

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**  
**GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**GHRELİN VE İKİ FORMUNUN**  
**KARBON TETRAKLORÜRLE OLUŞTURULAN**  
**AKUT KARACİĞER HASARINA OLAN ETKİSİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**  
**Uz. Dr. Orhan Kürşat POYRAZOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU**

**ELAZIĞ**  
**2009**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

**Dekan**

**Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.**

Doç. Dr. Ayhan DOĞUKAN

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

**Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden**

**Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU

**Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU

Doç. Dr. Ayhan DOĞUKAN

Prof. Dr. Ahmet IŞIK

Doç. Dr. Aziz KARAOĞLU

Doç. Dr. Yusuf ÖZKAN

**Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim birimi başkanlığı tarafından 1613 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

Öğrenen ve öğreten tüm bilim insanlarına...

## TEŞEKKÜR

Yan dal eğitimim süresince engin bilgisinden ve tecrübesinden istifade ettiğim, çalışma ahlakı ve disiplini ile her zaman örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. İbrahim Halil Bahçecioğlu'na, birlikte çalıőmaktan őeref duyduğum, üzerimde emeği olan baőta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ayhan DOĞUKAN olmak üzere tüm öğretim üyelerine, asistan arkadaşlarıma, hemőirelerimize, değerli personelimize ve bu süre zarfında sabırla desteklerini esirgemeyen kıymetli hayat arkadaşım ve oğluma en içten teőekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

Ghrelin serin-3'e bağılı n-oktanoik asitin varlığına göre açile ve des-açile şekilde tanımlanan 28 aminoasitli peptiddir. Fizyolojik aktivitesine ilave olarak antiinflamatuvar ve antioksidan özelliğı olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı, karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ile oluşturulan akut karaciğer hasarına ghrelin'in etkisini değerlendirmektir.

Altmış dört adet erkek Sprague–Dawley rat uygulamalara göre kontrol (uygulama yapılmadı.), açile ghrelin, des-açile ghrelin, açile ghrelin/des-açile ghrelin (total ghrelin), CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin şeklinde adlandırıldı. Gruplar genel olarak tedavi kontrol (ilk 4 grup) ve tedavi grupları (diğer 4 grup) şeklinde ikiye ayrıldı. Açile ghrelin ve des-açile ghrelin çalışmanın birinci ve üçüncü gününde 10 ng/kg dozunda ayrı ayrı veya birlikte intraperitoneal olarak verildi. CCl<sub>4</sub> çalışmanın ikinci gününde bir kez 0.15 ml/100g dozunda 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi. Son uygulamadan 24 saat sonra çalışma sonlandırıldı. Kan örneklerinden; AST, ALT, Albümin ve TNF- $\alpha$ , karaciğer dokusundan ise doku MDA çalışıldı. Karaciğer histopatolojisi inflamasyon, nekroz, steatoz, fibroz açısından değerlendirildi.

Tüm tedavi gruplarında tedavi kontrol grupları ile kıyaslandığında AST, ALT, TNF- $\alpha$  ve karaciğer doku MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış mevcuttu. Diğer taraftan, CCl<sub>4</sub> grubu ile CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin karşılaştırıldığında AST, ALT, TNF- $\alpha$  ve dMDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma saptandı. CCl<sub>4</sub> grubu ile CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin arasında istatistikî olarak anlamlı fark izlenmedi. Karaciğerin histopatolojisinde gözlenen nekroinflamatuvar aktivite mevcut bulguları doğrular nitelikteydi.

Açile ghrelin ve total ghrelin gerek oksidatif stresi azaltarak gerek ise antiinflamatuvar etki ile CCl<sub>4</sub>'e bağılı oluşan akut karaciğer hasarında histopatolojik değişiklikleri olumlu yönde etkiledi.

Anahtar kelimeler: Açile ghrelin, des-açile ghrelin, karaciğer, inflamasyon, oksidatif stres

## **IMPACT OF GHRELIN AND ITS TWO FORMS UPON CARBON TETRACHLORIDE INDUCED ACUTE LIVER INJURY**

### **ABSTRACT**

Ghrelin is a peptide of 28 amino acids that defined as acylated and des-acylated according to its n-octanoyl modification at serine 3. It has been proposed that ghrelin has antiinflammatory and antioxidant properties in addition to its physiologic activity. The aim of this study was to investigate the impact of ghrelin upon carbontetrachloride (CCl<sub>4</sub>) induced acute liver injury.

Sixty four male Sprague-Dawley rats were named according to administrations as control (any administration was applied), acylated ghrelin, des-acylated ghrelin, acylated ghrelin/des-acylated ghrelin (total ghrelin), CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>/acylated ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-acylated ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin. Groups were allocated as treatment control (first 4 groups) and treatment groups (other 4 groups). Acylated ghrelin (10 ng/kg) and des-acylated ghrelin (10 ng/kg) was administered intraperitoneally separately or together at the first and third day of the study. CCl<sub>4</sub> (0.15 ml/100g diluted with olive oil in proportion as 1/1) was administered intraperitoneally at the second day of the study. The study was terminated 24 hours after last administration. AST, ALT, Albumin, TNF- $\alpha$  and tissue MDA were studied from the blood samples and liver tissue respectively. Histopathology of the liver including inflammation, necrosis, steatosis, fibrosis was evaluated.

AST, ALT, TNF- $\alpha$  and liver tissue MDA levels were statistically elevated when we compared treatment groups with treatment control groups. On the other hand, AST, ALT, TNF- $\alpha$  and liver tissue MDA levels were statistically reduced when we compared with CCl<sub>4</sub> group to CCl<sub>4</sub>/acylated ghrelin and CCl<sub>4</sub>/total ghrelin. There was any significant difference between CCl<sub>4</sub> group and CCl<sub>4</sub>/des-acylated ghrelin. Necroinflammatory activity of the liver histopathology confirmed the aforementioned findings.

Acylated ghrelin and total ghrelin improved histopathologic changes in CCl<sub>4</sub> induced acute liver injury not only by reducing oxidative stress but also by alleviating inflammation.

Key words: acylated ghrelin, des-acylated ghrelin, liver, inflammation, oxidative stress

## İÇİNDEKİLER

KONU	SAYFA
NO	
İthaf	<i>iv</i>
Teşekkür	<i>v</i>
Özet	<i>vi</i>
Abstract	<i>vii</i>
İçindekiler	<i>ix</i>
Tablo Listesi	<i>xi</i>
Şekil Listesi	<i>xii</i>
Kısaltmalar	<i>xii</i>
1. Giriş	1
1.1. Genel bilgiler	3
1.1.1. Karaciğer Anatomisi	3
1.1.2. Karaciğerin Histolojisi	4
1.1.3. Karaciğer Hasarı: İlerleyici Fibrozisin Etkisi ve Fibrozis Tipleri	5
1.1.4. Karaciğer Yıldızsı Hücreleri	7
1.1.4.1. Karaciğerdeki Rolü	7
1.1.4.2. Etkinleşmesi “ <i>activation</i> ” ve Değişimi “ <i>transdiferrentiation</i> ”	8
1.1.4.3. Etkinliğin İdamesi	11
1.1.5. Hepatik Fibrozisin Tedavisi	12
1.1.6. Karbontetraklorür’ün Karaciğer Hasarı Oluşturma Mekanizması	13
1.1.7 Ghrelin: yapısı ve özellikleri	13
2 Gereç ve Yöntem	15
2.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Düzeni	15
2.2. Uygulamaların Hazırlanması, Dozu ve Yöntemi	15
2.3. Biyokimya ve Histopatolojik İnceleme için Örneklerin Alınma Yöntemi	16

	2.4. Biyokimyasal Analiz	16
	2.5. Histopatolojik Değerlendirme	16
	2.6. İstatistiksel Analiz	17
3	Bulgular	18
	3.1. Serum Biyokimya Parametreleri	18
	3.2. Oksidatif stres ve Proinflamatuvar Belirteçler	18
	3.3. Histopatolojik Değerlendirme	20
4	Tartışma	24
5	Kaynaklar	28
6	Özgeğmiş	38

**TABLO LİSTESİ**

TABLO NO		SAYFA NO
Tablo 1	Grupların Biyokimya Verileri	19
Tablo 2	Oksidatif Stres ve Proinflamatuvar Belirteçler	21
Tablo 3	Grupların Histopatolojik Bulguları	22

**ŞEKİL LİSTESİ**

ŞEKİL NO		SAYFA NO
Şekil 1	Normal ve Karaciğer Hasarı Sonrası Karaciğerin Şematik Görünümü	9
Şekil 2	Oksidatif Stres Sonrası Karaciğer Yıldızsı Hücre Aktivasyonu	10
Şekil 3.	Tedavi Kontrol Grubundaki Ratların Histopatolojik Bulguları	23
Şekil 4.	Tedavi Grubundaki Ratların Histopatolojik Bulguları	23

**KISALTMALAR LİSTESİ**

<b>Alb</b>	Albümin
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Karbontetraklorür
<b>dMDA</b>	Doku malondialdehit
<b>EGF</b>	Epidermal büyüme faktörü
<b>ET-1</b>	Endotelin 1
<b>GH</b>	Büyüme hormonu
<b>GHS-R1a</b>	Büyüme hormonu sekretogog reseptörü tip 1a
<b>HDM</b>	Hücre dışı matriks
<b>İGF-1</b>	İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1
<b>İL</b>	İnterlökin
<b>KYH</b>	Karaciğer yıldızsı hücre
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>OS</b>	Oksidatif stres
<b>PDGF</b>	Trombosit kökenli büyüme faktörü
<b>ROT</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>TGF-β</b>	Tümör büyüme faktörü- β
<b>Th</b>	T-helper
<b>TNF-α</b>	Tümör nekroz faktör alfa

## 1. GİRİŞ

Karaciğer fibrozu kronik karaciğer hasarının etiyolojik nedeninden bağımsız şekilde oluşur. Karaciğer fibrogenezinde kronik karaciğer hasarında ortaya çıkan oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri “*reactive oxygen species*” (ROT) ciddi rol oynamaktadır (1-6). Oksidatif stres (OS), ROT ve çeşitli sitokinlerle hepatosit, kupffer ve karaciğer yıldız hücrelerin “*hepatic stellate cells*” (KYH) etkileşimi neticesinde oluşan proinflamatuvar olaylar hepatositlerin apoptoza gitmesine, böylece fibrogenezin oluşmasına katkıda bulunmaktadır (7-9). Gerek hayvan çalışmalarında karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ve safra yolu ligasyonu ile oluşturulan karaciğer hasarında nedenlerin ortadan kaldırılması gerekse insanlarda kronik karaciğer hastalığına neden olan faktörlerin tedavisi karaciğer fibrozunun düzelmesini sağlamaktadır (10-16).

Karaciğerde toksik hasar oluşturan CCl<sub>4</sub> ksenobiyotik sistem üzerinden hepatotoksik etki gösteren, karaciğere toksik ve koruyucu etkisi olan ilaçlarda sıklıkla kullanılan iyi tanımlanmış bir modeldir (17-20). CCl<sub>4</sub> mitokondriyal monooksijenaz sistemde (CYP<sub>450</sub> 2E1) metabolize olarak aktif metaboliti olan kararsız trikorometil serbest radikallere (CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·) dönüşür. CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>· hücre proteinlerine kovalent olarak bağlanarak membran lipid peroksidasyonuna ve hücre nekrozuna yol açan bir takım zincirleme reaksiyonu başlatır (17-20). Bundan dolayı, karaciğer hasarının engellenmesinde ve tedavisinde serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun ortadan kaldırılması anahtar rol oynamaktadır.

Ghrelinin büyüme hormonu sekreterokog reseptörü tip 1a'ya (GHS-R1a) doğal olarak bağlanan yakın zamanda keşfedilmiş bir hormondur (21). Dolaşımda bulunan ghrelinin 2/3'ü midenin oksintik mukozasında bulunan X/A benzeri hücrelerce, kalan kısmının büyük miktarı ise ince bağırsaklardaki X/A benzeri hücrelerce üretilir (22). Bununla birlikte, ghrelinin pankreas, böbrek, plasenta, lenfatik doku, gonadlar, tiroid, adrenal, kalp, akciğer, göz, pitiüter ve hipotalamus ve çeşitli neoplastik hücrelerde ve kanser hücrelerinde az miktarda üretilmektedir (23). GHS reseptörleri merkezi sinir sistemi ve çevre dokularda bulunmakta ve ghrelinin GH salınımını buralardan sağlamaktadır (24). Aynı zamanda, ghrelinin immün hücre çoğalmasını sağlayarak ve immün hücrelerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını engelleyerek immün işlevleri düzenleyebilir. Hem ghrelinin hem de GHS-R insan T

lenfositlerinde ve monositlerinde mevcuttur. Böylece, peptid GHS-R üzerinden interlökin 1- $\beta$  (İL-1 $\beta$ ), İL-6 ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi proinflamatuvar sitokinlerin açığa çıkmasını engeller (25).

Kasimay O ve ark. (26) ghrelin'in pankreatobiliyer tıkanıklığa bağlı gelişmiş olan akut pankreatobiliyer inflamasyonu ve ilişkili uzak organ hasarını nötrofil etkinliğini engelleyerek düzelttiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada ghrelin'in CCl<sub>4</sub> ile oluşturulmuş akut karaciğer hasarı üzerine olan etkisini göstermek amaçlanmıştır.

## 1.1 GENEL BİLGİLER

### 1.1.1. Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer karının sağ üst kısmında, beşinci interkostal aralıktan başlayarak midklavikular hat boyunca göğüs kafesinin sağ alt ucuna kadar yer kaplamaktadır. Erişkin bir erkekte ortalama 1800 gr kadında ise 1400 gr ağırlığındadır. Karaciğer üst, ön ve sağ dış yüzeyi yumuşak ve dışbükey şekilde, diafragmanın alt kısmı ile ilişkilidir. Arka yüzeyde kolon, sağ böbrek ve sağ lobta duodenumla, sol lobta mide ile ilişkili alanlar mevcuttur. Karaciğerin fibröz kapsülü diafragma ve arka karın duvarına uzanır. Karaciğer koroner ligament, sağ ve sol üçgenler ligament ve falsiform ligamenti oluşturan peritoneal uzantılarla desteklenir. Falsiform ligamentin serbest ucu oblitere olan umbilikal veni oluşturur, karaciğerin ön yüzünü diafragma bağlar. Vena kava'nın solundaki peritoneal uzantılarla birleşir. Hepatoduodenal ligament karaciğeri duodenumun üst kısmı ile birleştirir. Bu ligamentin uç kısmı hepatic arter, portal ven safra yolları, sinirler ve lenfatik damarları içerir. Bu yapılar karaciğerin transvers portal fissürü ile birleşir. Bu fissürün arkasında kaudat lob önünde kuadrat lob vardır. Kuadrat lob sağda safra kesesi, solda ise umbilikal fissür ile sınırlanır (27,28).

Karaciğer falsiform ligament tarafından sağ ve sol iki loba ayrılır. İkiye ayrılan karaciğer sonra her biri portal damar yapıları, safra yolları ve hepatic drenaja sahip olan sekiz segmente ayrılır. Sağ lob soldan altı kat daha büyüktür. Sağ ve sol lob arasındaki gerçek sınırı safra kesesi çukuru ile inferior vena kava oyuğunu birleştiren hat oluşturur. Segment I'den VIII'e kadar sırası ile; kaudat lob, sol lobun lateral bölümünün posterior kısmı, anterior kısmı, medial bölümü, sağ lobun anteromedial bölümünün alt kısmı, posterolateral bölümün ön kısmı, posterolateral bölümün arka kısmı, anteromedial bölümünün üst kısmı meydana getirir. Segment II ve III'ü sol hepatic ven, segment IV, V ve VIII'i orta hepatic ven, segment VI ve VII'yi sağ hepatic ven drene eder (29).

Karaciğer, kardiyak atımın yaklaşık %25'ini alır, böylece 1500 ml/dk kanla sulanır. Bu kan, karaciğerin beden fonksiyonlarını sağlamada ciddi rol oynayan venöz akım kaynağı portal ven ve biliyer sistemi besleyen ve karaciğer oksijenizasyonunda temel rol alan hepatic arter olmak üzere iki ana sistem tarafından sağlanır. Karaciğer içinde portal venüllere ve oradan da sinüzoidlere boşalır. Bundan

sonra santral vene ulaşan kan akımı, hepatik ven dallarına nihayetinde inferiyor vena kava'ya ulaşarak karaciğeri terk eder (27). Portal kan akımı tüm ince barsakların venöz drenajını sağlar. Böylece ince bağırsakta besin değeri zengin maddeleri ve beraberinde ilaçları ve zehirli maddeleri karaciğere taşır. Pankreatik drenajda karaciğere girmeden önce sağlar. Hepatik arter karaciğere gelen kanın yaklaşık olarak % 25'ini sağlayan çölyak arterin bir koludur. Hepatik arter dallanarak interlobüler arterleri oluşturur. Kan klasik olarak karaciğer lobülünün çevresinden “*perifer*” merkeze “*santral*” doğru akar (27).

Karaciğer vücudun en büyük lenf kaynaklarından birisidir, total lenf hacminin % 15–20'sini oluşturur. Sinüzoidal endotelial hücrelerden “*Disse mesafesi*”, portal sistemden ve heaptik ven çevresinden oluşan karaciğer lenfası yüzeysel ve derin lenf yolları ile lenf düğümlerine taşınır. Yüzeysel lenfa yollarının bir kısmı ligamentum falsiform içindedir. Bu lenfa diyafragmayı geçerek mediasten lenf düğümlerine ulaşır. Diğer bir kısmı ise göğüs içinde inferiyor vena kava'yla buradaki lenf düğümlerinde sonlanır. Derin lenfa yolları ise portal alanlardadır, bunlar hilus civarındaki lenf düğümlerine gelir. Buradan da sisterna şili yolu ile duktus torasikusa aktarılır (30).

Karaciğer zengin sempatik ve parasempatik innervasyona sahiptir. Sinir lifleri torasik gangliya, çölyak pleksus, vagus, safra yolu, portal ven ve hepatik arter pleksusunu oluşturan sağ frenik sinirden meydana gelir. Arterler daha çok sempatik lifler, safra yolları hem sempatik hem de parasempatik liflerle innerve olur. Miyelinize olmayan sempatik lifler hepatositlere dalcıklar gönderir (28).

### 1.1.2. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer hilumda kalınlaşan “*Glisson Kapsülü*” olarak adlandırılan ince bir bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür. Hilumda portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. İnce retiküler lif ağı bu alandan başlayarak hepatositlere ve karaciğer lobüllerinin sinüzoidal endotelial hücrelerine destek sağlar (29).

Karaciğer parenkimi retikülotelyal hücrelerce çevrelenerek desteklenen yapı içinde sıralanmış hepatosit tabakalarının “*plates of hepatocytes*” organize olması ile meydana gelir. Hepatositlerin tabakaları bir hücre kalınlığındadır Her bir tabaka

birbirinden sinüzoid “*sinusoid*” olarak adlandırılan damar yapıları ile ayrılır. Bu sinüzoidlerde hepatik arterden ve portal venden gelen kan biribiri ile karışarak santral vene doğru gider. Sinüzoidlerin duvarı endotelial hücre ile kaplıdır. Sinüzoidlerde endotelin lümenine bakan yüzeyinde bulunan özelleşmiş fagositik hücreler kupffer hücresi “*kupffer cell*” olarak adlandırılır. Kupffer hücreleri tipik yerel makrofajlardır ve başlıca fonksiyonları; yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek ve immünojenik olaylarda sitokin salgılamaktır (31,32). Hepatositler ve endotelial hücreler arasında yerleşen vitamin A metabolizmasında rol alan yağ depolayıcı hücreler; KYH veya Lipositler “*Lipocytes*” olarak adlandırılırlar. Karaciğerdeki hücrelerin ~%30’u retikuloendotelial hücrelerden oluşur, bunların 1/3’ü Kupffer hücreleridir. Retikuloendotelial hücreler hepatositlere çevreleyen ve destekleyen hücreler olduğu gibi fagositoz ve sitokinlerin salınımı gibi daha özel işlevlere de sahiptir.

Karaciğer mimarisi geleneksel olarak lobül şeklinde tanımlanır. Her bir santral ven etrafında düzgün şekilde sıralanmış olan hepatosit tabakaları mevcuttur. Böylece portal venül, hepatik arteriol ve safra kanaliküllerini içeren portal alanları “*portal triads*” oluştururlar. Hepatositlerin portal alanla komşu olduğu yer sınır sahası “*limiting plate*” olarak adlandırılır. Portal venülden ve hepatik arteriolden sinüzoidlere giren kan ilk önce bu damarlara yakın geçer “*bölge 1*”, daha sonra süzülerek “*bölge 2*”ye geçer. Santral vene girmeden önceki kısım “*bölge 3*” olarak adlandırılır. Merkezi hepatik arteriol ve portal venülden olan, portal akımla temas halinde konsantrik halkalar şeklinde hepatositlerin oluşturduğu karaciğer dokusu “*karaciğer asinüsü*” olarak adlandırılır (33).

### 1.1.3. Karaciğer Hasarı: İlerleyici Fibrozun Etkisi ve Fibroz Tipleri

Etiyolojik ajan ne olursa olsun kronik karaciğer hasarının nihayi sonucu karaciğer fibrozudur. Fibrotik skar oluşumu, karaciğer mimarisinin aşırı hücre dışı matriks (HDM) birikimi neticesinde bozulmasıyla meydana gelir. Daha sonra hepatositlerin yenilenmesi “*regeneration*” sonucunda nodül oluşması karaciğer sirozu “*liver cirrhosis*” olarak tanımlanır. Karaciğerde siroz ile neticelenen bu süreç; karaciğer yetersizliğine, portal hipertansiyona ve hepatosellüler karsinoma yol açan

karaciğer işlevlerinde bozulma, kan akımına karşı karaciğer içinde direnç gelişimine neden olur (34,35).

Önceleri nekroza bağlı karaciğer parenkiminin yıkılması olarak değerlendirilen fibroz, şimdilerde kronik karaciğer hasarına cevap olarak gelişen bir yara iyileşmesi modeli olduğu düşünülmektedir (34,36,37). Yara iyileşmesinin kronik aktivasyonuna bağlı oluşan karaciğer fibrozu bir takım anahtar özellikler ile karakterizedir. Bunlar; (i) hepatosit ve/veya kolanjiyositlerin kronik hasara maruz kalması, (ii) karmaşık inflamatuvar infiltrasyon (iii) proliferatif, sentetik ve kontraksiyon özelliği olan farklı tiplerde HDM üreten hücrelerin aktivasyonu (iv) karaciğer HDM'nin niteliğinde ve niceliğinde belirgin değişikliklerdir (38).

Karaciğer fibrozu kronik karaciğer hasarına cevap olarak gelişen bir yara iyileşmesi ile karakterizedir (10,39). Akut karaciğer hasarı sonrasında parankimal hücrelerde yenilenir, yerini nekrotik ve apoptotik hücreler alır. İnflamatuvar cevap ve sınırlı HDM oluşumu meydana gelir. Erken dönemde ön planda tip 1 ve 3 kollajenler şeklinde fibriler HDM birikimi Disse'nin subendotelyal aralığında gerçekleşir. Bu durumu karaciğerin işlevlerinde ilerleyici şekilde seyreden bozulmadan sorumludur. Genellikle, erkek cinsiyet, infeksiyonun yaşı, obesite, diabetes mellitus, günlük alınan alkol alımı ve karaciğerdeki demir miktarı ciddi fibrozu meydana gelmesinde belirleyici faktörlerdir. Kronik karaciğer hastalarında ciddi fibriler HDM birikimi yıllar almaktadır. Bununla birlikte, hızlı şekilde seyreden ciddi fibrotik değişiklikler ile karakterize “*fulminan*” olarak adlandırılan iki farklı klinik durum söz konusudur. Birincisi, çocuklarda seyreden biliyer atrezi veya ilerleyici ailevi intrahepatik kolestaz ikincisi ise, hepatit B ve C virüsüne bağlı karaciğer nakline giden sirotik hastaların bir kısmıdır (40).

İlerleyici fibrozun son noktası karaciğer sirozu olmasına rağmen, farklı şekilde gelişen fibrotik yapılar mevcuttur. Bunlar; (1) biliyer fibrozda, reaktif biliyer duktusların ve periduktular miyofibroblast benzeri hücrelerin portal parankimal aralıkta portal portal yönde fibroz, (2) kronik viral hepatitte, portal-santral septadan köken alan portal-santral köprüleşme nekrozu, (3) kronik kalp yetersizliği gibi venöz akım problemlerinde santral-santral fibrotik gelişim ve santralden santral septaya doğru ters lobulasyon, (4) alkolik ve metabolik karaciğer hastalığına bağlı hepatosit

gruplarının ve sinüzoidlerin etrafında fibriler matriks birikimi şeklinde meydana gelir (38).

Karaciğerde 3 ana fibrojenik hücre mevcuttur.

1. KYH ve aynı zamanda portal fibroblast, vasküler düz kas hücreler ve perisitler olarak temsil edilen endojen fibroblast ve miyofibroblast tipi hücreler
2. Karaciğerde ve diğer organlarda epitelyal-mezenkimal geçiş meydana gelmesi ve parankimal hücrelere değişim
3. Kemik iliğinden fibrositlerin toplanması (38, 40)

İmmünohistokimyasal çalışmalar sirotik ratlarda ve insanlarda farklı HDM üreten hücreler saptamıştır.

- a) Esas itibariyle portal fibroblastlardan köken alan, fibrotik septanın iç kısımlarında ve geniş portal alanlarda bulunan portal/septal miyofibroblast
- b) Etkin KYH, esas olarak kapillerize sinüzoidlerde bulunur
- c) Arayüz “*interface*” miyofibroblastları, fibrotik septa ve çevreleyen parenkimde bulunur ve KYH etkinleşmesinden köken alırlar
- d) Kronik karaciğer hasarında rol alan ve arayüzde ve septalmiyofibroblastta artan kemik iliğinden köken alan puliripotent kök hücreler
- e) Deneysel fibrogenezde fibrotik septada FSP1 pozitif fibroblastlar birikir (8, 10, 41-42).

Kronik hasarı takiben faal KYH ve başka kökenden gelen miyofibroblastlar doku tamiri için göç eder ve birikirler, büyük miktarlarda HDM sekresyonu ve HDM indirgenmesi düzenlenmesi olur. Birçok kollajen salgılayan hücre olmakla birlikte KYH en önemli miyofibroblastlardır (38).

#### **1.1.4 Karaciğer Yıldızsı Hücreleri**

##### **1.1.4.1 Karaciğerdeki Rolü**

Endotelyal hücre ile hepatosit arasında yer alan boşluğa, “*Disse Aralığı*”na yerleşmiş yıldızsı hücrelere “*ito hücresi*”, “*yıldızsı hücre*” ya da “*yağ toplayıcı hücre*” denir. KYH subendotelyal bölgede hepatositlerin üzerinde yer alan yıldızsı

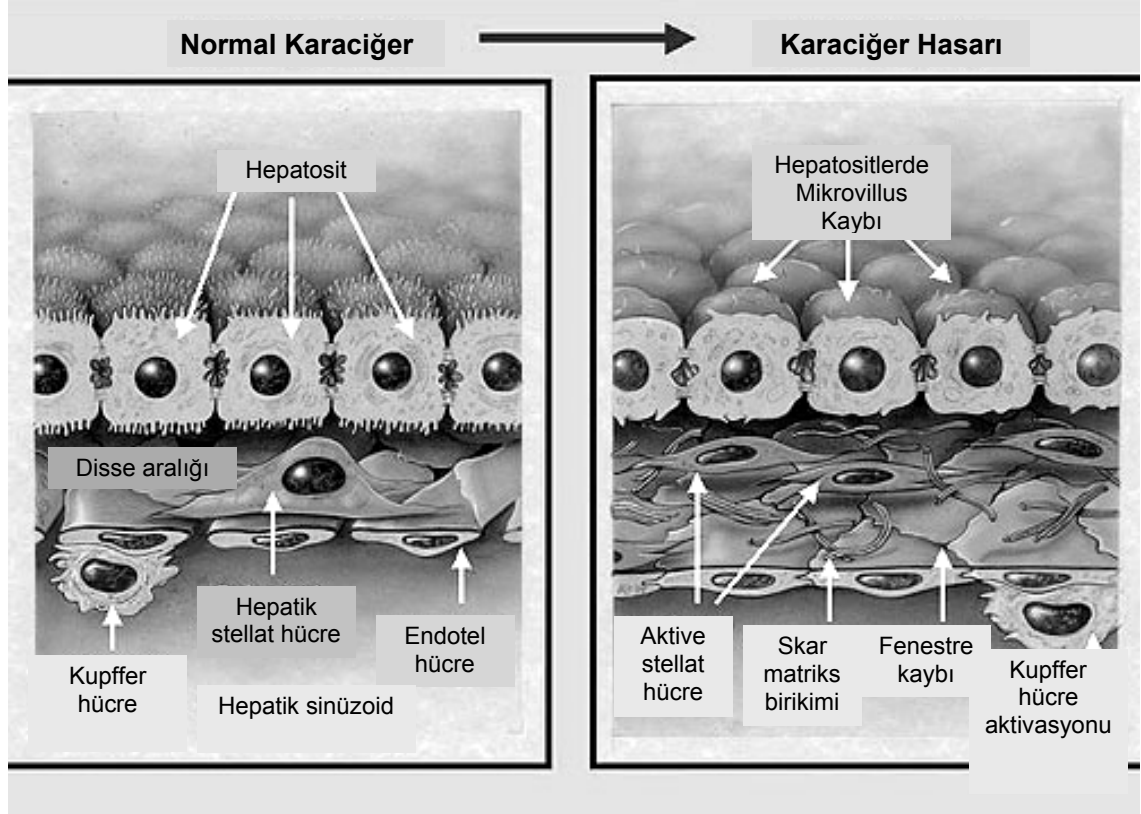
uzantıları olan mezenkimal kökenli hücrelerdir. Normalde vücuttaki vitamin A' nın %80 kadarını depolarlar. KYH'nin temel görevleri:

- a) Retinoid depolanması ve homeostazın sağlanması,
- b) HDM sentez ve yıkımının dengelenmesi
- c) Büyüme faktörleri ve sitokin üretimi, sinuzoid lümeninin kontraksiyonu ve dilatasyonudur.
- d) Hepatik kan akımının ve portal venöz basıncın düzenlenmesi şeklindedir (28), (Şekil 1).

#### 1.1.4.2. Etkinleşmesi “*activation*” ve Değişimi “*transdiferrentiation*”

Fibrozda karaciğerdeki HDM artışının histopatolojik ve biyokimyasal birkaç kata kadar çıkması ile karakterizedir. HDM'de normalde bol miktarda tip1 ve 3 kollajen ve elastin ile birlikte glikoproteinler ve saf karbohidratlarda bulunur. Karaciğer fibrozunda ise tip 1 kollajen daha ön plandadır. HDM hem daha fazla üretilir hem de daha az yıkıma uğrar. Normal karaciğerde matriks metalloproteinler HDM yıkımını sağlarlar. Bunlar KYH etkin olması ile doku engelleyici “*inhibitor*” metalloproteinazların aşırı ortaya çıkmasına bağlı olarak baskılanırlar “*supression*”.

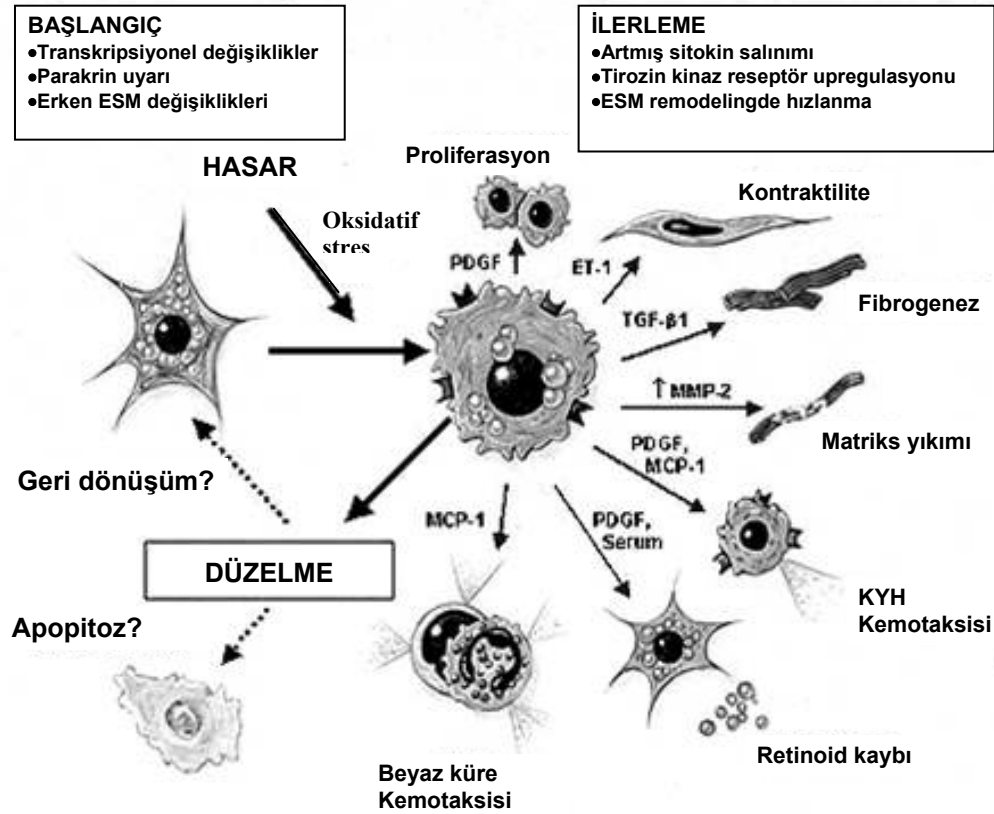
Yıldızsı hücreler karaciğer fibrozuna HDM üretiminde temel rol oynayan hücreler olarak kabul edilir. Bunlar normal fizyolojik şartlarda sakin “*quiescent*” haldedir. Hasar sonucunda KYH faal hale gelirler “*activation*” ve değişime “*transdiferrentiation*” maruz kalırlar. Bunun sonucunda; vitamin A depolayan hücreler, hücre göçü ve tutunması “*adhesion*”,  $\alpha$ - *smooth muscle action* ( $\alpha$ -SMA) açığa çıkaran, çoğalmayı “*proliferation*” artıran ve kemotaktik maddeler yardımı ile inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayan özellikleri olan miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (43). Bunlara ilaveten KYH'nin aktivasyonunu takiben metabolik olarak DNA sentezinde ve en potent fibrogenik sitokin olan tümör büyüme faktörü-  $\beta$  “*tumor growth factor-  $\beta$* ” (TGF- $\beta$ ) her üç izoformu ve reseptörlerinde artış gözlenir KYH için en potent mitojenik aktiviteye sahip olan trombosit kökenli büyüme faktörü “*platelet-derived growth factor*” (PDGF) sentez ve reseptörlerinde de artış mevcuttur (44-46).



Şekil 1. Normal ve Karaciğer Hasarı Sonrası Karaciğerin Şematik Görünümü (43). Normal karaciğer dokusunda perisinüsoidal yerleşimli KYH, fenestrasyon gösteren endotel hücreleri.

Karaciğer zedelenmesi sonrası KYH faal hale gelmesiyle fibröz matriks üretir, sinüsoidlerde fenestrasyon kaybolarak kapillerize olur, hepatositlerde mikrovillus kaybı gözlenir. Etkinleşme, başlangıç “initiation” fazı ve ilerleme “perpetuation” fazı olarak iki ana fazdan oluşur. Bunu karaciğer hasarı sonlanır ise iyileşme “resolution” takip eder (Şekil 2). En erken değişiklikler sinüzoid endoteli, Kupffer hücreleri, hepatositler, platelet ve lökositler gibi tüm komşu hücrelerden gelen parakrin uyarılar ile başlar. Hepatositler membran hasarı ve lipid peroksidasyonu neticesinde ortaya çıkan fibrojenik ROT’un güçlü kaynağıdır. Endotel hücreleri hem fibronektin hem de TGF- $\beta$ , endotelin-1 (ET-1) sentezi ile KYH etkinleşmesinde rol alırlar. İnflamasyon sürecinde karaciğer makrofajları Kupffer hücrelerinin etkinleşmesinde önemli rol oynar. Kupffer hücreleri TGF- $\beta$  matriks sentezini artırır, KYH retinoid kaybı ile ve TGF- $\beta$  ile çoğalmayı uyarırlar. Kupffer hücreleri ayrıca matriks metalloproteinaz 9 sekresyonu ile latent TGF- $\beta$ ’yı aktive ederler ve KYH kollajen sentezini artırırlar. Kupffer hücreleri oksidatif stres sonucu

oluşan ROT'nin önemli bir kaynağıdır (44, 47, 48). Bunun yanında Kupffer hücreleri nitrik oksit (NO) de sentezler ve bu madde ROT'un uyarıcı etkilerini dengeleyip hücre çoğalmasını ve kontraktiliteyi azaltmaya çalışır (49).



Şekil 2. Oksidatif Stres Sonrası Karaciğer Yıldızlı Hücre Aktivasyonu (43)

Trombositler de karaciğer hasarına katılır ve önemli büyüme faktörü kaynağıdır. PDGF, TGF- $\beta$  ve epidermal büyüme faktörü (EGF) bu hücrelerden salgılanan önemli sitokinlerdir (51). İnflamasyon sonucunda hepatositler laminin, insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (İGF-1) ve fibrojenik lipid peroksidlerini salgırlar. Lökositler CD4 lenfositler ile (*T-helper* (Th) 2 cevabı) interlökin (İL) İL-4, İL-5, İL-6, İL-13 salgılar ve humoral immüneyi tetiklerler. Th1 sitokinleri Th2 hücrelerinin, Th2 sitokinleri de Th1 hücrelerinin gelişimini engeller. Bu nedenle konak yanıtları bu hücrelerin ikisini birden değil genellikle bir tanesi aracılığı ile gerçekleşir. Fibroz gelişiminde Th2 lenfosit cevabı daha önemli bir rol oynar. Nötrofiller oksidatif stresi gösteren ROT'un önemli bir kaynağıdır. ROT kollajen

sentezini direk olarak uyarır. Nötrofil etkisinin burada temel medyatörü süperoksiddir. Bu sitokinler ve oksidatif strese bağlı oluşan lipid peroksidasyon ürünleri sonuç olarak ortak bir yol ile KYH'yi faal hale getirirler (47, 48).

#### 1.1.4.3. Etkinliğin İdamesi

Karaciğer yıldız hücrenin etkinliğinin devam etmesi hücre davranışında altı farklı özelliği içerir. Bunlar çoğalma "*proliferation*", kemotaksis, fibrogenesis, kontraktilite, matriks yıkımı ve retinoid kaybıdır. Bu değişikliklerin temel hedefi HDMde artış ve normal matriksin yerini alan yara iyileşmesinin tipik bulgusu olan skarın oluşmasıdır.

Etkinliğin sürdürülmesinde KYH proliferasyon, kontraktilite, fibröz matriks üretimi, normal matriks yıkımı, diğer hücrelerin kemotaksisi gibi özel işlevler kazanır (48, 51). "*Proliferasyon*" stellat hücre sayısının artması anlamına gelir. Bilinen en güçlü KYH mitojeni PDGF'dir. KYH proliferasyonunu artıran diğer mitojenler arasında vasküler endotelial büyüme faktörü, ET-1, EGF, İGF-1, fibroblast büyüme faktörü sayılabilir (47). "*Kemotaksis*", KYH'ler yara iyileşmesinde görev alan diğer mezankimal hücreler gibi sitokin kemoatraktanlara göç eder. Bu sitokinler önemlileri arasında PDGF, *MCP-1* ve *CXCR3* bulunmaktadır. Buna karşılık adenosin kemoatraktanların etkisini azaltıcı yönde etki ederek karaciğer hasar bölgesine ulaşan hücreleri hareketsiz kılar. (52). "*Fibrogenez*" stellat hücrelerce matriks sentezlenmesi sonucu gelişir. Fibröz matriks üretiminin en güçlü uyarıcısı TGF- $\beta_1$ 'dir. Başlangıçta Kupffer hücreler ve trombositlerden parakrin olarak salgılanan TGF- $\beta$  daha sonraları esas olarak diğer KYH'inde otokrin olarak salgılanır. TGF- $\beta$  yolunda çift işlevli "*smads*" adında moleküller mevcuttur, bunlar hücre içi ve dışında ince ayarlamalar yaparlar ve TGF- $\beta$ 'nın etkinliğini fibroz sürecinde artırır (52, 53). TGF- $\beta_1$  aynı zamanda hücre fibronektin ve proteoglikanlar gibi diğer matriks parçalarını artırır ve yıldız hücrelerin kollajen yapımını uyarırlar. Konnektif doku büyüme faktöründe yıldız hücrelerin fibrogenesisini artırmaktadır (52). KYH'nin "*kontraktıl*" özellikleri kazanması portal direnç artışıdaki en önemli olay olup içerisinde aktin ve myofilamanların artması ile olur. ET-1, kontraksiyonu uyaran esas medyatördür. NO; ET-1 in fizyolojik antagonistidir. Fibroz sırasında ET-1 artar ve NO azalarak kontraksiyonu uyarır.

Sinüsoid endotelinin kontraksiyonu karaciğer kan akımını etkileyerek portal hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur (54). Faal hale gelen KYH zararlı etkeni sınırlamaya çalışır. Matriksin tekrar biçimlenmesinde kollajenin ve kollajen olmayan substratların yıkılmasında kalsiyum bağımlı enzimlerden matriks-metalloproteinaz ailesi rol alır (52). Ancak olay kronik bir zedelenme sürecine girerse faydalı olan bu onarım cevabı normal karaciğer yapısını bozan, kalın fibröz bandlar ve rejenerasyon nodülleriyle seyreden siroza kadar ilerler. Etken ortadan kalkar, olay geçici bir süre devam ederse fibroz geri dönüşümlüdür (47). Tedavi sürecinin fibroz üzerine odaklanması yıldız hücrelerin etkinliğinin geri döndürülmesini kritik kılmıştır. Bu noktada iki olası yol vardır; bir tanesi yıldız hücrelerin tekrar sakin “quiescent” fenotipine dönüştürülmesi diğeri ise apoptoz ile klirensinin sağlanmasıdır (52).

#### **1.1.5.Hepatik Fibrozun Tedavisi**

Karaciğer yıldız hücre etkinleşmesi antifibrotik tedavinin geliştirilmesinde önemli bir noktayı oluşturmaktadır. Bu tedavi yöntemleri aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- a) Karaciğer hasarını engellemek için birincil hastalığın tedavisi
- b) KYH etkinleşmesini engellemeye yönelik olarak inflamasyonu ve doku cevabını azaltma
- c) KYH etkinleşmesini direkt olarak azaltarak düzenleme
- d) KYH'nin profileratif, fibrojenik kontraktıl ve/veya proinflamatuvar cevabını nötralize etme
- e) Yıldız hücrelerin apoptozunu uyarma
- f) Skar matriksin yıkımının gerek matrik proteaz üreten hücrelerin uyarılması, engelleyicilerini azaltarak düzenleme ile gerekse matriks proteazın direk uygulanması ile artırılması (52).

#### **1.1.6. Karbon tetraklorür'ün Karaciğer Hasarı Oluşturma Mekanizması**

Karbontetraklorürün hayvanlarda oluşturduğu toksik etkinin nasıl şekillendiğini gösteren bir hayli in vitro ve in vivo çalışma mevcuttur (55-60, Şekil 3). Bu çalışmalar, CCl<sub>4</sub>'e bağlı oluşan karaciğer hasarının aşağıdaki anahtar noktalarının ortaya konmasını sağlamıştır. CCl<sub>4</sub>;

1. CYP2E1 aracılığı ile triklorometil metabolizmasında rol alır, böylece triklorometil peroksi radikal oluşumuna,
2. Triklorometil preoksi radikal hücre membranında hasara yol açarak otokatalitik lipid peroksidasyonuna,
3. Sitotoksik etki ve enzim indirgenmesi neticesinde kalsiyum hemostazının bozulmasına,
4. Hepatotoksik etki sonucu karaciğerde kalıcı rejeneratif ve proliferatif değişikliklere yol açar (55).

Bu özelliklerinden dolayı, CCl<sub>4</sub> deneysel karaciğer fibrozu ve siroz oluşumunda sıklıkla kullanılan bir hepatotoksindir (61). CCl<sub>4</sub> ile gastrik lavaj, intraperitoneal ve subkutan uygulamalarla değişken sürelerde (6–12 hafta) karaciğer fibrozu ve sirozu oluşturulabildiği gibi (62), CCl<sub>4</sub>'e akut olarak maruz kalmanın (1- 6 gün) neticesinde şiddetli hepatik nekroz ve renal hasar gelişebilmektedir. Toksik hepatit, nekroz ve sirozun, kronik olarak yüksek oranda CCl<sub>4</sub>'e maruz kalınmasından sonra geliştiği bildirilmiştir (63). Bu şekliyle CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan deneysel karaciğer sirozu ile insanlarda gözlenen karaciğer sirozu arasında büyük benzerlikler olduğu bildirilmiştir (61).

### 1.1.7. Ghrelin: Yapısı ve Özellikleri

Ghrelin ağırlıklı olarak mideden üretilen 28 aminoasitli bir peptiddir. Daha düşük oranlarda bağırsaklar, pankreas, böbrekler, immün sistem, plasenta, testis, pitüiter, akciğer ve hipotalamusta da saptanmıştır. Ghrelin büyüme hormonu "*growth hormone*" (GH) salınımı ile sıkı ilişki içerisinde. Bu faaliyetini GH reseptör tip 1a üzerinden gerçekleştirir. Ghrelin keşfedilmeden önce bu reseptör sentetik, peptid ve petid olmayan GH sekretogoglara ailesine özel olarak bilinmekteydi. GH sekretogog reseptörleri hipotalamo-pitüiter birimde yoğunlaşmalarına karşın diğer merkez ve çevre dokularda da dağılım göstermektedir(21-24, 64). GH sekresyonunun uyarımı dışında ghrelin ve diğer sentetik GH sekretogogları;

- a) Prolaktin ve adrenokortikotropik hormon salınımını uyararak hipotalamik aktiviteler üzerinde
- b) Gerek merkezi ve gerekse çevresel düzeyde negatif yönde tesir ederek pitüiter-gonadal döngü üzerinde

- c) İştahi ve pozitif enerji dengesini uyararak
- d) Uyku ve davranışı uyararak
- e) Mide motilitesini ve asit salınımını kontrol ederek
- f) Pankreasın ekzokrin ve endokrin işlevlerini dñzenleyerek ve glikoz seviyeleri üzerinde
- g) Kardiyovaskñler olaylar, neoplastik hñcrelerin çoğalmasının dñzenlenmesi ve immñn sistem üzerinde etkinlik gñsterir (24).

Ghrelin geninin en önemli aktif ùrñnñ, ghrelin olarak adlandırılan serin 3 pozisyonunda oktanil grup içeren (C8:0) aile 28 aminoasitli peptid olmasına karşın yakın zamanda farklı eklemeler ve eviri sonrası dñzenlemeler neticesinde des-aile ve obestatin gibi ghrelin geninin aktif farklı molekñllerin oluşumunda da rol aldığı gñsterilmiřtir (65-69). Ancak bunların reseptñrleri henñz tanımlanamamış olmakla beraber aktif ve ilgi çekici ghrelin etkinliğinin tersi yñnñde fizyolojik özellikler gñsterdiđi ortaya konmuştur (24, 64, 70).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Düzeni

Çalışma Fırat Üniversitesi etik kurulundan onay alınarak, uluslararası standart deney hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun şekilde Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde yapıldı. Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen, ortalama ağırlıkları  $226.3 \pm 34.3$  gr olan, 64 adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar dörderli olarak, paslanmaz çelik kafeslere konuldu. Ratlar çalışma süresince, 12 saat ışık/karanlık döngüsünün sağlandığı, ısı ( $23-25^{\circ}\text{C}$ ) ve nemin kontrol edildiği ortamda muhafaza edildi. Ratların beslenmesinde Elazığ yem fabrikasından sağlanan özel rat yemi kullanıldı. Yemler özel çelik kaplarda, su ise çelik paslanmaz bilyeli biberonlarda verildi. Çalışma öncesi ve sonrasında kiloları tartılıp kaydedildi.

Tüm gruplara 8'er adet rat alındı. Ratlar 4'erli şekilde kafeslere konuldu. Grup 1'e (Kontrol) tüm deney süresince sadece standart rat yemi verildi. Herhangi bir tedavi uygulanmadı. Grup 2'ye uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan açile ghrelin, Grup 3'e uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan des-açile ghrelin, Grup 4'e ise uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan hem açile ghrelin hem de des-açile ghrelin (total ghrelin) verildi. Grup 5'e uygulamanın 2. gününde  $\text{CCl}_4$  bir kez 0.15 ml/100g dozunda 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi. Grup 6'ya uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan açile ghrelin, 2. günü  $\text{CCl}_4$  bir kez 0.15 ml/100g 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi. Grup 7'ye uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan des-açile ghrelin, 2. günü  $\text{CCl}_4$  bir kez 0.15 ml/100g 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi. Grup 8'e uygulamanın 1. ve 3. günü 10 ng/kg'dan hem açile ghrelin hem de des-açile ghrelin (total ghrelin), 2. günü  $\text{CCl}_4$  bir kez 0.15 ml/100g 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi.

### 2.2. Uygulamaların Hazırlanması, Dozu ve Yöntemi

Açile ghrelin/des-açile ghrelin (GL Biochem, Şangay, Çin) salin içerisinde çözüldükten sonra 10 ng/kg'dan,  $\text{CCl}_4$  ise 0.15 ml/100g dozunda 1/1 zeytinyağı ile dilue edilerek intraperitoneal olarak verildi. Tüm uygulamalar 24 saat arayla yapıldı.

### **2.3. Biyokimya ve Histopatolojik İnceleme için Örneklerin Alınma Yöntemi**

Çalışma toplam 4 gün sürdü. Son uygulamadan 24 saat sonra tüm ratlar dekapite edildi ve kan örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri 5000 rpm' de 5 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra elde edilen serum örnekleri atropininli epandorflarda analiz edilinceye kadar -20°C' de saklandı. Karaciğerin farklı bölgelerinden doku örnekleri histopatolojik inceleme ve karaciğer doku malondialdehit değerlendirmesi için alındı. Histopatolojik inceleme için alınan karaciğer örnekleri önceden hazırlanmış %10' luk formalin solusyonu ile tespit edildi. Örnekler daha sonra Fırat Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda parafin bloklara konuldu. Karaciğer doku malondialdehit (dMDA) değerlendirmesi için alınan örnekler analiz edilinceye kadar -20°C' de saklandı.

### **2.4. Biyokimyasal Analiz**

Serum AST, ALT, Albumin Olympus AU 600 otoanalizörle Olympus kitler kullanılarak çalışıldı. TNF- $\alpha$  (*Assay Pro, Assay Max Rat TNF- $\alpha$  ELISA kit (rat), MO, USA*) kiti ile ELISA cihazı (*Bio-Tek Instruments ELx 800 Winooski, USA*) ile çalışıldı. Sonuçlar ng/ml olarak verildi. Karaciğer dMDA düzeyleri ise (*NWK-MDA01, Northwest Life science specialist, LLC. Vancouver, Kanada*) spektrofotometrik metodu ile spektrofotometre ile (*9040 Spectrophotometer, MP Labospec., LKB Biochrom, Cambridge, İngiltere*) ölçüldü. Sonuçlar nmol/gram doku olarak verildi.

### **2.5. Histopatolojik Değerlendirme**

Parafin ile fikse edilmiş bloklardan beş mikrometre kalınlığında karaciğer kesitleri alınarak konvansiyonel histopatolojik inceleme için hematoksilen-eozin (HE) ile boyandı. Fibroz değerlendirilmesi için Mason-Trichrom boyaması kullanıldı. Preparatlar Olympus BX-50 ışık mikroskobu ile x40, x100, x200 ve x400 büyütmelerde bu konuda uzman patolog tarafından kör olarak incelendi. HE ile boyanan preparatların tüm alanları x400 büyütme ile ışık mikroskobunda incelendi. Histopatolojik incelemede steatoz, inflamasyon, nekroz ve fibroz değerlendirildi (71).

Steatoz varlığının değerlendirilmesi: steatotik hücrelerin yüzdesi belirlendi ve derecelendirmesi yapıldı. Grade 0: yok, Grade 1: parenkimin %25' inden azında bulunması, Grade 2: %26 ile %50 arasında bulunması, Grade 3: %51 ile %75 arasında olması, Grade 4: %75' den daha fazlasında bulunması şeklinde değerlendirildi.

Nekroz, x400 büyütmede 10 rastgele alandaki odak sayısı, inflamasyon ise mm<sup>2</sup>'ye düşen inflamatuvar hücrelerin sayısı olarak değerlendirildi. Fibroz var (+) veya yok (-) olarak değerlendirildi.

## 2.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 12.0 (SPSS Inc., Sotware Chicago, IL, USA) kullanıldı. Veriler ortalama± standart sapma olarak gösterildi. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı *Kolmogorov-Smirnov testi* ile belirlendi. Gruplar arası verilerin karşılaştırılmasında *Kruskal Wallis testi*, grupların ikili karşılaştırmasında *Mann-Whitney U testi* yapıldı. Ölçülebilir olmayan verilerin değerlendirilmesinde *Fischer'in kesin ki-kare testi* kullanıldı.  $p < 0.05$  istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Deney süresince CCl<sub>4</sub> grubundan 1, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin grubundan 2'şer rat uygulamaya bağlı eksitus oldu. Ratların ortalama ağırlıkları 226.3± 34.3 gr idi. Ratların tedavi öncesi ve sonrasında kilolarında anlamlı fark yoktu (226.3± 34.3 gr vs 220.5± 34.9 gr, p>0.05). Gruplar uygulamalara göre; kontrol (sadece normal rat yemi aldı.), açile ghrelin, des-açile ghrelin ve açile ghrelin/des-açile ghrelin (total ghrelin), CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin olarak gösterildi. Genel olarak, ilk 4 grup tedavi kontrol grubu, sonraki 4 grup ise tedavi grubu olarak adlandırıldı.

#### 3.1. Serum Biyokimya Parametreleri

Tedavi kontrol grupları (kontrol, açile ghrelin, des-açile ghrelin, total ghrelin) arasında aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve serum albümin (Alb) düzeyleri açısından anlamlı fark izlenmedi. Ancak CCl<sub>4</sub> uygulanan ratlarda kontrol, açile ghrelin, des-açile ghrelin ve total ghreline göre AST ve ALT düzeylerinde anlamlı artış gözlenirken, Alb seviyelerinde anlamlı düşüş izlendi (hepsi için, p<0.001). Tüm tedavi gruplarında tedavi kontrol grupları ile kıyaslandığında AST, ALT düzeylerinde anlamlı artış gözlenirken, Alb düzeyinde anlamlı düşüş saptandı. CCl<sub>4</sub> uygulanan ratlar ile CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin uygulanan ratlar arasında AST, ALT ve Alb düzeyleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p>0.05). Ancak, CCl<sub>4</sub> verilen ratlar ile CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin kıyaslandığında AST, ALT düzeylerinde anlamlı düşüş izlenirken, albümin düzeylerinde anlamlı yükseklik saptandı (Tablo 1).

#### 3.2. Oksidatif stres ve Proinflamatuvar Belirteçler

Tedavi kontrol grupları arasında karaciğer dMDA ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Buna ilaveten, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin grupları ile tedavi kontrol grupları birbirleriyle kıyaslandığında da anlamlı fark tespit edilmedi.

**Tablo 1.** Grupların Biyokimya Verileri

GRUPLAR	AST (IU/ml)	ALT (IU/ml)	Alb (g/dl)
<b>Kontrol (n=8)</b>	91.1±7.2 <sup>efh</sup>	253.9± 25.7 <sup>egi</sup>	3.5± 0.1 <sup>egi</sup>
<b>Açile ghrelin (n=8)</b>	91.6± 6.7	251.1± 36.9	3.5± 0.1
<b>Des-açile ghrelin (n=8)</b>	97.6± 14.7	263.8± 25.7	3.5± 0.1
<b>Total Ghrelin (n=8)</b>	94.8± 8.8	252.1± 29.5	3.5± 0.1
<b>CCl<sub>4</sub> (n=7)</b>	390.5± 67.3 <sup>abc</sup>	473.5± 88.6 <sup>ad</sup>	2.9± 0.2 <sup>abd</sup>
<b>CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin (n=6)</b>	262.8± 16.9 <sup>k</sup>	337.7± 79.5 <sup>l</sup>	3.2± 0.1 <sup>km</sup>
<b>CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin (n=6)</b>	359.5± 85 <sup>n</sup>	464± 45.5 <sup>n</sup>	3.0± 0.1 <sup>n</sup>
<b>CCl<sub>4</sub>/total ghrelin (n=8)</b>	270.1± 26.5 <sup>p</sup>	331± 39.5 <sup>f</sup>	3.2± 0.2 <sup>p</sup>

<sup>a</sup> CCl<sub>4</sub> vs Kontrol, CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs Des-açile ghrelin; <sup>e</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin; <sup>f</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin; <sup>h</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin; <sup>k</sup> CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs total ghrelin; <sup>n</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs total ghrelin; <sup>p</sup> CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/ total ghrelin vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/ total ghrelin vs total ghrelin, **p <0.001**

<sup>b</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs Des-açile ghrelin; <sup>c</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin; <sup>g</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin; <sup>j</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin; <sup>r</sup> CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/ total ghrelin vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/ total ghrelin vs total ghrelin, **p <0.01**

<sup>d</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs Des-açile ghrelin; <sup>i</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin; <sup>l</sup> CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs total ghrelin; <sup>m</sup> CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs des-açile ghrelin, **p <0.05**

Karbondioksit uygulanan grupta tedavi kontrol grubuna göre karaciğer dMDA'nın ve TNF- $\alpha$ 'nın anlamlı şekilde yüksek seviyelerde olduğu saptandı (\*[dMDA için CCl<sub>4</sub> vs Des-açile ghrelin, p<0.01] hepsi için, p<0.001\*). CCl<sub>4</sub> uygulanan grup ile CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin uygulanan grup arasında anlamlı farka rastlanmazken, CCl<sub>4</sub> uygulanan grupla CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin alan grup karşılaştırıldığında karaciğer dMDA ve TNF- $\alpha$ 'nın anlamlı düşüş gösterdiği saptandı (sırası ile her bir grup için; p<0.01, p<0.01; p<0.01, p<0.001). Diğer taraftan, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin uygulanan grupla CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin alan grup karşılaştırıldığında CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin grubunda karaciğer

dMDA ve TNF- $\alpha$ 'nın anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (hepsi için,  $p<0.01$ ). Bulgular Tablo 2'de gösterildi.

### 3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik incelemede tedavi kontrol grubunda inflamasyon ve nekroz açısından anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 3). Buna ilaveten bu gruplarda steatoza ve fibroza rastlanmadı. CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin gruplarında tedavi kontrol gruplarına göre steatoz ve fibroz istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek idi (Tablo 3). CCl<sub>4</sub> uygulanan grup ile CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin uygulanan grup karşılaştırıldığında histopatolojik incelemede değerlendirilen tüm parametrelerde anlamlı değişikliğe rastlanmazken, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin uygulananlar ile karşılaştırıldığında bu gruplarda inflamasyonda ve nekrozda anlamlı derecede azalma gözlemlendi (her iki grup için sırası ile;  $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ;  $p<0.05$ ,  $p<0.05$ ), (Şekil 4). Bununla birlikte steatoz ve fibrozda anlamlı değişiklik tespit edilmedi. CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin uygulanan grup CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin uygulananlar ile karşılaştırıldığında bu gruplarda inflamasyonda ve nekrozda anlamlı derecede azalma gözlemlendi (hepsi için,  $p<0.05$ ).

**Tablo 2.** Oksidatif stres ve Proinflamatuvar Belirteçler

GRUPLAR	dMDA (nmol/gr)	TNF- $\alpha$ (ng/ml)
<b>Kontrol (n=8)</b>	2.8 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>	1.4 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>
<b>Açile ghrelin (n=8)</b>	2.9 $\pm$ 1.1	1.4 $\pm$ 0.4
<b>Des-açile ghrelin (n=8)</b>	2.9 $\pm$ 1.2	1.3 $\pm$ 0.1
<b>Total Ghrelin (n=8)</b>	3.2 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.3
<b>CCl<sub>4</sub> (n=7)</b>	6.6 $\pm$ 1.9 <sup>aef</sup>	2.8 $\pm$ 0.7 <sup>bgh</sup>
<b>CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin (n=6)</b>	3.2 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 0.3
<b>CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin (n=6)</b>	5.7 $\pm$ 1.0 <sup>i</sup>	2.9 $\pm$ 1.1 <sup>i</sup>
<b>CCl<sub>4</sub>/total ghrelin (n=8)</b>	3.3 $\pm$ 0.5	1.3 $\pm$ 0.1

<sup>a,b</sup> CCl<sub>4</sub> vs kontrol, CCl<sub>4</sub> vs açile ghrelin CCl<sub>4</sub> vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs total ghrelin; <sup>c</sup> kontrol vs CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin; <sup>h</sup>CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total grelin, **p <0.001**

<sup>d</sup> Kontrol vs CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin; <sup>e</sup> CCl<sub>4</sub> vs des-açile grelin; <sup>f,g</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, <sup>f</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin; <sup>i</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, <sup>i</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin, **p <0.01**

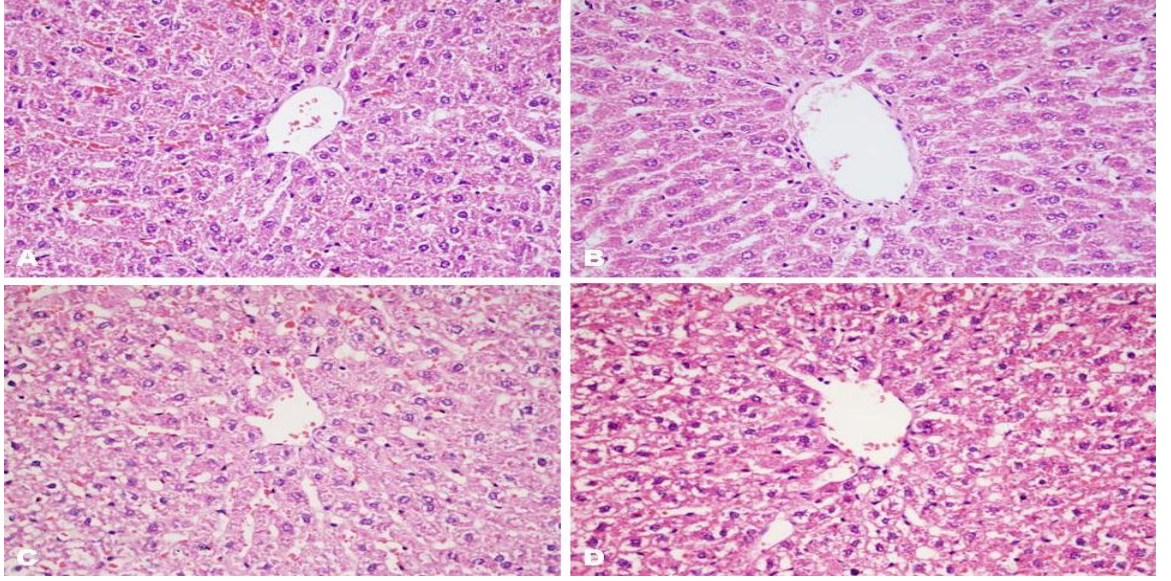
**Tablo 3.** Grupların Histopatolojik Bulguları

<b>GRUPLAR</b>	<b>İnflamasyon (mm<sup>2</sup>/hücre)</b>	<b>Nekrozis (mm<sup>2</sup>/hücre)</b>	<b>Steatoz (%)</b>	<b>Fibroz (-/+)</b>
<b>Kontrol (n=8)</b>	1.3± 0.2	0.05±0.08	-	-
<b>Açile ghrelin (n=8)</b>	1.3± 0.2	0.03± 0.04	-	-
<b>Des-açile ghrelin (n=8)</b>	1.3± 0.2	0.05± 0.08	-	-
<b>Total Ghrelin (n=8)</b>	1.3± 0.2	0.04± 0.05	-	-
<b>CCl<sub>4</sub> (n=7)</b>	16.3± 4 <sup>ac</sup>	0.9± 0.4 <sup>ab</sup>	2.3± 0.5 <sup>a</sup>	+
<b>CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin (n=6)</b>	10.1 ± 1.6	0.4± 0.1	2.3± 1 <sup>e</sup>	+
<b>CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin (n=6)</b>	12.6 ± 0.8 <sup>d</sup>	0.7± 0.2 <sup>d</sup>	2± 0.6 <sup>g</sup>	+
<b>CCl<sub>4</sub>/total ghrelin (n=8)</b>	9.8± 1.8	0.5± 0.2	1.9± 0.8 <sup>ij</sup>	+

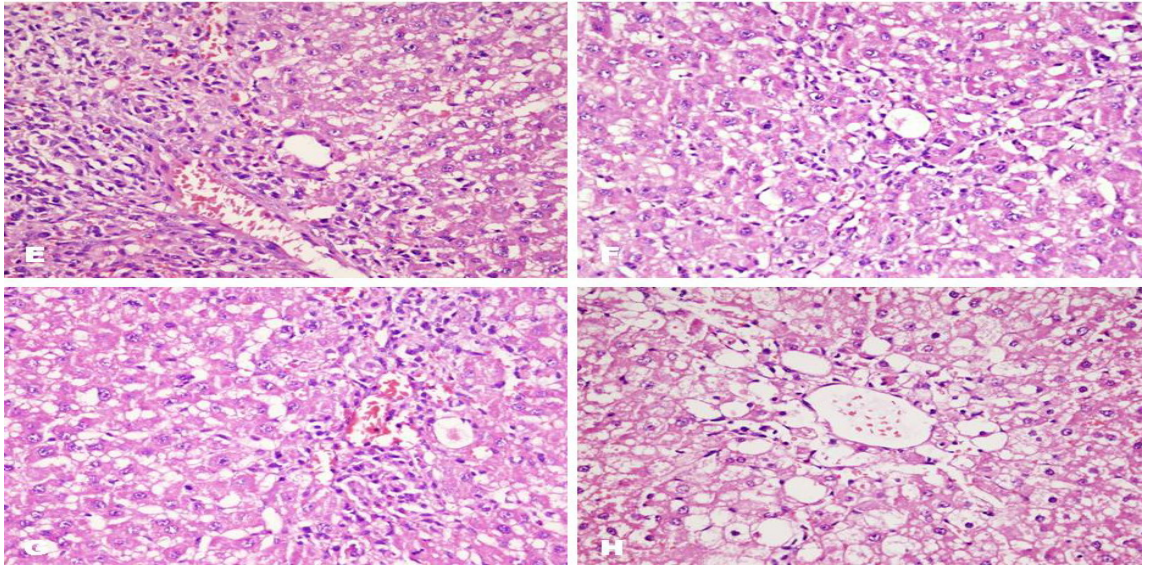
<sup>a</sup> CCl<sub>4</sub> vs kontrol, CCl<sub>4</sub> vs açile ghrelin CCl<sub>4</sub> vs des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs total ghrelin; <sup>f</sup> CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Total ghrelin; <sup>h</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Total ghrelin; <sup>i</sup> CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Açile ghrelin; <sup>k</sup> CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Total ghrelin, **p <0.001**

<sup>c</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin <sup>e</sup> CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin vs Total ghrelin; <sup>g</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Kontrol, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs Total ghrelin; <sup>j</sup> CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Des-açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/total ghrelin vs Total ghrelin, **p <0.01**

<sup>b</sup> CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub> vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin, <sup>d</sup> CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin, CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin vs CCl<sub>4</sub>/total ghrelin, **p <0.05**



**Şekil 3.** Tedavi kontrol grubundaki ratların [A) Kontrol B) Açile ghrelin C) Des-açile ghrelin D) Total ghrelin] histopatolojik bulguları: normal karaciğer dokusunun izlendiği gruplar (HEx400)



**Şekil 4.** Tedavi grubundaki ratların [E) CCl<sub>4</sub> F) CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin G) CCl<sub>4</sub>/des-açile ghrelin H) CCl<sub>4</sub>/total ghrelin] histopatolojik bulguları: E) İnflamasyon, fokal nekroz, fibroz ve yağlanmada belirgin artışın olduğu karaciğer dokusu (HEx400) F) İnflamasyonda azalma görülürken yağlanmanın devam ettiği karaciğer dokusu (HEx400) G) İnflamasyonda azalma görülürken yağlanmanın devam ettiği karaciğer dokusu (HEx400) H) İnflamasyonda belirgin azalmanın olduğu ancak yağlanmanın devam ettiği karaciğer dokusu (HEx400).

#### 4. TARTIŞMA

Karaciğer hasarı viral hepatitten konjenital metabolik problemlere kadar geniş çerçevede ortaya çıkabilen bir durumdur. Neden ne olursa olsun bu durum karaciğer hasarının oluşmasında ve ilerlemesinde öncü bir rolü olan KYH'nin etkinleşmesi ile neticelenir. Böylece KYH faal hale geçerek matriks salınımına ve fibroz gelişimine neden olur (72). Karaciğer fibrogenezinde karaciğer hasarında ortaya çıkan oksidatif stres ve ROT ciddi rol oynamaktadır (1-6). Oksidatif stres, ROT ve çeşitli sitokinlerle hepatosit, kupffer ve KYH etkileşiminde oluşan proinflamatuvar olaylar fibrogenezin oluşmasına katkıda bulunmaktadır (7-9). Böylece meydana gelen ileri düzeyde fibroz sirozla neticelenerek ciddi ve hayatı tehdit eden komplikasyonlara yol açmaktadır. Bu açıdan, gerek akut gerekse kronik karaciğer hasarının iyileşme sürecinde KYH faaliyetlerinin anlaşılabilmesi büyük önem arz etmektedir.

Karbontetraklorür hayvan çalışmalarında ksenobiyotik sistem üzerinden karaciğer hasarı oluşturmada sıklıkla kullanılan bir modeldir (17-20). Tek doz CCl<sub>4</sub> uygulanması neticesinde dahi KYH aktive olmakta ve böylece karaciğer hasarı meydana gelmektedir. Bu hasarın sürekli olarak devam etmesi durumunda faal hale geçen KYH sayısında artış ve fibrogenezde ilerleme meydana geldiği gibi, karaciğer hasarını oluşturan nedenin ortadan kaldırılması ve kronik karaciğer hastalığına neden olan faktörlerin tedavisi ile karaciğer fibrozunda düzelme sağlanabilmektedir (10-16, 72-75). CCl<sub>4</sub> mitokondriyal monooksijenaz sistemde (CYP<sub>450</sub> 2E1) metabolize olarak aktif metaboliti olan kararsız trikorometil serbest radikallere (CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·) dönüşür. CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>· hücre proteinlerine kovalent olarak bağlanarak, membran lipid peroksidasyonuna ve hücre nekrozuna yol açan bir takım zincirleme reaksiyonu başlatır. Bundan dolayı, karaciğer hasarının engellenmesinde ve tedavisinde serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonunun ortadan kaldırılması anahtar rol oynamaktadır (17-20).

Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub> ile akut karaciğer hasarı oluşturulmuş olan ratlarda; ilk defa açile ghrelin ve total ghrelin uygulamasının AST, ALT ve albümin düzeylerinde iyileşmeye ve bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- $\alpha$  seviyelerinde ve karaciğer dMDA düzeylerinde azalmaya yol açtığı gösterildi. Buna ilaveten, histopatolojik incelemede de ghrelin'in bu antiinflamatuvar ve antioksidan etkisini teyid eden bulgular mevcuttu. Des-açile ghrelin'in ise böyle bir etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Ghrelin GHS-R1a'ya doğal olarak bağlanan peptid yapıda bir hormondur. Dolaşımda bulunan ghrelin'in 2/3'ü midenin oksintik mukozasında bulunan X/A benzeri hücrelerce, kalan kısmının büyük miktarı ise ince bağırsaklardaki X/A benzeri hücrelerce üretilir (21, 22). GHS reseptörleri merkezi sinir sistemi ve çevre dokularda bulunmakta ve ghrelin GH salınımını buralardan sağlamaktadır (24). Ghrelin göstermekte olduğu bu aktivitesi için -3. aminoasitte açile modifikasyonu-Serin-3'ün bir yağ asiti olan n-oktanoik asit ile modifikasyonu gerekmektedir. Bununla birlikte rat midesinde des-açile ghrelin olarak tanımlanan, açile ghrelin gibi GH ve endokrin aktivitesi göstermeyen başka bir ghrelin daha saptanmıştır. Des-açile ghrelin'in gıda alımını uyarmada, hücre proliferasyonunun modülasyonunda ve adipogenezde açile ghrelin ile birlikte hareket ettiğini gösteren veriler elde edilmiştir (23, 24). Buna ilaveten, GHSR mRNA'nın birçok lenfoid organda, monositler, T ve B hücreler gibi farklı lökosit alt gruplarında eksprese olması ghrelinin immün etkileşimlerde ve oluşumda rol oynayabileceğini göstermektedir (25, 76). Ghrelin'in pankreatobiliyer inflamasyonu ve pankreatobiliyer tıkanıklığa bağlı yakın organ hasarını nötrofil aktivasyonunu baskılayarak düzelttiği gösterilmiştir (26). Ghrelin ve GHS-R insan T hücrelerinde ve monositlerde bulunduğu, ghrelin'in IL1- $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi LPS leptine bağlı oluşan proinflamatuvar anorektik sitokinleri baskıladığı gösterilmiştir (25, 77, 78). Başka bir çalışmada, ghrelin'in iskele/reperfüzyona bağlı oluşan gastrik lezyonların gastrik kan akımını artırarak ve NF-kappa B ve plazma TNF- $\alpha$  düzeylerini azaltarak iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir (79). Bu çalışmada bu bulgulara benzer şekilde açile ghrelin ve total ghrelin verilen tedavi gruplarında ghrelin'in proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağladığı, buna karşın des-açile ghrelin'in olumlu veya olumsuz yönde bir etki göstermediği saptandı. Yakın zamanda İşeri ÖS ve ark. (80) ratlarda safra yolu ligasyonu ile oluşturulan kronik karaciğer hasarında ghrelin'in antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiğini ve daha da önemlisi karaciğerde histopatolojik düzeyde olumlu etkisini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, antifibrotik düzeyde böyle bir etkinlik söz konusu olmasa da nekroinflamatuvar düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme ve benzer şekilde antiinflamatuvar ve antioksidan etki saptandı. Bu durum, bu çalışmanın akut süreci

değerlendirmesinden ve böylece ratların uzun dönem ghrelin tedavisi almamasından kaynaklanıyor olabilir.

Karbontetraklorür önceden bahsedilen mekanizmalarla hücre membranında hasara yol açarak otokatalitik lipid peroksidasyonuna neden olur. Buna ilaveten, sitotoksik etki ve enzim indirgenmesi neticesinde kalsiyum hemostazının bozulmasına ve hepatotoksik etki sonucu karaciğerde kalıcı rejeneratif ve proliferatif değişiklikler meydana getirir. Böylece, ROT'da artışa neden olarak oksidatif strese, proinflamatuvar sitokinlerde ve karaciğer enzimlerinde artışa sebep olduğu gibi histopatolojik düzeyde de balon dejenerasyona, inflamatuvar hücrelerde artışa nekroza ve fibroza yol açar (55). Diğer taraftan, oksidatif stres varlığını yalnızca ROT'u ortaya koyarak izah etmek yeterli değildir. Oksidatif stres, antioksidan savunma mekanizmasının zayıflaması ile birlikte, ROT oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik neticesinde ortaya çıkar. ROT oluşumu ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge; süperoksit dismutaz ve nitrik oksit sentaz gibi bir kısım enzimlere bağlı olarak gerçekleşir (81). Bu çalışmada, CCl<sub>4</sub> uygulanan tüm rat gruplarında mevcut histopatolojik bulguları doğrulayan sonuçlar mevcuttu. Antioksidan savunma mekanizmalarında rol alan enzimler çalışılmamış olmakla birlikte, bu gruplarda lipid peroksidasyon belirteci olan dMDA, TNF- $\alpha$  ve aminotransferazların seviyelerinde artış izlendi. Ancak CCl<sub>4</sub>/açile ghrelin ve CCl<sub>4</sub>/total ghrelin uygulanan gruplarda CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplara göre gerek aminotransferazlar, gerekse dMDA ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel düzeyde anlamlı düzeyde azalma saptandı. Daha da önemlisi, karaciğerdeki inflamasyon ve nekrozda olumlu yöndeki histopatolojik değişiklikler bahsi geçen bulguları teyid eder nitelikte idi. Bu bulgular, ghrelin'in dMDA ve TNF- $\alpha$  düzeyini azaltarak CCl<sub>4</sub>'e bağlı akut karaciğer hasarını engellediğini ortaya koymaktadır. Gerçekten de, in vitro çalışmalarla, ghrelin'in insan polimorfo nükleositlerinde doza bağımlı şekilde ROT'u baskıladığı gösterilmiştir (82). Buna ilaveten, santral ve intraperitoneal uygulanan ghrelin, etanole bağlı gastrik ülser oluşumunu doza bağlı bir şekilde azaltmaktadır. Bu etkisini, nitrik oksit sentezinin bir baskılayıcısı olan N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine metilester üzerinden gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (83, 84). Diğer taraftan, ghrelin'in vasküler süperoksit üretimini bahsi geçen mekanizma ile spontan hipertansif ratlarda baskıladığı ve balık lökositlerinde süper oksit dismutaz'ın mRNA

düzeylerinde artışa yol açarak etki gösterdiğini, böylece antioksidan mekanizmaları etkilediği raporlanmıştır (85, 86).

Daha önceden bahsedildiği gibi, nedeni ne olursa olsun akut veya kronik karaciğer hasarı KYH'nin faal hale geçmesine ve sayısında artışa neden olmaktadır. Karaciğer hasarında önemli rol oynayan aktif KYH'nin hayatını devam ettirmesi çözünür büyüme faktörleri, sitokinler ve fibrotik matriksin bileşenlerine bağlıdır. KYH akut hasar esnasında  $\alpha$ -SMA eksprese eder ve artan hasarla birlikte interstisyel kollajen I ve III'te artışa neden olur. Bu hasarın düzeltilmesi, karaciğerin normal histolojiye ve aktif KYH'nin tekrar eski haline dönmesi ile mümkündür (72, 87-91). Bu çalışmada verilen tedavi sonrasında  $\alpha$ -SMA eksprese eden KYH sayısı ve biriken kollajen tipi değerlendirilmedi. Ancak gerek açile ghrelin'in gerekse total ghrelin'in akut karaciğer hasarında meydana gelen histopatolojik değişiklikleri olumlu yönde etkiledikleri gözlemlendi.

Sonuç olarak, hepatik fibrozun tedavisinde neden olan faktörden bağımsız olarak karaciğer hasarı neticesinde ortaya çıkan ve KYH etkinleşmesine neden olan oksidatif stres faktörlerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin oluşumunun önlenmesi anahtar rol oynamaktadır. Açile ghrelin ve total ghrelin gerek oksidatif stresi azaltarak gerek ise antiinflamatuvar etki ile  $CCl_4$  bağlı oluşan akut karaciğer hasarındaki histopatolojik düzeyde meydana gelen değişiklikleri olumlu yönde etkilemiştir. Buna karşın des-açile ghrelin'in böyle bir özelliği söz konusu değildir. Bu açıdan bakıldığında açile ghrelin ve total ghrelin karaciğer hasarında bir tedavi seçeneği olabilir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, van Goor H, Jansen P, Benedetti A, Moshage H. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide radicals in activation and proliferation of rat hepatic stellate cells. *Liver* 2001; 21: 1-12.
2. Gabele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: 69-77.
3. Casini A, Pinzani M, Milani S, Grappone C, Galli G, Jezequel AM, Schuppan D, Rotella CM, Surrenti C. Regulation of extracellular matrix synthesis by transforming growth factor beta 1 in human fat-storing cells. *Gastroenterology* 1993; 105: 245-253.
4. de Leeuw AM, McCarthy SP, Geerts A, Knook DL. Purified rat liver fat-storing cells in culture divide and contain collagen. *Hepatology* 1984; 4: 392-403.
5. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol* 2001; 35: 297-306.
6. Svegliati-Baroni G, Inagaki Y, Rincon-Sanchez AR, Else C, Saccomanno S, Benedetti A, Ramirez F, Rojkind M. Early response of alpha 2 (I) collagen to acetaldehyde in human hepatic stellate cells is TGF-beta independent. *Hepatology* 2005; 42: 343-352.
7. Cassiman D, Deneef C, Desmet VJ, Roskams T. Human and rat hepatic stellate cells express neurotrophins and neurotrophin receptors. *Hepatology* 2001; 33: 148-158.
8. Russo FP, Alison MR, Bigger BW, Amofah E, Florou A, Amin F, Bou-Gharios G, Jeffery R, Iredale JP, Forbes SJ. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology* 2006; 130: 1807-1821.
9. De Minicis S, Bataller R, Brenner DA. NADPH oxidase in the liver: defensive, offensive, or fibrogenic? *Gastroenterology* 2006; 131: 272-275.

10. Bataller R, Brenner D. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218.
11. Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, Clément B, Rissel M, Deugnier Y, Campion JP, Guillouzo A. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. *Am J Pathol* 1990;137:1333–1342.
12. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJ. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis: hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102: 538–549.
13. Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, Ratouis A, Sauvanet A, Fléjou JF, Degott C, Belghiti J, Bernades P, Valla D, Ruszniewski P, Lévy P. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Engl J Med* 2001; 344: 18-23.
14. Arthur MJ. Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1525-1528.
15. Pares A, Caballeria J, Bruguera M, Torres M, Rodes J. Histological course of alcoholic hepatitis: influence of abstinence, sex and extent of hepatic damage. *J Hepatol* 1986; 2: 33-42.
16. Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: Improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology* 2004; 39: 1647-1654.
17. Brattin WJ, Jr Glende EA, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1: 27-38.
18. Recknagel RO, Jr Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 1989; 43: 139-154.
19. Brent JA, and Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry. *J Toxicol Clin Toxicol* 1993; 31: 139-171.

20. Williams AT, Burk RF. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 279-284.
21. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazo M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
22. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-4426.
23. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12: 276-288.
24. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29: 1255-1270.
25. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakthivel SK, Palaniappan R, Lillard Jr JW, Taub DD. Ghrelin inhibits leptin-and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.
26. Kasimay O, Iseri SO, Barlas A, Bangir D, Yegen C, Arbak S, Yegen BC. Ghrelin ameliorates pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats. *Hepatol Res* 2006; 36: 11-19.
27. Scherlock S, Dooley S. Anatomy and function. In: Scherlock S, Dooley S (eds). *Diseases of the Liver and Biliary System*. 11<sup>th</sup> edition, Blackwell Publishing, Milan, Italy 2002; 1-17.
28. Wanless IR. Anatomy, Histology, Embryology, and Developmental Anomalies of the Liver. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 8<sup>th</sup> Edition, Saunder Elsevier, Philadelphia, USA 2006; 1543-1585.

29. Ökten A. Karaciğerin fonksiyonel anatomisi. Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y. Gastroenterohepatoloji. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2001; 311-314.
30. Dere F. Karaciğer ve safra kesesi anatomisi. Anatomi Ders Kitabı. 3. Baskı, Okullar Pazarı, Adana 1994; 633-640.
31. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: Basic Histology: 7<sup>th</sup> Ed, Appleton & Lange, İstanbul 1993; 380-394.
32. Tezel A, Dökmeçi G, Soylu AR. Anormal karaciğer fonksiyon testleri olan hastaya yaklaşım. Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ. Gastroenteroloji. 1. baskı, Fersa Matbaacılık, Ankara 2002; 421-422.
33. Lingappa VR Liver Disease. McPhee SJ, Lingappa VR, Ganong WF, Lange JD. Pathophysiology of Disease An Introduction to Clinical Medicine. 3<sup>th</sup> Edition, McGraw Hill, USA 2000; 327-361
34. Guo J, Friedman SL. Hepatic fibrogenesis. Semin Liver Dis 2007; 27: 413-426.
35. Benvegnu L, Gios M, Boccato S, Alberti A. Natural history of compensated viral cirrhosis: a prospective study on the incidence and hierarchy of major complications. Gut 2004; 53: 744-749.
36. Popper H, Uenfriend S. Hepatic fibrosis. Correlation of biochemical and morphologic investigations. Am J Med 1970; 49: 707-721.
37. Singer AJ, Clark RA, Singer II, Kawka DW, Kazazis DM. Cutaneous wound healing. N Engl J Med 1999; 341: 738-746.
38. Svegliati-Baroni G, De Minicis S, Marziani M. Hepatic fibrogenesis in response to chronic liver injury: novel insights on the role of cell-to-cell interaction and transition. Liver Int 2008 ;28: 1052-1064.
39. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. J Hepatol 2003; 38: 38–53.
40. Pinzani M, Rombouts K. Liver fibrosis: from the bench to clinical targets. Dig Liver Dis 2004; 36: 231-242.

41. Cassiman D, Libbrecht L, Desmet V, Denef C, Roskams T. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers. *J Hepatol* 2002; 36: 200-209.
42. Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, Kalluri R. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282: 23337-23347.
43. Moreira RK. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 1728-1734.
44. Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clinica Chimica Acta* 2006; 364: 33-60.
45. Gong W, Roth S, Michel K, Gressner AM. Isoforms and splice variant of transforming growth factor beta-binding protein in rat hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1998; 114: 352-363.
46. Marra F, Choudhury GG, Pinzani M, Abboud HE. Regulation of platelet-derived growth factor secretion and gene expression in human liver fat-storing cells. *Gastroenterology* 1994; 107: 1110-1117.
47. Savaş MC. Hepatik Fibrozisin Patogenezi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1: 5-10.
48. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250.
49. Nieto N, Friedman SL, Greenwel P, Cederbaum AI. CYP2E1-mediated oxidative stress induces collagen type I expression in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999; 30: 987-996.
50. Bachem MG, Melchior R, Gressner AM. The role of thrombocytes in liver fibrogenesis: effects of platelet lysate and thrombocyte-derived growth factors on the mitogenic activity and glycosaminoglycan synthesis of cultured rat liver fat storing cells. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27: 555-565.

51. Eng FJ, Friedman SL. Fibrogenesis: I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: 7– 11.
52. Friedman SL. Hepatic fibrosis-Overview. *Toxicology* 2008; 254: 120-129.
53. Chen MH, Chen JC, Tsai CC, Wang WC, Chang DC, Tu DG, Hsieh HY. The role of TGF-beta1 and cytokines in the modulation of liver fibrosis by Sho-saiko-to in rat's bile duct ligated model. *J Ethnopharmacol* 2005; 97: 7-13.
54. Guo CY, Wu JY, Wu YB, Zhong MZ, Lu HM. Effects of endothelin-1 on hepatic stellate cell proliferation, collagen synthesis and secretion, intracellular free calcium concentration. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2697-2700.
55. Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2007; 25: 185-209.
56. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms in hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002; 65: 166-176.
57. Plaa GL. Chlorinated methanes and liver injury: highlights of the past 50 years. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 42-65.
58. Omura M, Katsumata T, Misawa H, Yamaguchi M. Decrease in protein kinase and phosphatase activities in the liver nuclei of rats exposed to carbon tetrachloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 160: 192-197.
59. Mehendale HM. Potentiation of halomethane hepatotoxicity by chlordecone: a hypothesis for the mechanism. *Med Hypotheses* 1990; 33: 289-299.
60. Recknagel RO, Glende EA, Dolak JA, Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 1989; 43: 139-154.
61. Tamayo R. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl<sub>4</sub> an adequate model of human cirrhosis? *Hepatology* 1983; 3: 112-120.

62. Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 1982; 83: 1183-1190.
63. Pope AM, Rall DP. *Environmental Medicine: Integrating a missing element in to medical education, case study 8: Carbon tetrachloride*, US National Academy Pres 1995: 249-266.
64. Van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev.* 2004; 25: 426-457.
65. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 21995-22000.
66. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
67. Jeffery PL, Duncan RP, Yeh AH, Jaskolski RA, Hammond DS, Herington AC, et al. Expression of the ghrelin axis in the mouse: an exon 4-deleted mouse proghrelin variant encodes a novel C terminal peptide. *Endocrinology* 2005; 146: 432-440.
68. Yeh AH, Jeffery PL, Duncan RP, Herington AC, Chopin LK. Ghrelin and a novel proghrelin isoform are highly expressed in prostate cancer and ghrelin activates mitogen-activated protein kinase in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8295-8303.
69. Zhang JV, Ren P-G, Avsian-Kretchmer O, Luo C-W, Rauch R, Klein C, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 2005; 11: 996-999.
70. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495-522.

71. Bahcecioglu IH, Koca SS, Poyrazoglu OK, Yalniz M, Ozercan IH, Ustundag B, Sahin K, Dagli AF, Isik A. Hepatoprotective effect of infliximab, an anti-TNF-alpha agent, on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis. *Inflammation* 2008; 31: 215-221.
72. Iredale JP. Hepatic Stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 427-436.
73. Saile B, Knittel T, Matthes N, N, Schott P, Ramadori G. CD95/CD95-L-mediated apoptosis of the hepatic stellate cell. *Am J Pathol* 1997; 151: 1265-1272.
74. Sover MT, Ceballos R, Aldrete JS. Reversibility of severe hepatic damage caused by jejunoileal bypass after re-establishment of normal intestinal continuity. *Surgery* 1976; 79: 601-604.
75. Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1599-1607.
76. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2991.
77. Chang L, Zhao J, Yang J, Zhang Z, Du J, Tang C. Therapeutic effects of ghrelin on endotoxic shock in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 473: 171-176.
78. Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norle'n P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120: 23-32.
79. Konturek PC, Brzozowski T, Walter B, Burnat G, Hess T, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 2006; 536: 171-178.

80. Işeri SO, Sener G, Saglam B, Ercan F, Gedik N, Yeğen BC. Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regul Pept* 2008;146: 73-79.
81. Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-295.
82. El Eter E, Al Tuwajjiri A, Hagar H, Arafa M. In vivo and in vitro antioxidant activity of ghrelin: Attenuation of gastric ischemic injury in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1791-1799.
83. Sibilía V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, Campanini N, Deghenghi R, Netti C. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology* 2003; 144: 353-359.
84. Konturek PC, Brzozowski T, Pajdo R, Nikiforuk A, Kwiecien S, Harsch I, Drozdowicz D, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55: 325-336.
85. Kawczynska-Drozd A, Olszanecki R, Jawien J, Brzozowski T, Pawlik WW, Korbut R, Guzik TJ. Ghrelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 2006;19: 764-767.
86. Yada T, Kaiya H, Mutoh K, Azuma T, Hyodo S, Kangawa K. Ghrelin stimulates phagocytosis and superoxide production in fish leukocytes. *Endocrinol* 2006; 189: 57-65.
87. Friedman SL. The cellular basis of hepatic fibrosis: Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835.
88. Alcolado R, Arthur MJP, Iredale JP. Pathogenesis of liver fibrosis. *Clin Sci* 1997; 92: 103-112.
89. Friedman SL, Roll FJ, Boyles J, Bissell DM. Hepatic lipocytes: the principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8681-8685.

90. Maher JJ, McGuire RF. Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis in vivo. *J Clin Invest* 1990; 86: 1641-1648.
91. Mathews J, Hines JE, James OF, Burt AD. Non-parenchymal cell responses in paracetamol (acetaminophen) induced liver injury. *J Hepatol* 1994; 20: 537-541

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Osmaniye’de doğdum. İlkokul eğitimimi Osmaniye’de, orta ve lise eğitimimi Mersin’de tamamladım. 1993 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi’nde tıp eğitimime başladım. 1999 yılında İstanbul Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 2000 yılının Haziran ayında Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Kliniği’nde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Ağustos 2004 yılında İç Hastalıkları Uzmanı oldum. Ağustos 2004 ile Aralık 2005 yılları arasında İç Hastalıkları Gastroenteroloji Bölümü’nde İç Hastalıkları Uzmanı olarak görev yaptım. Aralık 2005 tarihinde İç Hastalıkları Gastroenteroloji Bölümü’nde ihtisasa başladım.