natascha, Emilie Crouchet, and Thomas F. Baumert. "Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives." *Cells* 9.4 (2020): 875.
235. Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021 Mar;18(3):151-166. doi:10.1038/s41575-020-00372-7. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33128017.
236. Conigliaro, A., Amicone, L., Costa, V., De Santis Puzzonia, M., Mancone, C., Sacchetti, B., Cicchini, C., Garibaldi, F., Brenner, D. A., Kisseleva, T., Bianco, P., & Tripodi, M. (2013). Evidence for a common progenitor of epithelial and mesenchymal components of the liver. *Cell death and differentiation*, 20(8), 1116–1123. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013>
237. Aljobaily N, Viereckl MJ, Hydock DS, Aljobaily H, Wu TY, Busekrus R, Jones B, Alberson J, Han Y. Creatine Alleviates Doxorubicin-Induced Liver Damage by Inhibiting Liver Fibrosis, Inflammation, Oxidative Stress, and Cellular Senescence. *Nutrients*. 2020 Dec 24;13(1):41. doi: 10.3390/nu13010041. PMID: 33374297; PMCID: PMC7824063.
238. García-Niño, W. R., & Pedraza-Chaverrí, J. (2014). Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 182-201.

239. Priya, S., & Sudhakaran, P. R. (2008). Curcumin-induced recovery from hepatic injury involves induction of apoptosis of activated hepatic stellate cells.
240. Cao, Lei et al. "Mechanism of Hepatocyte Apoptosis." *Journal of cell death* vol. 9 19-29. 29 Dec. 2016, doi:10.4137/JCD.S39824
241. Guicciardi, Maria Eugenia et al. "Apoptosis and necrosis in the liver." *Comprehensive Physiology* vol. 3,2 (2013): 977-1010. doi:10.1002/cphy.c120020
242. Idriss, Haitham T., and James H. Naismith. "TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship (s)." *Microscopy research and technique* 50.3 (2000): 184-195.
243. Zhao, Shanmin, et al. "The concentration of tumor necrosis factor- α determines its protective or damaging effect on liver injury by regulating Yap activity." *Cell death & disease* 11.1 (2020): 1-13
244. Koohi Mohammad K, Ghazi-Khansari M, Hayati F, Staji H, Keywanloo M, Shahroozian E. The Role of TNF- α in Aflatoxin B-1 Induced Hepatic Toxicity in Isolated Perfused Rat Liver Model. *Acta Med Iran*. 2017 Jul;55(7):416-421. PMID:28918610.
245. Song S, Chu L, Liang H, Chen J, Liang J, Huang Z, Zhang B, Chen X. Protective Effects of Dioscin Against Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity <i>Via</i> Regulation of Sirt1/FOXO1/NF- κ b Signal. *Front Pharmacol*. 2019 Sep 13;10:1030. doi: 10.3389/fphar.2019.01030. PMID: 31572199; PMCID: PMC6753638..
246. Yıldırım, İbrahim Halil; Koçak, Nadir; Yıldırım, Seval Cing. Programlı hücre ölümü; literatür bilgilerinin Türkçe derlemesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2012, 2: 58-66..
247. .Qian H, Yang Y, Wang X. Curcumin enhanced adriamycin-induced human liver-derived Hepatoma G2 cell death through activation of mitochondria-mediated apoptosis and autophagy. *Eur J Pharm Sci*. 2011 Jun 14;43(3):125-31. doi:10.1016/j.ejps.2011.04.002. Epub 2011 Apr 14. PMID: 21514382
248. Akin AT, Öztürk E, Kaymak E, Karabulut D, Yakan B. Therapeutic effects of thymoquinone in doxorubicin-induced hepatotoxicity via oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Anat Histol Embryol*. 2021 Nov;50(6):908-917. doi:10.1111/ahe.12735. Epub 2021 Sep 8. PMID: 34494664
249. Nagai K, Oda A, Konishi H. Theanine prevents doxorubicin-induced acute hepatotoxicity by reducing intrinsic apoptotic response. *Food Chem Toxicol*. 2015 Apr;78:147-52. doi: 10.1016/j.fct.2015.02.009. Epub 2015 Feb 11. PMID: 25680506.
250. Kwiecień I, Michalska M, Włodek L. The selective effect of cystathionine on doxorubicin hepatotoxicity in tumor-bearing mice. *Eur J Pharmacol*. 2006 Nov 21;550(1-3):39-46. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.09.001. Epub 2006 Sep 16. PMID: 17034787
251. Henninger C, Huelsenbeck J, Huelsenbeck S, Grösch S, Schad A, Lackner KJ, Kaina B, Fritz G. The lipid lowering drug lovastatin protects against doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012 May 15;261(1):66-73. doi: 10.1016/j.taap.2012.03.012. PMID: 22712078.
252. Granados-Castro, L. F., Rodríguez-Rangel, D. S., Fernández-Rojas, B., León-Contreras, J. C., Hernández-Pando, R., Medina-Campos, O. N., ... & Pedraza-Chaverri, J. (2016). Curcumin prevents paracetamol-induced liver mitochondrial alterations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(2), 245-256.
253. Li, Gang, et al. "Curcumin protects against acetaminophen-induced apoptosis in hepatic injury." *World Journal of Gastroenterology: WJG* 19.42 (2013): 7440.

254. Ren, B. C., Zhang, Y. F., Liu, S. S., Cheng, X. J., Yang, X., Cui, X. G., Zhao, X. R., Zhao, H., Hao, M. F., Li, M. D., Tie, Y. Y., Qu, L., & Li, X. Y. (2020). Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy via Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(21), 12355–12367. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15725>

