



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK
LİSANS
TEZİ

HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN DIŞI SIÇANLARDA
ARI SÜTÜ TAKVİYESİNİN KARACİĞER
ÜZERİNDEKİ OLASI ETKİSİ

DENİZ İREM BULUT

HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2018



**HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN DIŞI SIÇANLARDA ARI SÜTÜ
TAKVİYESİNİN KARACİĞER ÜZERİNDEKİ OLASI ETKİSİ**

Deniz İrem BULUT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2018

Gazeteci

hazırlanmış

• Tez

olarak

• Tez

• Bu

bildirir, aksi

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

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

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

Deniz İrem BULUT

20.06.2018

**HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN DIŞI SIÇANLARDA ARI SÜTÜ TAKVİYESİNİN
KARACİĞER ÜZERİNDEKİ OLASI KORUYUCU ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Deniz İrem BULUT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2018

ÖZET

Çalışmamızda hipotiroidizmin karaciğer üzerinde oluşturduğu etkiler temel alınarak, bu etkilere cevap olarak karaciğer kök hücrelerinin rejenerasyonu ve hipotiroidinin meydana getirebileceği olumsuz etkilere karşı arı sütünün olası koruyucu özelliklerinin araştırılması amaçlandı. 30 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan, 5 gruba ayrılarak 30 günlük deney süresince; kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmazken, sham kontrol grubuna 30 gün boyunca 10 mg/kg serum fizyolojik uygulaması, hipotiroidi grubuna 30 gün boyunca serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 10 mg/kg propylthiouracil'in intraperitoneal uygulaması, arı sütü + hipotiroidi grubuna ise 30 gün boyunca, distile suda çözünmüş 100 mg/kg arı sütü gavj uygulaması ve eş zamanlı olarak serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 10 mg/kg propylthiouracil'in intraperitoneal uygulaması yapıldı. Deney bitiminde yüksek doz anestezi altında feda edilen deneklerin karaciğer dokuları alındı, ışık mikroskopik inceleme için takip yöntemleri uygulandı. Histokimyasal boymada Hematoksilen-eozin, immünohistokimya boyamalarında ise SOD1 ve TROP2 uygulandı. Histokimyasal boyamalar sonucunda hipotiroidi oluşturulan grupta vena centralis ve vena porta'nın dalı olan ven yapılarında dilatasyonlar, hepatositlerde piknotik çekirdeklerde, vakuolizasyonda, nekrozda görece artış ve hepatosit kordonlarında bozulmalar saptandı. Hipotiroidinin karaciğerde oksidatif stresi tetikleyerek dejenerasyona neden olduğu SOD1 immünohistokimya boyması ile tespit edildi ve meydana gelen dejeneratif etkilere cevaben karaciğer kök hücrelerinin aktive oldukları TROP2 immünohistokimya boyaması ile belirlendi. Hipotiroidinin karaciğer dokusu üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu, koruma amaçlı kullanılan arı sütünün ise etkinliğinin yeterli olduğu kanısına varıldı.

Bilim Kodu : 1033
Anahtar Kelimeler : Hipotiroidi, arı sütü, oksidatif stres, karaciğer kök hücreleri
Sayfa Adedi : 108
Danışman : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF ROYAL JELLY ADMINISTRATION
ON LIVER OF HYPOTHYROID INDUCED FEMALE RATS
(M. Sc. Thesis)

Deniz İrem BULUT

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES
June 2018

ABSTRACT

Based on the effects of hypothyroidism on the liver, we aimed to investigate regeneration of liver stem cells in response to these effects and the possible protective properties of royal jelly against hypothyroidism. 30 female Wistar albino rats were divided into 5 equal groups. Throughout in 30-day experiment, there was no application performed to control group. The sham control group received 10 mg / kg saline for 30 days. Hypothyroid group received 10 mg/kg propylthiouracil dissolved in physiological saline by intraperitoneal administration. Royal jelly group received 100 mg/kg royal jelly dissolved in distilled water by gavage. Royal jelly + hypothyroid group received 10 mg/kg propylthiouracil by intraperitoneal administration and simultaneously 100 mg /kg royal jelly by gavage. At the end of the experiment, liver tissues were taken from subjects which was sacrificed under high-dose anesthesia. Light microscobic monitoring methods were applied. Hematoxylin-Eosin, SOD1 and TROP2 stainings were performed. Histochemical staining revealed dilatations in vena centralis and venous structures of vena porta, increased picnotic nuclei, vacuolization, necrosis in hepatocytes and deterioration in hepatocyte cords were detected. SOD1 immunohistochemistry was used to determine the hypothyroidism induced oxidative stress and degeneration in the liver, and in response to the degenerative effects, TROP2 immunohistochemical staining of liver stem cells were determined. It was concluded that hypothyroidism caused adverse effects on liver tissue and royal jelly is sufficient to demonstrate protective effects.

Science Code : 1033
Key Words : Hypothyroidism, royal jelly, oxidative stress, liver stem cells
Page Number : 108
Supervisor : Prof. Dr. Çiğdem ELMAS

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve engin tecrübeleriyle bana her zaman yardımcı olan, yanında öğrenim görmekten onur duyduğum, kıymetli hocam Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL başta olmak üzere, hoşgörüsü, güler yüzü, deneyimleri ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, sevgili hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Çiğdem Elmas'a, yüksek lisans eğitimimde teorik alt yapımın oluşmasına büyük katkıda bulunan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Gülnur Take Kaplanoğlu ve Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na,

Tezimin deney aşamasını birlikte yürüttüğüm, akademik çalışma disiplini kendime örnek aldığım, hoşgörü ve desteğini benden esirgemeyen değerli Arş. Gör. Dr. Cemile Merve SEYMEN'e ve tezimin deney aşamasında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Ayşe ÇAKIR GÜNDOĞDU ve Uzm. Dr. Süheyla Esra ÖZKOÇER'e,

Her zaman güler yüzlü ve yardıma hazır olan sevgili asistan arkadaşım Arş. Gör. Pakize Nur AKKAYA'ya,

Fikir alışverişi yapmaktan büyük keyif aldığım asistan arkadaşlarım sevgili Arş. Gör. İsmail TÜRKOĞLU ve Arş. Gör. Hüseyin Erdiç BEŞİKÇİOĞLU'na,

Yüksek lisans eğitimime birlikte başladığım, sevgi ve desteklerini her zaman gösteren değerli asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Pınar KAÇAMAK, Arş. Gör. Müşerref Şeyma CEYHAN, Arş. Gör. Asiye Aslı Emniyet ve Arş. Gör. Gökçe Nur YÜCEL'e,

Anabilim Dalı personelimiz değerli Recep ORHAN'a,

Bugünlere gelmemde emeği olan, sevgisini asla esirgemeyen, hayatıma kişiliğiyle ılık tutan, beni her şart ve koşulda destekleyen biricik annem İlknur KENEZ'e,

Her anımda yanımda olan, sabrı ve desteğini benden esirgemeyen değerli Baki YILDIZ'a

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Karaciğer Gelişimi	5
2.2. Karaciğer Anatomisi.....	7
2.3. Karaciğer Histolojisi.....	11
2.3.1. Klasik lobül	11
2.3.2. Portal lobül	12
2.3.3. Karaciğer asinüsü (Hepatik Sinüs)	12
2.4. Karaciğer Fizyolojisi	15
2.5. Tiroid Bezi Histofizyolojisi.....	23
2.6. Hipotiroidizm	25
2.7. Serbest Radikaller.....	28
2.8. Antioksidanlar	30
2.9. Oksidatif Stresin ve Hücrel Yapılar Üzerine Etkileri	31
2.10. Arı Sütü	32
2.10.1. Arı sütü'nün fiziksel özellikleri	33
2.10.2. Arı sütü'nün kimyasal özellikleri.....	33

	Sayfa
2.10.3. Arı sütü'nün biyolojik etkinliği	35
2.11. Karaciğer Kök Hücreleri	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma.....	41
3.2. Deneyin Yapılışı.....	41
3.2.1. Propiltiourasil (PTU) hazırlanışı	41
3.2.2. Deneyin uygulanışı.....	41
3.3. Işık Mikroskopik Yöntem	42
3.3.1. Hematoksilen eozin boyama yöntemi	43
3.3.2. İmmünohistokimyasal yöntem	44
3.4. ELISA Yöntemi.....	45
3.5. İstatiksel Analizler	45
4. BULGULAR.....	47
4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	47
4.1.1. Hematoksilen eozin boyama bulguları	47
4.1.2. SOD1 immünohistokimya boyama bulguları.....	49
4.1.3. TROP2 immünohistokimya boyama bulguları.....	51
4.2. ELISA Yöntemi Bulguları.....	68
5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKLAR	83
EKLER.....	105
EK-1. Sertifika	106
EK-2. Etik kurul onayı	107
ÖZGEÇMİŞ	108

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. SOD1 primer antikorunun sinüzoid endotellerindeki immünreaksiyon yoğunluğu.....	67
Şekil 4.2. SOD1 primer antikorunun hepatositlerde immünreaksiyon yoğunluğu.....	68
Şekil 4.3. SOD1 primer antikorunun Kupffer hücrelerinde immünreaksiyon yoğunluğu.....	68



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. SOD1 immünreaktivitesinin tanımlayıcı verileri.....	65
Çizelge 4.2. Sinüzoid endotelinde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri	66
Çizelge 4.3. Heptaositlerde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri.....	66
Çizelge 4.4. Kupffer hücrelerinde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri	67



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubu H.E boyaması.....	52
Resim 4.2. Sham grubu H.E boyaması	53
Resim 4.3. Arı sütü grubu H.E boyaması	54
Resim 4.4. Hipotiroidi grubu H. E boyaması.....	55
Resim 4.5. Arı sütü + Hipotiroidi grubu H.E boyaması	56
Resim 4.6. Kontrol grubu SOD1 immünohistokimya boyaması	57
Resim 4.7. Sham grubu SOD1 immünohistokimya boyaması	58
Resim 4.8. Arı sütü grubu SOD1 immünohistokimya boyaması.....	59
Resim 4.9. Hipotiroidi grubu SOD1 immünohistokimya boyaması.....	60
Resim 4.10. Arı sütü + Hipotiroidi grubu SOD1 immünohistokimya boyaması.....	61
Resim 4.11. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama	62
Resim 4.12. Sham grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama	62
Resim 4.13. Arı sütü grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama	63
Resim 4.14. Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama	63
Resim 4.15. Arı sütü + hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla beraber aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrat
µm	Mikrometre
10-HDA	10-hidroksi-2-dekenoik asit
Ca	Kalsiyum
DPPH	1,1- difenil-2-pikrilhidrazil hidrat
g	Gram
g/mL	Gram/mililitre
H₂O₂	Hidrojen peroksit
K	Potasyum
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
MDA	Malondialdehit
Mg	Magnezyum
mg/kg	Miligram/kilogram
mIU/L	Litre başına milli uluslararası ünite
mL	Mililitre
mL/kg	Mililitre/kilogram
Mm	Milimetre
mM	Milimolar
Na	Sodyum
nm	Nanometre
O₂⁻	Süperoksit radikali
Ti	Titanyum
Zn	Çinko
µL	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
Afp	Alfa fetoprotein
anti-TGB	Anti tiroglobulin antikoru
anti-TPO	Anti tiroid peroksidaz antikoru
AST	Aspartat aminotranferaz
BMP	Kemik morfogenetik protein
CK18	Sitokeratin 18
CK19	Sitokeratin 19
CK8	Sitokeratin 8
DIT	Diiyodotirozin
DVBP	D vitamini bağlayıcı protein
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ELISA	Enzim bağlı immünosorban yöntem
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GATA-6	GATA-bağlayıcı faktör-6
GLUT-2	Glikoz taşıyıcısı-2
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
Hex	Hematopoetik ifade edilen homeobox geni
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HNF4α	Hepatosit nükleer faktör- 4 alfa
HNF-6	Hepatosit nükleer faktör-6
IFN-γ	İnterferon gama
IL-10	İnterlökin-10
IL-2	İnterlökin-2
IL-6	İnterlökin-6
LDL	Düşük yoğunluklu protein
LH	Lüteinizan hormon
MIT	Monoiyodotirozin
MRJP	Majör arı sütü proteini
NAFLD	Alkolsüz karaciğer yağlanması
OC-2	Onecut-2 geni

Kısaltmalar	Açıklamalar
Pdx-1	Pankreatik ve duodenal homeobox-1 geni
Prox-1	Prospero homeobox-1 geni
rT₃	Ters (reverse) T ₃ hormonu
SOD1	Süperoksit dismutaz 1
sT₃	Serbest T ₃ hormonu
sT₄	Serbest T ₄ hormonu
T₂	3, 5- diiodtironin
T₃	Tiriyodotironin
T₄	Tiroksin
Tbx3	T-box3 proteini
TGB	Tiroksin bağlayıcı protein
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü-beta
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	Tiroid uyarıcı hormon
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

1. GİRİŞ

Tiroid bezi, T_3 ve T_4 hormonlarını sentezleyen ve salgılayan endokrin bir organdır. Bu hormonlar iyot içeren hormonlar olup, büyüme, gelişme, doku fonksiyonlarının yerine getirilebilmesi için gereklidir [1, 2]. Bu hormonlar glukoneogenez, insülin ve adenilatsiklaz sinyalizasyonu, hücre proliferasyonu, apoptozis, lipogenez ve lipolizisi düzenleyen enzimler ve oksidatif süreçler olmak üzere karaciğerdeki çeşitli hücresel yolların ve işlevlerin üzerinde birçok etkiye sahiptir [3, 4]. Ayrıca tiroid hormonları, hepatositler de dahil olmak üzere bütün hücrelerde oksijen tüketimi ve metabolizma hızı üzerinde etkilidir. Dolayısıyla hepatik fonksiyonu değiştirirler [1, 5]. Karaciğerin tiroid hormon metabolizması üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Tiroid hormonlarına bağlanan TGB, albumin ve pre-albumin karaciğer tarafından üretilir [6]. Tiroid hormonlarının konjugasyonunu, oksidatif deaminasyonunu T_4 , T_3 ve $r T_3$ 'e ekstra tiroidal deiyodinasyonunu sağlar [7-11]. Öte yandan tiroid hormonlarının dolaşımdaki düzeyleri karaciğerin hepatik işlevlerini ve bilirubin metabolizmasını yerine getirebilmesi için son derece önemlidir [12]. Dolayısıyla bu organlarda meydana gelebilecek işlev bozukluklarının bir diğerini etkilemesi muhtemeldir.

Hipotiroidizm, dolaşımdaki tiroid hormon düzeylerinin veya hedef dokularda tiroid hormonlarına verilen yanıtın azaldığı patofizyolojik durumdur. Serumda artmış TSH ve düşük sT_4 düzeyi, açık hipotiroidizm olarak ifade edilir [13, 14]. Hipotiroidizm, karaciğer de dahil olmak üzere vücutta hemen hemen her organı etkiler ve karaciğer hastalıklarını taklit eden özelliklere sahip olabilir. Miyopatilerde görülen yorgunluk, kas krampları ve miyaljiler AST düzeylerinde artışa neden olmaktadır [15]. Hiperammonemi ile ilişkili olarak miksödem koması gelişebilmektedir [16]. Miksödem asiti görülen olgularda, karaciğerin spesifik bir merkezi konjestif fibrozisi tanımlanmıştır [17]. Hipotiroidizmli hastaların yaklaşık yarısında karaciğer fonksiyon testlerinde de düzensizlikler bildirilmiştir ve karaciğer fonksiyon testlerinde düzensizlik olan hastaların tiroid fonksiyon testlerinin de dikkatle değerlendirilmesi gerektiğine vurgu yapılmıştır [18]. Hipotiroidizmin neden olduğu anormallikler lipoprotein sentezi ve metabolizmasıyla da ilişkilidir. Hepatik lipoprotein lipaz aktivitesinin hipotiroidizmde azalması serum trigliserit düzeyinin artmasına ve LDL'nin yıkımı için gerekli olan reseptörlerin azalmasına neden olur [19, 20]. Kolesterol düzeylerinin yükselmesi hiperkolesterolemi riskini arttırmaktadır. Hiperkolesterolemi, hepatik steatoza veya ateroskleroza neden olmaktadır. Kolesterol ile

ilişkili safra tuzlarının sekresyonundaki azalma safra taşı oluşum riskini arttırmaktadır. [21].

Karaciğer yüksek rejeneratif yeteneğe sahip bir organdır. Kısmi hepatektomi modellerinde, parankimanın yaklaşık % 70'i alındığında 1-2 hafta içerisinde olgun hepatositlerin hipertrofisi ve proliferasyonu ile gerçekleştirilirken bu sürece karaciğerde bulunan kök hücrelerin katkıda bulunmadıkları bilinmektedir [22, 23]. Hepatosit proliferasyonunun şideetli veya kalıcı karaciğer hasarına bağlı olarak durduğu koşullarda, insanlarda hepatik progenitör hücre, kemirgenlerde ise oval hücre adı verilen, hepatosit ve kolanjiyositlere farklanabilen yeni bir hücre popülasyonu ortaya çıkmaktadır [24]. Oval hücreler, kolanjiyositlere özgü belirteçler olan CK-19, OV-6 ve EpCAM belirteçlerini, hepatositlere özgü belirteçler olan albumin, HNF4- α ve AFP'yi ifade eder [25, 26]. Ayrıca, oval hücreleri, normal kolanjiyositlerden ayırt etmeyi sağlayan ve sadece karaciğer hasarı sırasında ifade edilen TROP2 belirteci, yakın zamanda tanımlanmıştır [27].

Oksidatif stres, serbest radikallerin üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin serbest radikallerin artışı lehine değişiklik gösterdiği ortaya çıkan durum olarak tanımlanır [28]. Tiroid hormonları oksijenin mitokondriyal kullanımını teşvik eder ve bunun sonucunda serbest radikallerin üretimi artar. [29]. Bu nedenle yapılan pek çok araştırmada oksidatif stresin hipertiroidizm gibi hipermetabolik durumlar ile tutarlı bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir [30]. Öte yandan hipotiroidizm, tiroid hormonlarının eksikliği nedeniyle meydana gelen hipometabolik bir durumdur. Bu nedenle oksidatif stresin, oksijen kullanımının azalması nedeniyle hipotiroidizmde artış göstermemesi gerektiği düşünülebilir. Ancak hipotiroidizmde oksidatif stresin varlığını gösteren çalışmalar da vardır.

Arı sütü işçi arıların hipofaringeal ve mandibular bezlerinden salgılanan, serbest amino asitler, proteinler, yağ asitleri, şekerler, mineraller ve vitaminler gibi biyolojik aktiviteye sahip önemli bileşikleri içeren ürünlerdir [31]. Çeşitli farmakolojik ajanlarla deneysel karaciğer hasarı oluşturulan hayvan modellerinde arı sütünün karaciğer dokusu üzerindeki koruyucu etkileri bildirilmiştir [32-34].

Çalışmamızda literatür taraması sonucu elde ettiğimiz bilgilere dayanarak dişi sıçanlarda hipotiroidi modeli oluşturarak oksidatif hasarın meydana gelmesini ve bu hasara cevap

olarak karaciğer kök hücrelerinin oluşturacağı cevabı ve arı sütünün karaciğer üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmayı hedefledik.





2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Gelişimi

Embriyonik gelişimin erken somit döneminde, kardiyak mezodermden salgılanan FGF ve septum transversum mezenşiminden salgılanan BMP'ler ön bağırsak endoderminin hepatik farklanmasını başlatır [35]. Hepatik farklanmanın başlamasından kısa bir süre sonra epitel, karaciğer genlerini (Albumin, α -feto protein ve Hnf4 α) ifade etmeye başlar. Kalınlaşan hücreler, tek katlı kübik epitelden yalancı çok katlı prizmatik epitel oluşturacak olan hepatoblastlara dönüşerek, karaciğer divertikülünü meydana getirir [36]. Böylece karaciğer taslağı, üçüncü haftanın ortasında, ön bağırsak endoderminin ventral kısmının dışarı doğru cep şeklinde kanlılaşmasıyla artık oluşmuştur. Hepatik divertikülün, anterior kısmı karaciğeri ve intrahepatik biliyer ağacı meydana getirirken, posterior kısmı safra kesesi ve ekstrahepatik safra kanallarını, gelişimin ilerleyen dönemde meydana getirir [37, 38].

Septum transversum mezenkiminde gömülü bulunan hepatoblastlar laminin, nidojen, tip IV kollajen, fibronektin ve heparin sülfat proteoglikanlarını içeren bir bazal membran ile çevrilidir [39]. Bazal membran yıkılır ve hepatoblastlardaki E-kaderin ifadesi azalır. Hepatoblastlar septum transversum mezenkimini işgal ederek karaciğer tomurcuğunu oluşturmaya başlar [36, 40]. Mutant farelerde yapılan pek çok çalışma karaciğer tomurcuğu gelişiminin Hex, GATA-6, HNF-6, OC-2, Tbx3 ve Prox-1 olmak üzere, transkripsiyon faktörleri ağı tarafından sıkı bir şekilde kontrol edildiğini ortaya koymuştur [41-45].

Fetal karaciğer, memelilerde hematopoezin geçici olarak gerçekleştirildiği temel organdır. Dolayısıyla hepatoblastlar ve hematopoietik öncül hücreler insanda gebeliğin 5. haftasında karaciğer tomurcuğunun hızlı büyüme sürecinde birlikte gelişim gösterirler. Hepatoblast proliferasyonu ve gelişimi, hematopoietik öncül hücrelerde sentezlenen, IL-6 ailesi üyesi olan oncostatin M ile uyarılır [46-48]. Ayrıca hepatoblast proliferasyonu septum transversumda bulunan mezenkimal hücrelerin salgıladığı FGF, EGF, HGF, TGF- β , TNF- α gibi büyüme faktörleri tarafından da kontrol edilir [49-52].

Hepatoblastlar bipotent hücreler olup, karaciğer tomurcuğunun oluşumu sırasında hem olgun hepatositler (Hnf4 α , Albumin) hem de kolanjiyositlere (CK-19) ait genleri, ayrıca

fetal karaciğere özgü genleri embriyonik gelişimin 56-58. günlerinden itibaren ifade etmeye başlar [53, 54]. İnsanlarda gebeliğin 8. haftasında kolanjiyosit öncülü hücreler periportal mezenşimin etrafında, devamlılık gösteren bir halka oluşturacak şekilde dizilerek duktal plak adı verilen yapıyı oluştururlar. Ayrıca duktal plağı oluşturan bu hücrelerde çeşitli sitokeratinlerin (CK8, CK18 ve CK19) ifadesinde artış meydana gelir. Gebeliğin 12. haftasındaduktal plağın spesifik bölgelerinde lümenli yapılar görülmeye başlar. Bu lümenli bölgeler safra kanallarının öncülleri olan primitif duktal yapılardır [55, 56]. Duktal plak boyunca oluşan bu lümenli yapıların portal bölgeye karşılık gelen tarafı kolanjiyosit öncülü olan hücrelerle çevrelenirken, lümenin parankimaya karşılık gelen tarafında hepatoblast-benzeri özellik gösteren hücreler yer alır. Oluşan bu primitif kanallar geçici olarak iki farklı hücre tipi içerdiklerinden asimetric özelliktedir ve bu nedenle diğer biyolojik tübüllerin gelişiminden farklılık gösterir [57-59]. Parankimal tarafta bulunan hepatoblast-benzeri hücreler aşamalı olarak kolanjiyositlere farklılırlar. İlkel kanalın asimetrisi kaybolur ve radyal olarak simetric kanallara, diğer bir deyişle tamamen olgun ve kutuplaşmış kolanjiyositlerin kapladığı kanallar oluşur. Tübülogenezde rol oynamayan diğer duktal plak hücreleri apoptozise maruz kalır [60].

Kanal morfogenezinin, hiluma yakın portal venin en geniş dallarından başlar ve karaciğerin lobları boyunca devam eder. Bu nedenle de biliyer morfogenezin tüm basamakları, hilum-perifer yönünde ilerlemektedir [55,56].

Ekstrahepatik safra kanalları hepatik kanallar, kistik kanal, ortak safra kanalı ve safra kesesinden meydana gelir. İntrahepatik safra kanallarından farklı olarak, ventral pankreasın yakınlığında ortaya çıkar. Dolayısıyla ekstrahepatik safra kanallarını döşeyen kolanjiyositler, karaciğer ve pankreatik tomurcuğun arasında bulunan ön bağırsak endoderminin kaudal kısmından köken alır ve duodenum ile pankreasda da bulunan Pdx-1, Prox-1, HNF-6 gibi transkripsiyon faktörlerini ifade eder. Ekstrahepatik kanalların gelişimi, karaciğerde ventral olarak yerleşen bir divertikülün oluşmasıyla başlatılır. Safra kesesi, hepatik divertikül ve ortak safra kanalının genişlemesi şeklinde gelişir ve hepatik divertikülün kaudal kısmının büyümesiyle uzar. Kistik ve ortak safra kanalının birleşme yerinin üzerinde ortak hepatik kanal huni şeklinde genişler ve karaciğer loblarından safrayı toplayan farklı hepatik kanallara yeniden modellenir. Ekstrahepatik safra kanalları, intrahepatik safra kanallarından daha önce oluşur ve her iki sistem hepatik kanal/hilum düzeyinde birleşir [60, 61].

Sinüzoidler, hepatogenez sırasında oluşan ilk kan damarlarıdır ve septum transversum mezenkiminde bulunan mevcut damarlardan anjiyogenez ile gelişirler. Embriyonik gelişimin 4. haftasında septum transversumu işgal eden hepatoblastların meydana getirdiği hücre kordonları arasında bulunan sinüzoid öncüllerini oluşturan endotel hücreleri arasında sıkı bağlantılar bulunduğundan hücreler kesintisiz bir dizilim gösterirler. Fenestra ve porlar bulunmaz. CD34 ve CD31 gibi endotel hücrelerine özgü belirteçleri ifade ederler. Embriyonik gelişimin 11-12. haftalarında sinüzoid endoteli fenestralı hale gelir. 12. haftada, sinüzoidal endotel hücre belirteci olan CD4 ve 20. haftada CD14 belirlenebilir düzeydedir [63-64]. Hepatositlerin bazolateral yüzeyleri ve sinüzoidal endotel hücrelerin bazal yüzleri arasında yer alan perisinüzoidal aralıkta yer alan hepatik stellat hücrelerin (İto hücreleri) kökenleri tartışmalıdır. Bu hücreler her üç germ yaprağına ait belirteçleri ifade ederler. Ancak son yıllarda kuş, fare ve insan embriyolarında yapılan çalışmalar hepatik stellat hücrelerin mezotel kökenli olduklarını desteklemektedir [65-67]. Hepatik sinüzoidal endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve karaciğerdeki makrofak popülasyonunun %15'ini meydana getiren Kupffer hücreleri fetal vitellüs kesesinden köken alırlar. Hepatogenezi doğrudan düzenledikleri ile ilgili herhangi bir kanıt olmamasına karşın fetal karaciğerde eritropoezisi etkileyebildikleri öne sürülmüştür [68].

Fetal karaciğer, umbilikal ve vitellin damarlar olmak üzere iki büyük venöz sistem ile temas halindedir. Vitellin venler, karaciğerin efferent venöz sisteminin oluşumuna katılırken umbilikal venler fetal karaciğerde temel afferent damarlardır ancak varlığı geçicidir ve doğumdan sonra ortadan kalkar. Umbilikal venin yerini portal ven alır ve temel afferent ven haline gelir. Portal venin genellikle sağ ve sol vitellin venlerin çeşitli segmentlerinden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Hepatik arter gelişimi venöz gelişimden sonra gerçekleşir. Parankim içerisinde intrahepatik portal ven boyunca oluşmaya başlar ve aşamalı olarak perifere doğru uzanır [69, 70].

2.2. Karaciğer Anatomisi

İnsan vücudundaki en büyük bez olan karaciğer, karın boşluğunun sağ üst kısmında diyafragmanın hemen altında yerleşim gösterir. Regio hypochondriaca dextra'nın tümünü, regio epigastrica'nın ise büyük bir kısmını dolduran fakat regio hypochondriaca sinistra ve umbilikal bölgeye de taşan kırmızı-kahverengi bir organdır [71]. Ağırlığı yaşa, cinsiyete ve vücut ağırlığına bağlı olmakla birlikte, erişkin erkeklerde 1,4-1,6 kg, kadınlarda ise 1,2-1,4

kg'dır. Çocuklarda vücut ağırlığının %5'ini, erişkinde ise %2'sini meydana getirir. Kırmızı-kahverengi olan karaciğer, sağlam ve elastiki olmasına rağmen, gevrek ve kolaylıkla parçalanabilen bir yapıya sahiptir [72-74].

Karaciğerin *facies diaphragmatica* ve *facies visceralis* olmak üzere iki yüzü vardır. *Fascies diaphragmatica*, karaciğerin diyaframa dayalı yüzüdür. Üst kısmına *pars superior* adı verilir. Bu bölge diyafragmanın kubbesi aracılığıyla sağ tarafta plevra ve akciğerle, sol taraftan da perikardiyum ve kalp ile komşudur. Küçük bir kısmı *pars superior*'un arka bölümünde yer alan *area nuda* dışında, *pars superior* periton ile kaplıdır. Periton içermeyen bölge diyafragmaya gevşek bağ dokusu ile tutunmaktadır [75,76]. *Fascies diaphragmatica*'nın ön yüzü *pars anterior* adı verilen bölgedir. Bu bölge sağ tarafta 6.-10. kaburga ve kıkırdakları ile sol tarafta 7-8. kıkırdak kaburgalarıyla komşudur. *Pars anterior*, *ligamentum falciforme hepatis* haricinde tamamen peritonla kaplıdır. *Fascies diaphragmatica*'nın arka bölümünde *pars posterior* yer alır. Bu bölge *columna vertebralis*'e karşılık gelen alanda hafif konkavdır. Bu alanda, *fissura ligamenti venosi* denen bir yarık bulunur. *Fissura ligamenti venosi*'nin hemen solunda özofagus'un yerleştiği çukur bir saha olan *impressio oesophagea* yer alır. *Area nuda* adı verilen peritonsuz bölgenin büyük bir kısmı *pars posterior*'da yer alır. *Area nuda*'nın sol kenarında *sulcus venae cavae* adı verilen oluğa yerleşmiş olarak vena cava inferior yer alır. *Sulcus venae cavae*'nin hemen altında, sağ suprarenal bezin oturduğu *impressio suprarenalis* yer alır [72, 76].

Fascies visceralis, karaciğer'in arkaya, aşağıya ve biraz da sola yönelmiş karın organları ile komşu alt yüzüdür. Safra kesesinin yerleştiği *fossa vesica biliaris* adı verilen küçük bir çukur saha ve *porta hepatis* haricinde bu bölge periton ile kaplıdır. *Porta hepatis* karaciğere giren hepatik arterler ve vena porta'ya giriş noktası olurken, *ductus choledochus*'un da çıkış noktasıdır [72, 77]. *Fascies visseralis* mide, duodenum, kolon, sağ böbrek ve sağ böbrek üstü beziyle ilişki halindedir ve bu nedenle karaciğerin visseral yüzeyinde bu organların oturduğu bölgelerde çöküntüler bulunur. Ayrıca *fascies visseralis*, *omentum minus* ve *vesica biliaris* ile de komşudur [74, 78].

Karaciğer, karın ön duvarına ve diyafragma, iki tabakalı bir periton katlantısı olan *ligamentum falciforme hepatis* aracılığıyla tutunur [79]. *Ligamentum falciforme hepatis*, karaciğerin ön, sonra üst yüzeyinde ilerler ve daha sonra karaciğeri peritona bağlayan *ligamentum coronarium*'un iki yaprağını meydana getirmek üzere ikiye ayrılır.

Sağ yaprak ligamentum coronarium'un üst yaprağı olan ligamentum coronarium dextrum'u oluştururken, sol yaprak ligamentum triangulare sinistrum'un üst yaprağını meydana getirir. Karaciğerin sol lobu, diyafragmaya büyük ölçüde ligamentum triangulare sinistrum ile tutunur [80, 81]. Embriyonik gelişim sırasında, ductus venosus, oksijence zengin umbilikal vendeki kanın büyük bir bölümünün doğrudan vena cava inferior'a gönderilmesinden sorumludur. Doğumdan sonra sol umbilikal ven ve ductus venosus'un oblitere olmasıyla kalıntıları olan ligamentum teres ve ligamentum venosum meydana gelir [82, 83].

Karaciğerden midenin küçük kurvatürüne ve duodenumun başlangıcına uzana çift katlı peritoneal tabaka omentum minus'u meydana getirir. Omentum minus'un karaciğer ve mide arasındaki bölümü ligamentum hepatogastricum olarak bilinirken, karaciğer ve duodenum arasındaki bölümüne ise ligamentum hepatoduodenale adı verilir. Ligamentum hepatoduodenale, ortak safra kanalını, hepatik arteri ve portal veni içerir [84, 85].

Anatomik olarak karaciğer diafragmatik yüzde ligamentum falciforme hepatis'in tutunduğu hat boyunca, visseral yüzde ise ligamentum venosum ile ligamentum teres hepatis'in oturduğu yarıklar ile lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister olmak üzere biri büyük diğeri daha küçük olan iki loba ayrılır [86, 87]. Karaciğerin visseral yüzünde porta hepatis'in anteriorunda, fissura ligamenti teres'in sağında lobus caudatus yer alırken, porta hepatis'in posteriorunda, fissura ligamenti venosi'nin sağında lobus quadratus bulunmaktadır. Kuadrat lobun tamamı, kuadrat lobun büyük bölümü sol loba aittir. Ayrıca sağ ve sol loblar, kanlanma ve safra drenajı yönünden bağımsızlığa sahiptir [88-89].

Karaciğer damar desteği açısından oldukça zengin bir organ olup kalp debisinin %25'ini alır. İki ayrı damardan kanlanması nedeniyle de karaciğer benzersiz bir organdır. Karaciğere gelen kanın yaklaşık %20-30'u hepatik arterden, %70-80'i ise portal vendendir. Arteriyel ve portal kan, hepatik venöz sistem yoluyla sistemik dolaşıma katılmadan önce hepatik sinüzoidler içerisinde karışmaktadır. Kan sinüzoidlerden geçerken oksijen saturasyonunda belirgin bir azalmanın yanı sıra biyokimyasal kompozisyonunda da pek çok değişiklik meydana gelir. [88, 90]. Karaciğere oksijence zengin arteriyel kanı getiren a. hepatica communis, truncus coeliacus'un bir dalı olup, lig. hepatoduodenale içine girerek porta hepatis'e doğru uzanır. Burada r. dexter ve r. sinister olmak üzere iki dala ayrılır. R. dexter, lobus dexter ve lobus caudatusun yarısını besler. Ayrıca vesica biliaris'i besleyen a.

cystica r. dexterden çıkar. R.sinister ise lobus sinister, lobus quadratus ve lobus caudatusun diğer yarısını besler [91-94]. A. hepatica propria'nın sağ ve sol loblara giden dalları sırayla a.interlobaris, a. interlobularis ve hepatic arteriyollere dallanarak sinüzoidlere ulaşırlar [87, 95]. Sindirim kanalından oksijenden fakir, besin yönünden zengin kan, v. splenica ve v. mesenterica superior'un birleşmesiyle oluşan v.porta hepatis ile karaciğere aktarılır. Portal vendeki kan, hepatositler için önemli bir oksijen kaynağıdır. Sağlıklı karaciğerde hepatic arterde meydana gelen bir tıkanma tolere edilebilirken, portal vende meydana gelen tıkanıklıklar çok nadir durumlar haricinde tolere edilemez. V. porta hepatis de tıpkı a. hepatica communis gibi lig. hepatoduodenle içinde porta hepatis'e taşınır ve burada karaciğerin sağ ve sol loblarına gidecek olan dallarına ayrılır. Daha sonra sırasıyla v. interlobaris, iletilen venler, v. interlobularis, portal venüller, v.perilobularis, giriş venülleri ve sinüzoidlere venöz kan ulaşır. Sinüzoidlerden vena centralis'e yönelen kan, daha sonra v. sublobularis, toplayıcı ven ve sayıları 2-3 adet olan v.hepatica'lar aracılığıyla v. cava inferior'a ulaşır. Bütün portal venöz sistemin tamamında valf bulunmaz [87, 88].

Karaciğer, önemli miktarda lenf üretir. Ductus thoracicus'a akan lenf sıvısının %25-50'si karaciğerden gelmektedir. Karaciğerden ekstrahepatik lenf nodlarına lenfin drenajı, yüzeysel ve derin lenfatik yollar olmak üzere iki grupta incelenir. Yüzeysel lenf ağı, karaciğerin dış yüzeyini örten fibröz bir yapı olan Glisson kapsülü içinde bulunurken derin lenfatikler portal triad ve hepatic venlere eşlik eden bağ dokusu içinde yer alırlar. Facies diaphragmatica ve facies visceralis'in ön kısmının lenfasını taşıyan yüzeysel lenfatikler ile portal triadlara eşlik eden derin lenfatikler, porta hepatis'e yaklaşırken bir araya gelirler ve nodi hepatici'ye dökülürler. Nodi hepatici, omentum minus içinde bulunan hepatic damarlar boyunca dizilmişlerdir. Nodi hepatici'den çıkan efferent lenfatikler nodi coeliaci'ye buradan da ductus thoracicus'un genişlemiş alt dalı olan cisterna chyli'ye dökülür. Facies diaphragmatica ve facies visceralis'in arka bölümünün lenfatik drenajı da area nuda'ya doğrudur. Burada nodi phrenici'ye ya da vv. hepaticae ile birlikte seyreden derin lenf damarlarına dökülürler. Derin lenfatikler v. cava inferior ile birlikte diaphragmatica'dan geçip posterior mediastinal lenf nodlarına dökülürler. Bu nodlardan çıkan efferent lenfatikler ductus lymphaticus dexter ile ductus thoracicus'a açılırlar [74, 96].

Karaciğer, parasempatik ve sempatik inervasyona sahiptir. Sinir lifleri plexus coeliacus'dan, alt torakal gangliyonlardan, sağ frenik sinirden ve vagus sinirlerinden gelir.

Plexus coeliacus'un oluşturduğu en büyük sinir ağı olan plexus hepaticus'un dalları sempatik lifleri oluşturur. A. hepatica ve v.porta'nın dallarına eşlik ederek karaciğere ulaşır. Karaciğerin parasempatik sinir lifleri ise truncus vagalis anterior ve posteriordan gelir. Sinir lifleri portal triadın damar ve duktusları ile birlikte seyreder. Vazokonstriksiyon dışında sinirlerin görevleri kesinlik kazanmamıştır [74, 82].

2.3. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer dıştan, fibröz bir bağ dokusundan oluşan Glisson kapsülü ile sarılmıştır. Kapsülün etrafı, karaciğerin direkt olarak diyaframa ya da diğer organlara yapıştığı yerler dışında, visseral periton ile çevrilmiştir. Glisson kapsülü, hilumda kalınlaşır bu bölgeden organa portal ven ve hepatik arter girer, sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. Glisson kapsülünden ayrılan bağ dokusu uzantıları organı lob ve lobüllere ayırır [97, 99].

Karaciğer, parankimayı oluşturan hücreler olan hepatositlerden meydana gelir. Parankim, birbirleriyle bağlantılı ve bir-iki hücre kalınlığında olan ve bir binanın duvarlarını andıran tabakalar ağını içerir. Her bir tabakadaki hepatositler bu duvarın tuğlalarına ve karaciğer sinüzoidleri de duvardaki boşluklara benzetilebilir [100]. Karaciğer parankiminin organizasyonu ile ilgili üç önemli karaciğer lobül modeli tanımlanmıştır:

2.3.1. Klasik lobül

Her karaciğer lobülü boyutları 0,7 x 2 mm olan poligonal şekilli bir doku kitlesidir. Bazı hayvanlarda ( rneğin; domuz), lobüller birbirinden bir bağ dokusu tabakası ile ayrılır. İnsanda bu söz konusu değildir; lobüller çoğu bölümlerinde birbirleriyle yakın temasta oldukları için kesin sınırlarını belirlemek oldukça güçtür. Klasik karaciğer lobülü, karaciğer parankiminin organizasyonunun açıklanmasında kullanılan geleneksel bir modeldir. Lobülün merkezinde, sinüzoidlerin drene olduğu terminal hepatik venül (santral ven) bulunur. Santral venin etrafında tek hücre kalınlığında, ışınsal yerleşimli hepatosit plakları bulunur ve bu plaklar lobülün periferine uzanır [97-99].

Üç adet klasik karaciğer lobülünün birbiriyle ilişkili olduğu ve bağ doku elemanlarının artış gösterdiği bölgeye ise portal alan adı verilir. Portal alanlar, portal venin ve hepatik arterin birer dalını, bir safra kanalını (portal triad), lenf damarları ve sinirleri içerir. Portal

alanlar, karaciğer parankiminden modifiye hepatositler tarafından oluşturulmuş olan sınırlayıcı plak ile ayrılır. Sınırlayıcı plak ile portal alanın bağ dokusu arasında periportal aralık (Mall aralığı) bulunur. Bu aralığın karaciğerde lenfin kaynaklandığı yerlerden biri olduğu düşünülmektedir [98-101].

2.3.2. Portal lobül

Sınırları klasik üç lopçuğun santral venleri, merkezinde safra kanalının bulunduğu lobül modelidir. Bu lobülün tanımlaması karaciğerin ekzokrin fonksiyonunu vurgulamak için uygundur [99, 102].

2.3.3. Karaciğer asinüsü (Hepatik Sinüs)

Kan perfüzyonu, metabolik aktivite ve karaciğer patolojisi arasındaki ilişkiyi açıklayan lobül modelidir. Kısa eksen iki portal alan arasında, uzun eksen iki santral ven arasında bulunan baklava veya oval şekilli alandır. Klasik karaciğer lobülüne göre daha küçüktürler ve daha zor görülürler [98-100]. Bir karaciğer asinüsünün üç adet bölgesi bulunur [102] :

Zon 1 (Periprotal Alan)

Kısa eksene yani portal venin ve hepatik arterin dallarından gelen kan desteğine en yakın olandır. Klasik lobüllerin periferine karşılık gelmektedir. Bu bölgedeki hücreler portal alandaki kan damarlarından besin maddelerini ve zararlı ürünleri ilk olarak alan hücrelerdir. Dolayısıyla en son ölen ve ilk rejenere olan hücrelerdir. Safra kanalı tıkanıklıklarından en çabuk etkilenip morfolojik değişikliklere uğrayan hücreler yine bu bölgedeki hücrelerdir [98, 99]. Bu bölgede bulunan hepatositlerde glikojen ve plazma proteinlerinin sentezi, karaciğer asinüsünün diğer zonlarına göre daha fazla miktarda gerçekleştirilir [100].

Zon 2

Karaciğer asinüsünün merkezi bölgesi olup, santral vene zon 1'deki hücrelere oranla daha yakındır [99].

Zon 3

Kısa eksenenden en uzak ve santral vene en yakın olan bölgedir. Klasik lobülün merkezi veni çevreleyen kısmına karşılık gelmektedir. Burada yer alan hücreler perfüzyondaki azalma durumunda iskemik nekrozu ve yağ birikimini ilk gösteren hücrelerdir. Bu hücreler safra tıkanıklığına ve toksik maddelere en son yanıt veren hücrelerdir [98]. Karaciğer asinüsünün bu bölgesinde yer alan hücrelerde zon 1’de bulunan hücrelere göre daha fazla düz endoplazmikretikulum bulunur. Oksijen yoğunluğunun en az olduğu bölge olup detoksifikasyonda görevi vardır [101, 102].

Karaciğer lobülleri, parankimal hücreler (hepatositler) ve sinüzoidlerle ilişkili, parankimal olmayan (Kupffer hücreleri, Pit hücreleri, sinüzoidal endotel hücreler, dendritik hücreler ve hepatik stellat hücreler) olmak üzere iki farklı hücre grubundan meydana gelir.

Hepatositler, santral venden periferine doğru ilerleyen ışımsal hücre kordonları şeklinde dizilmiş, poligonal şekilli, ökromatik çekirdekli, 20-30 µm ölçülerindeki hücreler olup, karaciğerde bulunan hücre popülasyonunun yaklaşık %80’ini oluştururlar [98, 99]. Hematoksilen eozinle boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz endoplazmik retikulumun bulunması nedeniyle hepatositlerin sitoplazması eozinofiliktir. Hepatositlerin yaklaşık olarak %75’inde tek çekirdek bulunurken geri kalanlar çift çekirdekli ve çekirdeklerin büyüklükleri değişkenlik göstermektedir. En küçük olanlar (yaklaşık %50’si) diploid, daha büyük olanlar ise polipoliddir [97,101]. Granüllü endoplazmik retikulumlar hepatosit sitoplazması içinde saçılmış kümeler oluşturur, bunlara bazofilik cisimcikler denir. Albümin, fibrinojen, protrombin ve lipoprotein gibi plazma proteinlerinin sentezi granüllü endoplazmik retikuluma bağlı olan poliribozomlarda gerçekleştirilir. Hepatositler bu proteinleri salgı granülleri halinde sitoplazmada depolamaz, sürekli olarak kana verir [97]. Düz endoplazmik retikulum sayesinde hepatositler zararlı toksik maddelerin detoksifikasyonunu gerçekleştirebilirler. Toksik ürünler veya ilaçların yıkımı ve konjugasyonu için gerekli enzimler granülsüz endoplazmik retikulum membranlarında bulunur [99].

Hepatositlerde, her biri sıkıca paketlenmiş üç-beş sisternadan oluşan 50 kadar Golgi birimi ve irili ufaklı birçok vezikül bulunmaktadır. Golgi aygıtının safra kanaliküllerinin yakınında yoğunlaşan elemanlarının, safranin ekzokrin sekresyonu ile ilişkili olduklarına

inanılmaktadır. Golgi sisternaları ve veziküller 25-80 nm çapında elektron-yoğun granüller içermektedirler ve bu granüllerin VLDL ve diğer lipoproteinlerin öncülleri olduklarına inanılmaktadır [98]. Her bir hepatositte yaklaşık 2000 mitokondri bulunur. Santral venin etrafında bulunan hücrelerde, periportal alanda bulunan hepatositlerin iki katı kadar mitokondri bulunur ancak bu mitokondriler oldukça küçüktür [101].

Safra kanalliküllerinin etrafında yoğunlaşan lizozomlar, histolojik kesitlerde görülen peribiliyer yoğun cisimciklere karşılık gelmektedirler [98]. Lizozomlar, ferritinin yıkım ürünü olan eriyebilir ferritin ile eriyemeyen hemosiderin şeklinde demiri depolamaktadırlar [102]. Hepatositlerin sitoplazmasında sıklıkla görülen diğer bir organel olan peroksizomlar morfolojik ve fonksiyonel olarak mitokondrilere benzerlik gösterirler. Mitokondriler gibi oksijen kullanan organellerdir [99]. Hepatositlerde hücre başına 200-300 kadar peroksizom bulunmaktadır. Bunlar nispeten büyük ve 0,2-1,0 µm arasında değişen çapa sahiptirler. Peroksizomlarda bulunan katalaz enzimi hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar. İnsanlarda ayrıca D-amino asit oksidaz ve alkol dehidrogenaz enzimleri de bulunur. Peroksizomlar ayrıca yağ asitlerinin β oksidasyonu, glukoneogenez ve purin metabolizmasında da görev alırlar [98].

Bir hepatositin apikal ve bazolateral olmak üzere iki adet hücresel bölgesi bulunmaktadır. Apikal bölge, safranın dışarı kaçışını önleyecek şekilde kenarları tıkayıcı bağlantılarla kapatılmış olan safra kanalliküllerinin kenarını çevreleyen bir girinti meydana getirir. Bu girinti mikrovilluslarla çevrelenmiştir [102]. Mikrovillusların iç kısmındaki aktin çekirdekler, aktin ve ara filamentlerden meydana gelen kalınlaşmış terminal ağa karışarak safra kanallikülü oluşumuna katılır. Safra kanallikülünün duvarını oluşturan hücre membranları yüksek düzeyde Na⁺K⁺-ATPaz ve adenilat siklaz aktivitesi gösterir. Bazolateral bölge, çok sayıda mikrovillus içerir ve yüzü Disse aralığına doğrudur. Buradaki mikrovilluslar akan kan ve hepatositler arasında metabolitlerin değişimi için yüzey alanını arttıırırlar. Buradaki hücre membranları mannoz-6-fosfat reseptörleri, Na⁺K⁺-ATPaz ve adenilat siklaz bakımından zengindir çünkü hepatositlerden salınan endokrin salgılar sinüzoidal kana verilir ve kan dolaşımından gelen maddeler hepatosit sitoplazmasına transfer edilir [101]. Birbirine komşu hepatositlerin yan yüzeylerinde bulunan neksuslar, fonksiyonel açıdan hücreler arası iş birliğini sağlamaktadır. Bazolateral bölge, kandan kaynaklanan maddelerin emilimine ve plazma proteinlerinin (albümin,

fibrinojen, protrombin ve koagülasyon faktörleri V, VII ve IX gibi) salgılanmasına katkıda bulunur [102].

Hepatositlerin vasküler kutupları ile hepatosit kordonları arasında yer alan, aslında düzensiz şekilli kapillerler olan sinüzoidlerin duvarını meydana getiren endotel hücreleri arasında Disse aralığı adı verilen perisinüzoidal bir boşluk bulunur [99, 103]. Perisinüzoidal aralık, kan ile karaciğer hücreleri arasında madde alışverişinin olduğu alandır [98].

Sinüzoidal kapillerler, sadece kesintili pencereli endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. Sinüzoid, ince bir retiküler lif kılıfıyla sarılıp desteklenmiştir. Endotel hücreleri altlarında bulunan hepatositlerden kesintili bir bazal lamina ve Disse aralığı adı verilen endotel altı bir boşlukla ayrılmıştır. Kan sıvısı endotel duvarından kolayca geçer ve hepatosit yüzeyi ile temas eder [97]. Endotel hücreleri birbirlerine tamamen temas etmez ve genellikle bu hücreler arasında 0,5µm çapında boşluklar bulunur [101]. Endotel hücrelerine ek olarak sinüzoid duvarında Kupffer hücreleri adı verilen makrofajlar bulunur [97]. Kupffer hücreleri, mononükleer fagosit sistemine ait makrofajlardır. Mononükleer fagositik sistemin diğer üyeleri gibi Kupffer hücreleri de monositlerden köken almaktadır [98]. Uzantılı, yıldız şekilli bu hücrelerin gövdelerinin büyük bölümü lümende izlenir, ancak aslında sitoplazmik uzantılarıyla sinüzoid duvarına tutunurlar. Organizmanın diğer makrofajları gibi fagositoz yapabilen bu hücreler, kan yolu ile gelen antijenleri yakalayarak sitoplazmalarına alırlar. Kupffer hücrelerinin en göze çarpan özelliği bol lizozom içerikleridir. Ayrıca, hasarlanmış eritroistlerin parçalarını ve demiri de fagosit ederler. Hemoglobinden kaynaklanan ferritin, hemosiderin granülleri şeklinde bu hücrelerde görülür [99]. Karaciğer hücre topluluğunun %15'ini Kupffer hücreleri oluşturur. Bu hücrelerin çoğu fagositozda çok aktif oldukları periportal lopçuk bölümlerinde yerleşmiştir [97].

2.4. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğer canlı için oldukça önemli olan pek çok yaşamsal işlevi yerine getirir. Karaciğerin bu işlevleri; kanın depolanması ve filtrasyonu, pıhtılaşma faktörleri ve plazma proteinlerinin üretimi, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması, safra üretimi, ilaçların,

ksenebiyotiklerin ve toksinlerin detoksifikasyonu, vitaminlerin ve demirin depolanması olarak sayılabilir.

Karaciğer genişleyebilen bir organdır. Bu nedenle kan rezervuarı işlevi gören damarlarında büyük miktarlarda kan depolanabilmektedir. Normal fizyolojik koşullar altında, hepatik venler ve hepatik sinüzoidler yaklaşık 450 mL kan (toplam kan hacminin % 10 'unu) içerebilir. Kan hacmi azaldığında vücuda ek kan sağlanırken kan hacmi aşırı arttığında ise önemli miktarda kan karaciğerde depolanabilir [103].

İnce bağırsak kapillerlerinden emilen besinler portal ven aracılığıyla karaciğere ulaşır. Ancak beraberinde pek çok bakteriyi de getirir. Sağlıklı insanda sistemik dolaşımda intestinal bakteri yoktur. Karaciğerde hepatik sinüzoidlerde bulunan özelleşmiş fagositik makrofajlar olan Kupffer hücreleri, intestinal bakterilerin %99'unu etkili bir şekilde sindirerek portal kandan uzaklaştırır ve kanın filtrasyonunu gerçekleştirir [103, 104].

Karaciğer, toplam plazma proteinlerinin yaklaşık %70'ini oluşturan ve kanın kolloid ozmotik basıncını sağlayan albümini ve pıhtılaşma faktörlerinden fibrinojenin tamamını üretir. Anjiyotensinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri III, V, VII, IX ve XI de karaciğer tarafından üretilmektedir. İmmünoglobulinler haricinde kolesterol, trigliseritler, steroid ve tiroid hormonların taşınmasında görev alan plazma globülinleri karaciğer tarafından sentezlenir [105, 106].

Karaciğer stratejik olarak sindirim kanalı ve genel dolaşım arasında bulunur ve metabolik homeostazda merkezi bir rol oynar. Karbonhidratlar sindirim sırasında monosakkaritlere (glukoz, galakoz ve fruktoz) kadar parçalandıktan sonra ince bağırsaklar tarafından emilir. Vena porta ile karaciğere gelen monosakkaritlerden galaktoz ve fruktoz, glukozla çevrilir [107]. Glukoz, membran bağımlı bir taşıyıcı olan ve glukozla karşı düşük afiniteye sahip GLUT-2 tarafından hepatositlere alınır [108].

Glukoz, karaciğer glukokinaz enzimleri ile glukoz-6-fosfatın oluşumu için bir fosfat kökü ile reaksiyona girer. Diğer dokulardan farklı olarak karaciğerde glukozun, glukoz-6-fosfata çevrilmesi geri dönüşümlü bir reaksiyondur ve glukoz fosfataz enzimi ile gerçekleştirilir. Kan glukoz düzeyinde düşüş meydana geldiğinde glukoz-6-fosfat, glukoz ve fosfata tekrar dönüştürülerek, kana tekrar verilebilir [109, 110]. Glikojen sentezi, glukoz-6-fosfatın UDP-

glukoza dönüştürülmesinden sonra glikojen sentaz ile katalizlenir [11]. Gukozdan glikojenin sentezlendiği bu kimyasal reaksiyonların tümüne glikojenez denir. Glikojen molekülleri hücre içinde katı granüller olarak çökerler ve hepatositler ağırlıklarının %5-8'i kadar glikojeni depolayabilmektedirler [109]. Depolanan glikojenin yıkılarak yeniden glukoz oluşturulması sürecine glikojenoliz denir. Glikojenin yıkımı glikojen fosforilaz ve glikojen polimerindeki dalları uzaklaştıra enzim tarafından gerçekleştirilir. Glikojen fosforilaz, bir dış zincirdeki glukoz kalıntısını glukoz-1-fosfat olarak ayırır ve bu işlemi dış zincirde dört adet glukoz kalıntısı kalana kadar devam ettirir [112]. Karaciğer glikojen depolama ve glikojenoliz mekanizmalarıyla, aşırı glukozu kandan çekmek ve gerektiğinde kana geri vererek, kan glukoz düzeylerinin stabilitesinin düzenlenmesinde temel rol oynar ve glukoz tamponlama işlevini yerine getirir [105]. Kısa süreli açlıkta glikojenoliz yoluyla glukoz üretilirken, uzun süreli açlık durumunda hepatik glikojen tükenir. Hepatositler laktat, piruvat, gliserol ve amino asitleri kullanarak glikoneojenez yoluyla glukozu sentezler [113].

Karaciğer yağ metabolizmasında da önemli rol oynar. İnce bağırsakda, safra tuzları ile emülsiyon haline gelen nötral yağlar, pankreatik lipaz tarafından hidroliz edilerek yağ asitleri ve monogliseritler oluşturulur. Trigliseritlerin hidrolizi sonucu oluşan miseller, enterositler tarafından emilir ve trigliseritler tekrar sentezlenir. Trigliseritlerin üzeri lipoproteinlerle kaplanarak şilomikronlar oluşturulur. Şilomikronlar, lenf damarları yoluyla ince bağırsağı terk eder ve dolaşıma katılırlar [107,109].

Kas ve yağ dokularının kapiller endotelinin damar duvarında bulunan lipoprotein lipaz, şilomikronlardaki trigliseritleri kısmen hidroliz ederek gliserol, yağ asitleri ve kolesterolden zengin şilomikron kalıntıları haline getirir. Lipoprotein lipaz aktivitesiyle oluşan gliserol ve yağ asitleri, yağ ve kas dokusu hücrelerine girerler. Kolesterolden zengin ve aynı zamanda trigliserit içeren şilomikron kalıntıları ise karaciğer tarafından alınır [114]. Şilomikron kalıntılarının trigliseritlerinden elde edilen yağ asitleri hepatosit mitokondrilerinde β -oksidasyona uğrar. β -oksidasyon ile yağ asitlerinden asetil Ko-A üretilir ve bu molekül sitrik asit döngüsüne girerek büyük miktarda enerji üretilir [115]. Açlık durumunda yağ doku hücrelerinden karaciğere gelen yağ asitleri β -oksidasyonla enerji sağlar ancak yağ asitlerinden kaynaklanan fazla miktardaki asetil Ko-A'a mitokondride asetoasetat üretimine yönlendirilir. Asetoasetik asit, aseton ve β -hidroksibütirat oluşumunu sağlar. Asetoasetat, β -hidroksibütirat ve asetonun üçüne birlikte

keton cisimcikleri adı verilir [116]. Asetoasetik asit, β -hidroksibütirat ve aseton, hepatositlerden difüzyon ile dolaşıma geçerek periferik dokularda, ters yöndeki reaksiyonlarla tekrar asetil Ko-A'yı oluşturur. Sitrik asit döngüsüne giren Asetil Ko-A'dan okside olarak enerji elde edilir. Açlık durumunda ve diyabet hastalığında karaciğerde üretilen keton cisimlerinin miktarı normalin birkaç katı artar. Bu olaya ketozis adı verilir [109].

Lipid metabolizmasında karaciğerin önemli işlevlerinden biri de lipoproteinlerin sentezidir. Plazmada şilomikronlar, VLDL, LDL ve HDL olmak üzere dört farklı tipte lipoprotein bulunur. Bu lipoproteinlerden VLDL ve HDL karaciğer tarafından sentezlenir. Plazmada önemli miktarda LDL karaciğer de kolesterol açısından zengin bu lipoproteinin küçük bir miktarını üretebilir [115]. VDL'ler trigliseritlerce zengin, şilomikronlardan daha küçük lipoproteinlerdir. Bu partiküller periferik dokulara trigliseritleri taşırlar. LDL ise VLDL'lerin lipoprotein lipaz tarafından yıkılmasıyla meydana gelir. Ayrıca lipoprotein lipaz aktivitesi sırasında VLDL'lerden, HDL'ye trigliserit geçişi olurken, HDL'deki kolesterol esterleri de VLDL'ye transfer edilir. LDL'ler hem karaciğer hem de ekstrahepatik dokular tarafından LDL reseptörleri ile alınır ve kolesterolü hücrelere bırakır. HDL ise tam tersi olarak periferik dokulardan kolesterolü alarak karaciğere taşır [118, 119].

Karaciğer, serbest yağ asitlerinin sentezinde de görev alır. Toklukta, enerjinin yeterli olduğu durumda, fazla miktardaki karbonhidrat ve proteinden serbest yağ asitlerinin sentezine lipogenez (de novo lipid sentezi) denir. Fazla miktardaki glukoz, glikoliz ile piruvata çevrilir ve oluşan riuvat mitokondride sitrik asit döngüsüne girerek asetilk Ko-A sentezlenir. Karaciğerindeki yağ asitlerinin de novo sentezi, asetil-CoA'nın asetil-CoA karboksilaz ile ATP'ye bağımlı olarak malonil-KoA'ya karboksilasyonu ile başlar. Palmitik asit, de novo lipogenez ile üretilen baskın yağ asididir. Vücuttaki diğer yağ asitleri, palmitik asit molekülünün kısaltılması, uzaması veya desaturasyonu ile elde edilir [115, 119].

Karaciğer plazma proteinlerinin yanı sıra protein ve amino asit metabolizmasında esansiyel olmayan amino asitler ve üre sentezinde de görev alır. Karaciğer diyetle alınan esansiyel amino asitlerden, esansiyel olmayan amino asitleri üretir. Örneğin, tirozin fenilalanininden sentezlenebilir ve sistein metioninden sentezlenebilir [109, 115]. Esansiyel olmayan amino

asitlerin sentezi, ilgili amino asitin öncüsü olan uygun α -keto asitlerin oluşumuna bağlıdır. Transaminasyon reaksiyonu ile amino asitin α -amino grubu, α -keto aside aktarılırken α -keto asidin oksijeni de amino grubu vericisine geçer [109]. Transaminasyon reaksiyonuyla birçok amino asit, amino grubunu α -keto asitde vererek glutmatı oluşturmak üzere transfer eder [119]. Glutamat ayrıca glutamin sentaz ile katalizlenen reaksiyonla amonyak ile birleştirilerek glutamine dönüştürülebilir [115]. Glutamatın mitokondride oksidatif deaminasyonu sonucunda amonyak açığa çıkar. Amonyak, oldukça nörotoksiktir ve hepatositler tarafından üreye dönüştürülür ve daha sonra böbrekler yoluyla atılır. Amino asitlerin amino grupları deaminasyon ile üreye dönüştürüldükten sonra geri kalan karbon iskeleti asetil KoA, asetoasetil KoA, pirüvat ya da sitrik asit döngüsünün bir ara ürününe dönüştürülür. Böylece amino asitlerden glukoz, yağ asidi ve keton cisimleri oluşabilir [107].

Karaciğerin sindirim sistemine önemli katkılarından biri de safranin üretimi ve salgılanmasıdır. Karaciğer her gün yaklaşık 600–1000 mL safra üretir ve salgılar. Safra sindirim enzimleri içermez, fakat sindirimde rol oynar. Mideden gelen kimusun asidik pH'sı pankreas enzimlerinin çalışmasını engeller. Safra, kimusun asidik kimyasını nötralize eder ve pH'yı pankreatik enzimlerin çalışabileceği aralığa getirir. Ayrıca içeriğinde bulunan safra tuzları lipidleri emülsifiye eder [120]. Safra aynı zamanda bir boşaltım salgısı olup, plazmada proteinlere bağlı olan ve glomerüler filtrasyon ile atılamayan bir dizi maddenin (ağır metaller, kolesterol, lipofilik endobiyotikler, konjuge ve konjuge olmayan ksenobiyotikler) uzaklaştırılmasında rol oynar [121]. Hepatositler tarafından üretilen safranin içeriğinde; safra asitleri, safra pigmentleri (bilirubin, biliverdin), plazma elektrolitleri, kolesterol ve fosfolipidler (lesitin) bulunur. Safra asitleri, safranin kuru ağırlığının yaklaşık %65'ini meydana getirir [114, 122]. Hepatik asinüsün perisentral hepatositlerinde kolesterolden sentezlenirler. Karaciğer tarafından kolesterolden sentezlenen safra asitleri kolik asit ve kenodoksikolik asit olup bunlara birincil safra asitleri adı verilir. Dolaşımda bulunan primer safra asitlerinin fizyolojik pH'da çözünürlükleri oldukça düşüktür. Bu nedenle safra asitleri karaciğerden salgılanmadan önce karboksil grupları taurin veya glisin ile konjuge edilir ve primer safra tuzları oluşturulur. Kolon florasında bulunan bakteriler, ilk olarak primer safra asitlerindeki glisin ve taurini ayırırlar. Daha sonra 7 α -hidroksilaz enzimi ile sekonder safra asitleri olan deoksikolik asit ve litokolik asit sentezlenir [121-123]. İnce bağırsaklara gelen primer ve sekonder safra tuzlarından glisin ve taurin bakteriler tarafından uzaklaştırılır ve safra asitlerine dönüşüm

sağlanır. Safra asitlerinin büyük bir kısmı ileumun distalinden aktif taşıma ile geri emilerek portal kan geçer ve albümine bağlı olarak taşınır. Daha sonra hepatositler tarafından portal kandan alınır. Safranın tekrar dolaşıma kazandırılmasına enterohepatik dolaşım adı verilir ve bu çevrim günde 6-10 defa tekrarlanır. Böylece 3-4 g'lık safra asidi havuzu oluşturulur ve dışkıyla günde sadece 0.5g safra atılır. Safra kaybı karaciğerde safranın yeniden sentezlenmesiyle karşılanır [123, 124].

Safra pigmentlerinden bilirubin, hemoglobinin yıkımı sonucunda oluşur. Plazmada albümine bağlı olarak taşınır ve karaciğerde UDP glukuronil transferaz enzimi ile glukuronik asitle konjuge edilir. Konjuge bilirubinin bir kısmı idrarla dışarı atılırken bir kısmı da safra içine salgılanır. Konjuge bilirubin enterohepatik dolaşım yoluyla karaciğere geri dönen ürobilinojene ve dışkıyla atılan ürobilin ve sterkobiline dönüştürülür [125].

Fosfolipidler ve kolesterol de hepatositler tarafından safraya salgılanır ve lipit sindirim ürünleriyle birlikte misellerde bulunurlar. Kolesterol, misellerin merkezinde yer alırken, fosfolipidlerin hidrofobik kısımların miselin merkezine doğru, hidrofilik kısımları ise miselin dış yüzeyine uzanan polar zincirler meydana getirirler. Safra tuzları gibi, fosfolipidler de amfipatiktir ve miselleri oluştururken safra tuzlarına yardımcı olur. Safra diyetle alınan kolesterolün emiliminde rol oynar ve fazla miktardaki kolesterolün atılımı için tek yoldur [126, 127].

Karaciğer, portal ve sistemik dolaşım arasındaki merkezi konumu nedeniyle ilaçların ve toksinlerin metabolizmasında önemli bir rol oynar. Bu nedenle karaciğer, ağızdan alınan ilaçlar ve gastrointestinal sistemde emildikten sonra albümin gibi plazma proteinlerine bağlanan toksinler için ilk parankimal giriş yeridir [121]. Üretilen ilaçların pek çoğu vücut tarafından emilimi kolaylaştırmak amacıyla lipofilik yapıdadır. Ancak idrar ve safra ve atılabilmeleri için hidrofilik özellik kazanmaları gereklidir. Bir ilacın hidrofilik hale getirilmesine biyotransformasyon adı verilir. Karaciğerde ilaçların ve toksinlerin biyotransformasyonu faz I ve faz II reaksiyonları ile gerçekleştirilir [128]. Faz I reaksiyonları, hepatositlerin düz endoplazmik retikulumunda bulunan sitokrom P450 enzim sistemi tarafından katalizlenir. Faz I reaksiyonları yükseltgenme, indirgenme, hidroliz ve oksidasyon gibi reaksiyonlar ile ana bileşiğe aktif gruplar ekleyerek, faz II konjugasyon reaksiyonlarına hazırlar [115,128]. Faz II reaksiyonlarında sülfat, asetat, glukuronik asit, glutatyon ve glisin gibi endojen maddeler ile konjugasyon reaksiyonları

gerçekleşir. Böylece suda çözünebilir hale gelen lipofilik ilaç molekülleri böbrekler tarafından daha kolay atılabilir veya enterohepatik dolaşıma geri dönme şansı en az olacak şekilde safra üzerinden de kolaylıkla uzaklaştırılabilir [115, 121].

Karaciğer, yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K vitaminleri) ve demir için önemli bir depolama alanı görevi görür. Bazı suda çözünen vitaminler, özellikle de B₁₂ vitamini de karaciğerde depolanır. Depolanan bu vitaminler ihtiyaç durumunda dolaşıma verilir.

Karaciğerdeki reseptörler, şilomikron kalıntılarında bulunan retinil esterleri alarak hepatositlerde depolar ve kanda A vitamini düzeyi düştüğünde retinil esterler hidroliz edilir. Retinil esterler dolaşımda karaciğer tarafından sentezlenen RBP ile taşınır [115].

Ultraviyole ışığın etkisi ile deri hücreleri tarafından D vitamini sentezlenir veya diyetle alınabilir. Diyetle alınan D vitamini hayvansal (D₃) veya bitkisel (D₂) kaynaklı olabilir ve biyolojik olarak aktif değildir. D₂ ve D₃ vitaminleri dolaşımda DVBP bağlı olarak taşınır, sadece %1-3'ü serbest olarak bulunmaktadır [129]. D₃ vitamini karaciğerde, D vitaminin baskın formu olan 25-hidroksivitamin D₃'e dönüştürülür. Bu hidroksilasyonu, tam biyolojik aktiviteye sahip bir ürün (1,25-dihidroksivitamin D) elde etmek için böbrekte 1-hidroksilasyon takip eder. 1,25-dihidroksivitamin D aktivitesinin sonlandırılması da 24. karbonun hidroksilasyonu ile karaciğerde başka bir sitokrom P-450 enzimi tarafından gerçekleştirilir [115, 116].

Yağda çözünebilir E vitaminin sadece küçük bir kısmı (% 20-30) ince bağırsaklarda α - ve γ - tokoferol formunda emilir. Bu türevlerden α - tokoferol en etkili formdur [130]. E vitamini, diğer lipid sindirim ürünleri ile birlikte şilomikronlar ve VLDL'lerin yapısına katılır. Bu partiküller sistemik dolaşıma lenf damarları aracılığıyla geçtiklerinde triasilgliserol hidrolizine uğrarlar. Böylece E vitamini diğer dokulara iletilir. Kalıntı şilomikronlarda hala bir miktar bulunma devam eden α - ve γ - tokoferol karaciğere geldiğinde bu iki form birbirinden ayrıştırılır. α - tokoferol karaciğerde üretilen VLDL'nin veya HDL'nin bileşeni olarak tekrar salgılanırken, γ - tokoferol karaciğer tarafından metabolize edilir ve atılır. Bu atılım sürecinde karaciğer kaynaklı bir tokoferol bağlayıcı proteinin işlev gördüğü düşünülmektedir [116].

K vitamini, yağ çözünebilen bir vitamin olup çoğunlukla ince bağırsakta bulunan bakteriler tarafından üretilir. Karaciğerde az miktarda depolanır. K1 ve K2 formunda bulunan K vitamininin ince bağırsaklardan emilimi yağda çözünen diğer vitaminlere benzer olarak gerçekleşir [130]. Protrombinin karaciğerde sentezinde önemli rol oynar. Protrombin, olgun protrombine dönüştürülen bir öncül olarak sentezlenir ve bu reaksiyon K vitamini varlığında gerçekleşir. Bu nedenle K vitamini eksikliği, kan pıhtılaşması sürecinde aksamalara yol açar. [115, 116].

Karaciğer, vücudun demir metabolizmasında merkezi bir role sahiptir. Dolaşımda bulunan demirin homestazisini sürdürmede üç temel işlevi yerine getirir : (1) Dolaşımdaki demir dengesinin korunmasında görev alan proteinleri üretir. (2) Vücutta fazla miktarda bulunan demiri depolar. (3) Metabolik gereklilikleri karşılamak için hepatositlerden dolaşım sistemine giden demirin harekete geçirilmesini sağlar.

Demir metabolizmasında kritik rol oynayan proteinler karaciğer tarafından sentezlenen transferrin, seruloplazmin, hemopeksin, hepsidin ve haptoglobulindir. Dolaşımda bulunan demirin hemen hemen tümü plazma transferrini tarafından taşınır ve transferrinin büyük bir kısmı karaciğerde sentezlenir [131]. Seruloplazmin, plazmada bakır içeren temel proteindir ancak bakır metabolizmasında rol oynamaktan ziyade, ana işlevi hücrelerden demir akışını kolaylaştırmak gibi görünmektedir [132]. Seruloplazmin demiri yeniden oksitleyebilir ve transferrin içine geçişini kolaylaştırır [130]. Karaciğer tarafından üretilen hemopeksin proteini dolaşımda bulunan hem molekülünü, haptoglobin ise hemoglobini bağlayan proteindir [115]. Karaciğer, hem ve hemoglobinden demir alımını sağlayan mekanizmalara sahiptir. Hemoglobin/haptoglobin kompleksi makrofajlar tarafından reseptör aracılı endositozla hücre içine alınır. Hücre içine alındıklarında hemoglobin/haptoglobin kompleksi lizozomlarda yıkılarak hem ve pek çok proteolitik ürün salınır. Hem oksijenaz-1, hemi yıkarak demiri, karbon monoksidi ve biliverdini açığa çıkarır. Açığa çıkan bu demir, çeşitli kaynaklardan alınan demir ile aynı hücre içi havuza katılır [133]. Son yıllarda karaciğer kökenli bir peptid olan hepsidinin demir trafiğinin yönlendirilmesinde vücutta önemli bir rol oynadığı belirgin hale gelmiştir. Hepsidinin esas olarak hepatositler tarafından sentezlendiği ve ifadesinin demir yükleme koşulları altında arttığı görülmektedir [134].

Hücre içinde bulunan serbest demir toksik olduğundan, çoğu ferritinde depolanır. Karaciğerdeki tüm hücre tipleri demir depolayabilir, ancak normal koşullar altında hepatositler ana depolama alanını temsil eder. Depo havuzundaki demirin daha küçük bir miktarı hemosiderin olarak çözünmeyen formda hücrelerde yığınlar halinde birikir ve mikroskobik olarak büyük partiküller şeklinde izlenebilir. Buna karşılık ferritin partikülleri sadece elektron mikroskobu ile görülebilecek şekilde küçük ve dağılmış halde hücre sitoplazmasında bulunur [109].

2.5. Tiroid Bezi Histofizyolojisi

Tiroid bezinin ana işlevi tiroid hormonlarının, T_4 ve T_3 üretimidir. Tiroid hormonları metabolizmayı düzenler, vücudun bütün dokularında protein sentezini ve oksijen tüketimini artırır. Tiroid hormonları vücut gelişimi, merkezi ve periferik sinir sistemlerinin normal olgunlaşması için özellikle önemlidir [135].

Tiroid bezinin fonksiyonel birimi, tiroid follikül olup, tek katlı tiroid epitel hücre tabakasıyla çevrelenmiş, çapı 200 ile 300 μm arasında değişen küresel bir yapıdır. Epitel, folikülün en dış yapısı olan ve zengin bir kapiler ağ ile çevrelenmiş bir bazal laminaya oturur. Foliküler epitelin apikali folikülün lümenine bakar. Foliküler lümenin kendisi, tiroid epitel hücreleri tarafından salgılanan ve iyotlanan tiroglobulinden oluşan kolloid ile doldurulur [136].

Tiroid hormonlarının sentezinde ilk basamak, tiroid folliküler hücrelerin granüllü endoplazmik retikulumlarında çok miktarda tirozin kalıntıları içeren bir glikoprotein olan tiroglobulinin sentezidir. Tiroglobulin sentezlendikten sonra salgı keseciklerine eklenir ve apikal membran boyunca hareket ederek folliküler lümenine geçer [127,137]. Tiroid epiteli hücrelerinin bazolateral membranında yer alan $\text{Na}^+ - \text{I}^-$ taşıyıcı proteini ile iyodür hücre içine alınır. Bu işlem için gereken enerji $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPaz}$ tarafından sağlanır. I^- hücre içine girdiğinde tiroid peroksidaz enzimi tarafından I_2 'ye okside edilir [127, 136]. Apikal membranın yakınında folliküler lümenin içinde, tiroid peroksidaz tarafından I_2 tiroglobulinin tirozin kalıntılarıyla birleşerek MIT ve DIT oluşturur. İki DIT molekülü T_4 'ü oluşturmak için birleşirken, başka bir reaksiyon ile bir DIT molekülü ve bir MIT molekülünü T_3 oluşturmak üzere birleşir. Birleştirme reaksiyonlarından sonra, tiroglobulin glikoproteini T_4 , T_3 , MIT ve DIT kalıntılarını içerir [137]. Tiroid bezi uyarıldığında, iyotlu

tiroglobulin (T_4 , T_3 , MIT ve DIT eklenmiş) foliküler epitelyal hücelere endositozla alınır. Psödopodlar, apikal hücre zarından, koloidin bir kısmını çevreleyerek hücre içine alır. Hücre içine alınan tiroglobulin, mikrotübüller aracılığıyla bazal membrana doğru taşınır. Tiroglobulin içeren veziküller lizozomlar ile birleşir ve lizozomal proteazlar tiroglobuline bağlı olan T_3 , T_4 , MIT ve DIT'ı serbestleştirmek için peptid bağlarını hidroliz eder. T_3 ve T_4 hormonları bazal membran boyunca sistemik dolaşıma ulaştırılmak üzere taşınır. MIT ve DIT molekülleri ise folliküler hücrede kalır ve deiyodinaz enzimleri aracılığıyla yeni tiroglobulin sentezi için geri dönüştürülür [116, 127].

Tiroid hormonları dolaşıma salındıktan sonra kanda proteinlere bağlı olarak taşınır. T_4 ve T_3 hormonlarının %70'i TGB'e bağlı olarak taşınır. T_4 hormonunun %15'i transtiretine bağlı olarak taşınırken hem T_4 hem de T_3 hormonlarının %25'i albümine bağlı olarak bulunur [102]. İnsanlarda tiroid tarafından salgılanan tiroid hormonlarının yaklaşık% 80'ini T_4 , % 20'si aktif T_3 formundadır [138]. Tiroid bezinin başlıca salgı ürünü olan T_4 hormonunun biyolojik olarak aktif hale gelebilmesi için periferik dokularda T_3 hormonuna dönüşümü gerekmektedir. Periferik dokularda bulunan deiyodinaz enzimleri tiroid hormonlarının iç veya dış halkalarından iyot atomunu uzaklaştırarak etkinlik gösterirler. T_4 hormonunun dış halkasının deiyodinasyonu sonucunda aktif T_3 hormonu meydana gelirken, iç halkanın deiyodinasyonu biyolojik olarak aktif olmayan rT_3 oluşumuna neden olur [139]. Doku dağılımları, katalitik profilleri ve fizyolojik fonksiyonları bakımından farklı olan üç tip deiyodinaz enzimi tanımlanmıştır. Karaciğer, böbrek, tiroid ve hipofiz bezlerinde plazma membranında ifade edilen tip I deiyodinaz enzimi T_4 ve rT_3 hormonlarının hem iç hem de dış halka deiyodinasyonunu katalizler. Dolaşıma ulaşan T_3 hormonunun çoğu bu enzim tarafından üretilir [136,140]. Tip II deiyodinaz (D2) beyin, hipofiz bezi, kahverengi yağ dokusu, tiroid, plasenta ve iskelet kasında ifade edilir. Tip I deiyodinazın aksine tip II deiyodinaz sadece dış halka deiyodinasyonu yapabilir [139, 140]. Tip III deiyodinaz (D3) enzimleri tiroid hormonlarını inaktive eden ve sadece iç halka deiyodinasyonu yapan enzimdir. T_4 hormonu bu enzim ile rT_3 'e, T_3 hormonu ise T_2 'ye dönüştürülür. Bu enzimler beyin, plasenta ve deride ifade edilir [136, 139].

Tiroid hormonlarının sentezi ve salgılanmasının kontrolü hipotalamus-hipofizer akstan geçer. Hipotalamus tarafından salgılanan TRH hipofiz bezinin anteriorunda yer alan tirotroplar üzerinde etkili olur. Tirotroplardan salgılanan TSH, tiroid folliküler hücreleri üzerindeki reseptörüne bağlanarak etkinlik gösterir. Üretilen T_3 hormonu TSH

sekresyonunda negatif geri bildirim sağlar. Dolaşımdaki serbest T₄ ve T₃, hem hipotalamik nöronlar tarafından TRH sentezini hem de anterior hipofizde tirotroplar tarafından TSH salımını engeller [116, 127].

2.6. Hipotiroidizm

Hipotiroidizm, tiroid hormonunun eksikliğinden veya nadiren doku düzeyinde etkisizliği sonucu ortaya çıkan, yaygın bir endokrin bozukluktur. Sıklıkla fiziksel ve zihinsel aktivitenin yavaşlaması olarak ortaya çıkan, metabolik fonksiyonda genel bir azalma ile karakterizedir. Kadınlarda prevalansı % 1.9'dur ve yaşla birlikte artmaktadır [141]. Hipotiroidizmin klinik özellikleri hastanın yaşına, başka hastalıkların varlığına ve hipotiroidizmin gelişim hızına bağlıdır. Erişkinlerde asemptomatik, kan testleri ile belirlenemeyen hafif bir seyirden, miksodem koması gibi hayati tehlike oluşturan koşullara kadar geniş bir yelpazede seyredebilir.

Hipotiroidizmde belirtilerin çoğu spesifik olmadığından dikkatli bir fizik muayene gereklidir. Hastalarda devamlılık gösteren yorgunluk ve halsizlik mevcuttur. Bazal metabolizma hızı ve oksijen tüketimi azalır. İştah azalmasına rağmen, vücutta su tutulumu ve yağ birikimi nedeniyle kilo artışı meydana gelir. Bağırsak hareketlerinin azalması nedeniyle kabızlık sıklıkla görülür. Termogenezin azalması ile hastalar soğuğa karşı duyarlı hale gelir [142, 143].

Derideki değişiklikler, hipotiroidizmin derecesine bağlıdır. Deri kuru, soğuk ve solgun bazen de sarı renklidir. Cildin kalınlaşması, kırılğan saçlar ve tınaklar, saç dökülmesi, lateral kaşların kaybı, deride mavimsi morumsu ağ benzeri görünüm meydana getiren livedo retikularis, vitiligo, terlemede azalma görülebilmektedir [144]. Glikozaminoglikanların birikimi nedeniyle çukurlu olmayan ödem görülür [145]. Yüzde, özellikle göz çevresinde ödem görülür. Dilin olağan boyutlarından büyük olması hastalarda konuşmayı etkiler, ses kısık ve boğuktur [142, 146].

Hipotiroidizm ile ilişkili nörolojik bulguların çoğu uyum, hafıza ve üst düzey düşünme gibi bilişsel işlevler etrafında merkezlenir. Uyku hali, düşünce süreçlerinin yavaşlaması ve hafıza değişiklikleri meydana gelir [146, 147]. Ödem sonucu karpal tünel sendromu gibi sinir sıkışması sendromları ortaya çıkabilir. Baş ağrısı, vertigo, kulak çınlaması, derin

tendon reflekslerinde gecikmiş gevşeme fazı, görme bozuklukları, işitme kaybı, uyuşma ve karıncalanma gibi duyuşsal bozukluklar sıklıkla bildirilmektedir [141, 146].

Kardiyovasküler sistemde tiroid hormonlarının eksikliği nedeniyle kalp hızında, atım hacminde ve kardiyak atım hacminde azalma, sistemik vasküler dirençte artma görülür. Hafif hipertansiyon ve nabız basıncında daralma görülebilir. Oksijen kullanımının azalmasına bağılı olarak, sistolik ve diyastolik fonksiyonlarda bozukluk ve miyokardiyal kontraktilitede azalma meydana gelir [148]. Kolesterol ve trigliserid düzeylerindeki artış ateroskleroza artırmaktadır [149].

Hipotiroidizmin üreme üzerindeki etkileri, gonadotropin salgılanması ve steroidogenezin bozulması ile gerçekleşir. FSH ve LH seviyeleri artmış, normal veya azalmış olabilir ve preovulatuvar LH dalgalanması olmayabilir [150]. Kadınlarda hipotiroidizm adet düzensizlikleri, aşırı adet kanaması, anovülasyona, düşük riskinin artmasına ve infertiliteye neden olmaktadır [151]. Erkeklerde ise hipotiroidizm gonad işlev anormallikleri ile ilişkilidir [152]. Cinsiyet hormonu bağlayıcı globülin düzeyindeki azalmaya bağılı olarak total testosteron düzeyleri azalabilir. Bu nedenle erkek hastalarda serbest testosteronun ölçümü gonadal durumun değerlendirilmesinde iyi bir belirteç olabilir [142].

Hipotiroidizm T_4 ve T_3 tiroid hormonlarının yeterli miktarda üretilmemesinden kaynaklanan klinik bir durumdur. Olguların çoğı (% 95'i) tiroid bezinin tiroid hormonlarını üretmedeki başarısızlığı anlamına gelen primer hipotiroidizmden kaynaklanmaktadır. Primer hipotiroidizmde serumdaki serbest T_4 veya total T_4 düzeyleri azalmış, serum TSH düzeyleri artmıştır [153,154]. Dünya genelinde iyot eksikliği primer hipotiroidizmin en önde gelen nedenidir. Ancak Amerika Birleşik Devletleri gibi iyot alımının yeterli olduğı ülkelerde otoimmün tiroidit (Hashimoto tiroiditi) hipotiroidizmin en yaygın sebebidir [141]. Hashimoto tiroiditi, T ve B hücre anormallikleri nedeniyle anti-anti-TPO ve anti-TGB antikorlarının ortaya çıkmasına neden olan otoimmün bir hastalıktır [155, 156]. Vücut, tiroid antijenlerini yabancı olarak algılar ve kronik bir immün reaksiyonu ortaya çıkar. Histolojik incelemede yaygın lenfositik infiltrasyon bazen fibrozis ve foliküllerin bozulması görülebilir. Hashimoto tiroiditi tipik olarak orta yaşlı ve yaşlı kadınları etkiler [141, 153]. Hashimoto tiroiditine benzer olarak, doğumdan sonraki ilk yıl içinde ortaya çıkan postpartum tiroiditi de anti-tiroid antikorların varlığından kaynaklanmaktadır. Postpartum tiroiditte ilk olarak hipertiroidizm izlenir, bunu

hipotiroidizm takip eder ve hastalar bazen tedaviye gerek kalmadan iyileşebilmektedir. Sadece hipotiroidizmin izlendiği durumlarda ise 6 aya kadar tiroksin uygulanır. Ancak, vakaların % 25'inde hipotiroidizm, 4 yıl veya daha fazla süre devam edebilir [157]. Postpartum tiroiditi, tip I diyabeti ve oto-antikorları olan kadınlarda daha yaygındır [158, 159]. Klinik ve patolojik olarak postpartum tiroiditine benzer olarak sessiz tiroiditte de ilk olarak hastalarda hafif hipertiroidizm izlenir. Vakaların %50'sinde hipertiroidizmden sonra 6-12 ay süresince geçici hipotiroidizm izlenirken, nadir olarak %5'inde ise hipotiroidizm kalıcıdır [157].

Graves hastalığı, toksik tiroid nodülleri veya toksik multinodüler guatrli hastalara uygulanan tiroidektomi ve radyoaktif iyot tedavisi primer hipotiroidizmin bir başka nedenidir. Graves hastalarında tiroidektomi sonrasında bir yıl içerisinde hipotiroidizm ortaya çıkmaktadır [141, 142]. Baş ve boyun tümörleri, meme kanseri ve Hodgkin lenfoma tedavisinde baş, boyun ya da tüm vücuda dışarıdan uygulanan radyasyon sonrasında primer hipotiroidizmin gelişmesi genellikle birkaç yıl sürmektedir. Bu tedaviyi alan hastaların tiroid fonksiyonlarının dikkatle izlenmesi gerekir [160, 161].

Amiodaron gibi iyot içeren ilaçların tiroid hormonu üretimini aşırı iyot yüklemesi nedeniyle kısıtladığı bilinmektedir. Amiodaron dışında lityum, talidomid, interferon- α , radyografik kontrast ajanları, stavudin ve kanser tedavisinde kullanılan, bir tirozin kinaz inhibitörü olan Sunitinib gibi ilaçların da primer hipotiroidizm ile ilişkisi bildirilmiştir [141, 162].

Primer hipotiroidizmden farklı olarak, santral (merkezi) hipotiroidizm, hipofiz bezinin fonksiyon bozukluğundan veya hipotalamusdaki bozukluklardan kaynaklı olmaktadır. Biyokimyasal olarak, santral hipotiroidizm, düşük veya düşükten normale değişiklik gösteren TSH konsantrasyonları ve orantısız olarak düşük bir serbest tiroksin konsantrasyonu ile tanımlanır [163, 164]. Prevalansın 80.000-120.000 bireyde 1 olduğu tahmin edilmektedir ve her iki cinsi de eşit olarak etkiler [165]. Santral hipotiroidizmin klinik belirtileri genellikle primer hipotiroidizme benzerdir. Bununla birlikte, primer hipotiroidizmin tipik semptomları (örneğin kaba deri, saç kaybı, kalın dil, ses kısıklığı, periferik ödem vb.) santral hipotiroidizimli hastalarda daha az yaygındır. Hipofiz adenomları santral hipotiroidizmin en yaygın sebebidir [166, 167]. Hipofiz adenomlarının yanı sıra, nazofaringeal ve paranasal sinüs tümörleri için ışın tedavisi, cerrahi, kafa

travması, hipofiz apopleksisi, Sheehan sendromu gibi sebepler de santral hipotiroidizmin ortaya çıkma nedenleridir [146, 164]. TRH ve TSH uygulaması, santral hipotiroidizm tedavisinde teorik olarak ideal olmakla birlikte, Bu moleküller yüksek maliyet, sınırlı uygulanabilirlik ve santral hipotiroidizmde bile standart tedavi olan levotiroksin ile tedavi kolaylığı nedeniyle kullanılmazlar [167].

Yüksek serum TSH'ı ve normal tiroksin düzeyleri görülen bireyler subklinik hipotiroidi tanısı alırlar. Subklinik hipotiroidide hastaların sadece %30'unda semptomlar görülmektedir [168]. Prevalansı yaş ile birlikte artar ve kadınlarda daha sık görülmektedir [169]. Subklinik hipotiroidizmin en sık görülen nedeni otoimmün tiroid hastalığıdır [170]. Ayrıca daha önce görülen radyoaktif iyot tedavisi, tiroid cerrahisi ve harici radyasyon tedavisi de subklinik hipotiroidizm ile sonuçlanmaktadır. Geçici subklinik hipotiroidizm, postpartum, sessiz ve granümatöz tiroidit ataklarından sonra ortaya çıkabilir [170, 171]. Subklinik hipotiroidizm, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür ve bu risk kolesterol artışı ile ilişkili bulunmuştur. İleri yaştaki kadınlarda, subklinik hipotiroidizmin total kolesterol düzeyleri, yüksek dansiteli lipoprotein, sigara ve diğer faktörlerden bağımsız olarak ateroskleroz ve miyokart enfarktüsü için bir risk faktörü olduğunu bildirilmiştir [172]. Başka bir çalışmada ise subklinik hipotiroidizmde kolesterol artışı bulunmamış ancak hepatik lipaz aktivitesinde azalma ve LDL kolesterol / LDL-trigliserit oranının azaldığını bulunmuştur [173]. Kardiyovasküler etkilerin yanı sıra sinir iletimi, kas fonksiyonu ve üreme sistemi bozuklukları, doğurganlık sorunları, artan plasenta dekolması ve prematüre doğum, bebek doğum ağırlığında azalma gibi çeşitli bozukluklar subklinik hipotiroidizm ile ilişkili bulunmuştur [174-176].

Subklinik hipotiroidizmin tedavisi için serum TSH değerleri dikkatle izlenir. Serum TSH düzeyinin 10 mIU/L'den yüksek, T₃ ve T₄ düzeylerinin normal olduğu durumlarda levotiroksin tedavisine hemen başlanırken, serum TSH düzeyinin 4-10 mIU/L aralığındaki T₃ ve T₄ düzeylerinin normal olduğu durumlarda ise tiroid antikorları varlığında, gebelikte veya gebelik planlayanlarda tedavi önerilmektedir [177].

2.7. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron içeren bileşiklerdir. Son derece kararsız ve kısa ömürlü birleşikler olan serbest radikaller, bir

elektron kazanmak veya eşlenmemiş bir elektronu kaybetmek için yakın çevrelerinde bulunan bileşiklerle reaksiyona girme eğilimindedir [1]. Metabolizmanın normal olarak devamı ve hücrede enerji üretimi için gerekli pek çok reaksiyon tarafından üretilmektedirler. Serbest radikaller, kovalent bağlı bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi, molekülün elektron kaybına uğraması veya moleküle elektronun eklenmesi gibi üç farklı mekanizma ile meydana gelirler [179]. Üretilen bu radikaller membran lipidlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açar ve hücrel hasar meydana getirirler [180].

Serbest radikaller, reaktif oksijen türevleri (ROT) ve reaktif nitrojen türevleri (RNT) olarak sınıflandırılır. ROS olarak adlandırılan moleküller, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), H_2O_2 , hidroksil radikalleri ($OH^{\cdot}$), hipoklorik asit ($HOCl$), singlet oksijen (O_2), ozon (O_3), alkil radikali (R), peroksil radikali ($POO^{\cdot}$), organik peroksit radikali ($RCOO^{\cdot}$), perhidroksil radikali ($HO_2^{\cdot}$), alkoksil radikali ($RO^{\cdot}$)'dir. RNT molekülleri ise nitrik oksit ($NO^{\cdot}$), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) olup, vücudun normal metabolik reaksiyonları sırasında az miktarda üretilirler [181-183].

$O_2^{\cdot-}$ radikalleri, aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşur. Elektronca zengin bir ortama sahip olan mitokondri iç zarında ve ksantin oksidaz gibi enzimler tarafından endojen olarak oluşturulurlar [184]. Serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türevi olarak kabul edilen H_2O_2 , serbest radikal oluşumunda önemli bir rol oynar. Geçiş metallerinin ve süperoksit radikalının varlığında oldukça güçlü bir radikal olan $OH^{\cdot}$ oluşturur [185, 186]. H_2O_2 , süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözünür ve Fe^{2+} içeren hücrel membranlarda hasar oluşturabilir [180]. Reaktif oksijen türlerinin en güçlüsü olan $OH^{\cdot}$ radikalleri, oluştukları yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluştururlar ve bu da sonuç olarak hücrel hasarı meydana getirir [187]. NO, NOS olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranarak lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlarken, $O_2^{\cdot-}$ düzeylerinin arttığı koşullarda bu moleküle reaksiyona girerek öncül bir oksidan olan peroksinitriti meydana getirir [188, 189].

2.8. Antioksidanlar

Hücre ve dokular, serbest radikal ürünlerini ve reaksiyonlarını engelleyebilen bir sisteme sahiptir. Radikallerle oldukça hızlı bir şekilde tepkimeye girerek ootoksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelere antioksidanlar adı verilir [190]. Oluşan herhangi bir radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir [182]. Antioksidanların etki mekanizmaları beş başlık altında toplanabilir:

1. Oksijeni ortamdaki uzaklaştırırlar veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar.
2. Katalitik metal iyonlarını ortamdaki uzaklaştırırlar.
3. Süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip reaktif oksijen türevlerini ortamdaki uzaklaştır veya daha zayıf moleküllere çevirirler.
4. Serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engellerler.
5. Serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı etkiler gösterirler.

Antioksidanlar endojen ve eksojen olmak kaynaklı olmak üzere iki grupta incelenir. Endojen antioksidanlar da, kendi içerisinde enzimatik olmayan ve enzimatik olan antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Enzimatik olmayan antioksidanlar GSH, alfa lipofilik asit, koenzim Q10, çeşitli biyoflavonoidler ve bakır, çinko, mangan ve selenyum gibi antioksidan minerallerdir [191]. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz, glutatyon redüktaz enzim olarak görev yapan antioksidanlardır.

Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur [192, 193]. İnsanlarda mitokondride (Mn-SOD), sitozolde (Cu-Zn SOD) ve plazmada (Cu-SOD) olmak üzere üç farklı tipte bulur. O_2^- radikalini, H_2O_2 ve O_2 'e katalizleyen enzimatik bir antioksidandır [194, 195]. Katalaz, büyük ölçüde peroksizomlar gibi hücre içi organellerde, daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalizler. Böylece hidrojen peroksidin hücrede birikmesi ve zarar vermesi engellenir [196]. GSH-Px enzimi hücrelerde sitoplazmada bulunur ve H_2O_2 'den $OH^\bullet$ 'nin oluşumunu engeller. Dört adet protein alt biriminden meydana gelir ve her bir alt birim bir adet Se atomu içerir [193]. Elektron kaynağı olarak GSH'ı kullanarak H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eder. Bu reaksiyon sırasında GSH, bir hidrojen verici olarak hareket eder. H_2O_2 ve hidroperoksitler

indirgenir, GSH ise okside olur [197]. Okside olan glutatyon artık glutatyon disülfittir (GSSG). Glutatyon redüktaz enzimi, elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanarak, okside glutatyonu redükte glutatyon haline geri indirgeyen antioksidan enzimdir [193,197].

Eksojen kaynaklı antioksidanları, vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olmak üzere iki grupta sınıflandırabiliriz. α -Tokoferol, β -karoten, askorbik asit ve folik asit dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlardır [198-200].

2.9. Oksidatif Stresin ve Hücresel Yapılar Üzerine Etkileri

Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması, lipid peroksidasyonu ve serbest reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkması sonucu organizmada hücresel hasar oluşumudur. Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizmaları (antioksidan mekanizmalar) yetersiz kalırsa, hücrelerde oksidatif hasar gelişir ve fonksiyonlar önemli ölçüde aksar. Pek çok hastalığın patogenezinde kritik bir öneme sahip olduğundan hastalığın şiddeti artar. Bu mekanizma, yaşlanma süreci ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, sepsis, nörodejeneratif hastalıklar, infertilite, kas ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalığın etiolojisinden sorumludur [201, 202]. Reaktif oksijen türevlerinin verdiği hasarlar vücutta protein, lipid, karbonhidrat ve DNA olmak üzere temel biyomolekül gruplarını hedef alır.

Reaktif oksijen türleri biyolojik membranlarda bulunan çoklu yağ asitlerinde oksidasyona yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatır. Peroksidasyon, çift bağa komşu bir metilen grubundan bir hidrojen atomunu yerinden çıkartan herhangi bir serbest radikal türevi ile başlatılır. Daha sonra çoklu yağ asitlerinde konjuge dien oluşturacak şekilde karbon radikali ile moleküler yeniden düzenlenme meydana gelir. Oksijen bir peroksil radikali oluşturmak için karbon radikaline eklenir. Sonuçta diğer bir lipit molekülünden bir hidrojen atomu çıkararak lipit hidroperoksiti oluşturur. Böylece zincirleme reaksiyon başlar [203, 204]. Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan lipit peroksitleri son ürünler olan MDA, HNE ve hegzanal isimli aldehitlere dönüşür [205, 206]. Biyolojik membranlarda meydana gelen peroksidasyon, membran akışkanlığında bozulma, membran potansiyelinde azalma ve membranların H^+ ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artışa yol açarak membranların bozularak, organel içeriğinin sitoplazmaya salınmasına neden olur. Sonuç olarak hücre hasarı ve ölüm meydana gelir [207].

Hidroksil radikali başta olmak üzere reaktif oksijen türevleri hücre içi proteinler üzerinde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz oksidatif değişikliklere ve hasara yol açar [208, 209]. Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu ve in vitro olarak ölçülebilen otofloresan indüksiyonu olmaktadır. Bu nedenlere bağlı olarak bazı enzimler inaktive olurken, bazı enzimler ise uygun inhibitörün inaktivasyonu nedeniyle aktive olur [203]. Ayrıca oksidatif stres nedeniyle protein yapılarında oluşan değişiklikler, hücre iskeletini oluşturan proteinlerde de yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar [180]. Glukoz gibi monosakkaritlerin, fizyolojik pH ve ısıda otooksidasyny ile H₂O₂, peroksitler ve okzaldehitler oluşabilir. Karbonhidratların proteinlerle bağlanması, proteinlerin serbest radikallere duyarlılığını arttırabilmektedir [203].

Oksidatif DNA hasarının başta karsinogenez olmak üzere birçok hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri DNA bazlarındaki çift bağlara hidrojen atomu ekleyerek veya 2-deoksiribozun C-H bağlarından ve timinin yapısındaki metil gruplarından hidrojen atomu çıkararak DNA molekülü ile reaksiyona girer [210]. DNA baz mutasyonları içerisinde en fazla bilineni 8-OHdG'dir. OH• radikalleri, guanin molekülüyle 8. pozisyonunda etkileşerek oksidasyona yol açar. Değişikliğe uğrayan DNA'nın oksidatif hasarı sonucunda 8-OHdG oluşur. 8-OHdG, oksidatif değişikliğe uğramış DNA hasarının miktarının belirlenmesinde kullanılır [211]. Oksidatif stresin DNA yapısı üzerine bir diğer etkisi de oluşan baz radikallerin proteinlerin aromatik aminoasitleri ile kombine olarak "DNA-protein" çapraz bağları oluşturmalarıdır [212]. Ayrıca OH• radikalleri DNA'daki şeker kalıntılarından hidrojen atomu kopartarak şeker modifikasyonlarına ve zincir kırılmalarına da yol açmaktadır. Hücrelerin H₂O₂'ye veya diğer serbest radikallere maruz kalması DNA replikasyonu ve transkripsiyonu üzerinde de etkili olup aynı zamanda DNA tamir mekanizmalarını baskılayarak DNA hasarını artırır [213]. DNA hasarı ile ilişkili en önemli patolojik süreç karsinogenezis olup oksidatif hasarın karsinogenezisin başlangıç, ilerleme ve malign dönüşüm evreleri üzerinde önemli bir rol üstlendiği düşünülmektedir [180].

2.10. Arı Sütü

Arı sütü, genç işçi arıların başındaki hipofarengial ve mandibular tükürük bezlerinde üretilen ve kraliçe arıyı geliştirmek için salgıladığı kremi bir üründür [214]. Arı sütü,

kuluçkadan yaşamın üçüncü gününe kadar tüm arı larvaları için özel bir besindir. Kraliçe haline gelmek üzere seçilen larvalar, larva yaşamının beşinci gününe kadar arı sütü ile beslenirler. Kraliçe arı yaşamı boyunca arı sütü ile beslenir. Ayrıca, arı sütünün yaşam süresi üzerinde de önemli bir etkisi vardır: işçi arı 45 gün yaşarken, bir kraliçe arı beş yıla kadar yaşayabilir [215].

Arı sütünün insanlar tarafından kullanımı ile ilgili ilk tarihsel notlar antik Yunanistan'a kadar uzanır; Yunanlılar, Olympos tanrılarına ölümsüzlük veren nektarın kısmen arı sütünden oluştuğunu düşünmüşlerdir. Arı topluluğunda, arı sütünün fonksiyonunu keşfeden ve kraliçe arıdaki etkilerini araştıran ilk kişi Aristo'dur. Arı sütü tüketiminin fiziksel gücü arttırdığını ve entelektüel kapasitenin gelişmesinde rolü olduğunu düşünmüştür [215-217]. Asya'da, özellikle Çin'de, eski zamanlardan beri geleneksel tıpta arı sütü kullanılmaktadır. Sadece hükümdar bahçelerinde üretilen bu arıcılık ürünü, Çin'in antik hanedanlarının uzun ömürlülüğü ile ilişkililiydi [218,219].

2.10.1. Arı sütü'nün fiziksel özellikleri

Arı sütü hafif karakteristik bir fenol kokusuna ve ekşi tada sahip, beyaz-sarımsı, jelatin kıvamlı bir maddedir [221]. Yoğunlukla değişen büyüklükte çözünmemiş granüllerin varlığı nedeniyle homojen değildir. Belirgin keskin bir kokusu ve tadı vardır Suda kısmen çözünür ve yüksek oranda asidiktir. Yoğunluğu 1.1 g/mL'dir. Toplandıktan sonra, 15°C'lik sıcaklıkta hava ile temas halinde sararır, bileşiminde bulunan albümin kurumaya bağlı olarak bozulmaktadır [222].

2.10.2. Arı sütü'nün kimyasal özellikleri

Arı sütü, esas olarak su, şeker, protein, lipid, vitamin ve bazı mineral tuzlarından oluşmaktadır. Ana bileşeni olan suyun miktarı % 60 ile % 70 arasında değişmektedir [223]. Karbonhidratlar kuru maddenin yaklaşık % 30'unu meydana getirmektedir. En bol şekerler fruktoz, glukoz ve sakarozdur. Ancak maltoz, trehaloz, melibiyoz, riboz gibi az miktarda oligosakkaritler de bulunabilir. Lipitler, arı sütünde % 3- 19 arasında bulunur. Lipitlerin yaklaşık % 90'ı yağ asitlerden oluşur; geri kalanı ise nötral lipitler, steroidler, hidrokarbonlar ve fenollerden meydana gelir [224-226]. Arı sütünün temel biyoaktif bileşenlerinden biri olan 10-HDA, doğada sadece arı sütünde bulunan doymamış bir yağ

asididir. Bu bileşenin antibakteriyel, antikanser, immünmodilatör etkileri bildirilmiştir [227-229]. Proteinler, arı sütünün kuru ağırlığının yaklaşık% 50'sini meydana getirir [230]. Arı sütünün protein bileşeninin %83-90'ını apalbuminler olarak da bilinen, MRJP'ler meydana getirmektedir. MRJP protein ailesine ait, moleküler ağırlığı 49-87 kDa arasında değişen dokuz protein (MRJP 1-9) tespit edilmiştir [230, 231]. MRJP'lerin kraliçe bal arısının gelişiminde arı sütünün fizyolojik rolünden sorumlu olan başlıca faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu proteinler ovalbumin ve kazeine benzer olarak pek çok esansiyel amino asit içermektedir. Kraliçe arı esansiyel amino asitleri MRJP1, MRJP4, MRJP5 ve MRJP2'den sağlar [225, 232]. MRJP'lerin hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri, MRJP3 proteinin bağışıklığı düzenleyici özellikleri bildirilmiştir. Ancak MRJP1 ve MRJP2 proteinlerinin in vivo'da fare makrofajlarında TNF- α üretimini uyararak allerjen özellik gösterdikleri de rapor edilmiştir [233-235].

Arı sütünde MRJP'lere göre daha az miktarda bulunan diğer proteinler, Royalisin, Jellein, Apismin, Royalaktin ve Apolipophorin III benzeri proteinlerdir. Jelleinler ve royalisinlerin antibakteriyel etkiye sahiptir oldukları bilinmektedir [236, 237]. Apismin, bal arısında yüksek oranda ifade edilir ve MRJP1'i kuvvetli bir şekilde bağlama kapasitesine sahiptir. Royalaktin, işçi arıların kraliçenin dönüşmesinde MRJP1 ile aynı etkiye sahiptir [238, 239]. Son yıllarda ilk kez arı sütünde tanımlanan Apolipophorin III benzeri protein, ilk kez arı sütünde tanımlanmıştır. Bu protein lipit bağlayıcı özelliğe sahiptir. Ayrıca Apolipophorin III benzeri proteinin arı sütünün antibakteriyel özelliğe katkıda bulabileceği ve bal arısı larvalarında bağışıklık yanıtlarının gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir [240-242].

Arı sütünde başta B5 olmak üzere B1, B6, B8, B9 ve B12 vitaminleri bulunmaktadır. Vitamin PP ve C vitamini sadece küçük miktarlarda bulunur. A, D, E ve K vitaminleri gibi yağda çözünebilen vitaminler yoktur [223, 225]. Mineraller ve diğer elementler, arı sütü kuru ağırlığının yaklaşık % 4 ila% 8'i kadardır [224]. K, Ca, Na, Mg, Zn, Fe, Cu ve Mn içeriğinde bulunan temel elementlerdir ancak aynı zamanda Ni, Cr, Sn, W, Sb, Bi ve Ti gibi iz elementler de vardır. [225, 243].

2.10.3. Arı sütü'nün biyolojik etkinliği

Arı sütünün literatürde belirtilmiş pek çok biyolojik aktivitesi bulunmaktadır. Bunların içerisinde en çok çalışılanlar anti-mikrobiyal, anti-oksidan, anti-inflamatuar ve yara iyileştirici, bağışıklığı düzenleyici, anti-hiperlipidemik, anti-hipertansifanti-tümoral, nörotropik ve insülin benzeri etkileridir.

Anti-mikrobiyal etki

Proteinler ve peptitler gibi, arı sütünün suda çözünabilen bileşenleri, Gram pozitif bakteriler ve mantarlara karşı yüksek oranda antibakteriyel etkinlik gösterir [244]. Arı sütünde bulunan Royalisin proteininin Gram-pozitif bakterilere (*Lactobacillus helveticus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Leucnoscoc*, *Stafilococcus*, *Streptococcus*) karşı güçlü, bir antibakteriyel etkisi olduğu ancak Gram-negatif olanlara karşı antibakteriyel etkinliği olmadığı kanıtlanmıştır [245]. Jellein-I, -II, ve III, maya, Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı özel antimikrobiyal aktivite gösterirken, Jellein-IV'ün herhangi bir antibakteriyel özelliği bulunmamaktadır [237].

Anti-oksidan etki

Arı sütü son zamanlarda oldukça etkili bir antioksidan ve güçlü bir serbest radikal süpürücü olarak özellikle dikkat çekmiştir. Arı sütünde tespit edilen 12 küçük peptitin 2-4 amino asit kalıntısı ile antioksidatif etkilerinin incelenmesi, bu peptitlerin amino asitlerinin hidroksil grupları ile radikal süpürme aktivitesini göstermiştir [246]. Ayrıca arı sütünün, süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri ve DPPH radikalleri gibi serbest radikalleri temizleyebildiği de bildirilmiştir [247].

Bağışıklık düzenleyici etkileri

Arı sütü ve bileşenlerinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri çeşitli in vitro ve in vivo deneylerde araştırılmış ve etkileri kanıtlanmıştır. Arı sütü, bağışıklık sisteminin enfeksiyonlara karşı savaşmasına yardımcı olan amino ve gama globulin, doymamış yağ asitleri, hormonlar, enzimler, proteinler, E vitamini ve A içerir [248]. Arı sütünden izole edilen yağ asitleri, sıçan dendritik hücrelerinde ve T hücresi ko-kültürlerinde, konsantrasyona bağlı olarak farklı şekillerde bağışıklık yanıtını modüle etmiştir. Arı sütü T

hücre proliferasyonunu uyarmıştır ancak yüksek konsantrasyonlarda proliferasyonu inhibe etmiş, IL-2 ve IL-10 üretimini azaltmıştır [249]. Lipopolisakkaritler ve IFN- γ uygulanan fare peritoneal makrofaj kültürlerine eklenen arı sütü süspansiyonlarının doza bağımlı olarak ve makrofajlarda sitotoksik etki yaratmadan proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe ettiğini göstermiştir [250].

Otoimmün Graves hastalarında arı sütü tedavisi Th1/Th2 sitokinlerinin oranını Th1 yönünde değiştirmiştir. Bu durum, arı sütünün bağışıklığı düzenleyici bir faktör ve anti-tiroid ilaç tedavisi olarak Graves hastalığında potansiyel olarak etkili olabileceğini düşündürmektedir [251]. Ayrıca arı sütü takviyesinin enflamatuvar barsak hastalığı ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkları olan bireylerin yaşam kalitesinde düzelmeyi sağladığı da bildirilmiştir [250].

Anti-inflamatuvar ve yara iyileştirici etki

Arı sütü anti-inflamatuvar bir etkiye sahiptir ve granülasyon dokusu oluşumunda eksüdasyon ve kollajen oluşumunu azaltarak yara iyileşme kapasitesini artırır. Deskuamlı deri lezyonlarının iyileşme süresini de kısaltmıştır [252]. Kılcal geçirgenliği engellemesi, anti-inflamatuvar ve yara iyileştirici etkilerini açıklayan başka bir mekanizmadır. İn vitro bir çalışmada arı sütü, askorbik asit-2-O- α -glukozidaz varlığında deri fibroblastlarında kollajen üretimini teşvik etmiştir. kollajen üretiminin artışı, doza bağımlı bir şekilde 10-HDA tarafından indüklenir. 10-HDA kollajen üretimi için önemli bir dönüşüm faktörü olan TGF- β 1'in üretimini başlatır [253]. Asetik asitle indüklenen kolitli sıçanlarda arı sütü, dört hafta boyunca 150 mL/kg oral doz uygulandığında mast hücre sayısında ve kolonik erozyon alanında önemli bir azalmaya neden olmuştur [254].

Hamsterlerde, arı sütünün doz bağımlı bir şekilde topikal uygulaması kemoterapi ile uyarılan şiddetli oral mukozit üzerinde iyileştirici etkiye sahiptir [255]. Diyabetik bacak ülserleri olan hastalarda arı sütünün yara iyileşmesini geliştirdiğini ve diğer standart tedavilerle birlikte kullanıldığında daha yararlı olduğunu gösterilmiştir [256].

Antihiperlipidemik etki

Deney hayvanları ve aterosklerozlu insanlarda arı sütü tüketiminin serum kolesterolü ve total lipit düzeylerini düşürdüğünü ileri sürülmüştür [257]. MRJP1'in kolesterolün misel çözünürlüğünü önleyerek kolesterol düzeylerini düşürdüğü ve safra asitlerine bağlanarak fekal kolesterol atılımını arttırdığı bildirilmiştir [258]. Sağlıklı hafif hiperkolesterolemik bireylere üç ay boyunca arı sütü takviyesi yapıldığında, dehidroepiandrosteron sülfat seviyesinin önemli ölçüde arttığı ve böylece toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün serum seviyelerini önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir [259].

Antihipertansif etki

Arı sütünün kardiyovasküler sistem üzerinde kan basıncı düzenleyicisi olarak da etki ettiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Yüksek tansiyonu olan deney hayvanları üzerinde arı sütünün enzimatik hidrolizi yoluyla elde edilen bazı peptidlerin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bu peptitler, ACE enzimi üzerinde inhibitör bir tarzda hareket etmiştir ve spontan hipertansif farelere tekrarlayan oral dozlarda arı sütü uygulamalarından sonra basınç azalmıştır [260, 261].

İnsülin Benzeri Etki

Arı sütü içeriğinde bulunan insülin benzeri peptidler yoluyla enerji elde etmek için glukozun oksidasyonuna katılarak kan şekerinin optimal seviyesini koruyabilir [262]. Ayrıca arı sütünde bulunan insülinin memelilerde bulunan insüline oldukça benzemektedir [263]. İnsülin direnci olan diyabetik hastalarda arı sütü enjeksiyon yoluyla uygulandıktan 3 saat sonra şeker düzeyini %33 düzeyine indirdiği bildirilmiştir [248].

Nörotropik Etki

Arı sütünün, nöral kök hücrelerden her tür beyin hücresinin farklılaşmasını arttırdığı bildirilmiştir. Arı sütünde bulunan doymamış yağ asiti olan 10-HDA'in nöron oluşumunu artırırken nöral kök hücrelerden asterositlerin farklanmasını azaltmıştır [264]. Arı sütü yetişkin fare beyninin hipokampusunda nörotrofik ve nöroprotektif rol oynar [265]. Arı sütünün oral uygulamasının, hipokampusun dentat girusundaki granüler hücre sayısının

arttırdığı kanıtlanmış ve etkilenen bilişsel süreçlerin de aynı zamanda geliştirilmesini sağladığı gösterilmiştir [265, 266].

Anti-tümoral etki

Neoplastik büyüme üzerine arı sütünün etkisi ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar daha çok deneysel modellere dayanmakta ve konuyu klinik olarak ele alabilmek için yeterli değildir. Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada, antitümöral etki mekanizması, VEGF ile uyarılan anjiyogenez üzerinde inhibitör etki gösteren ve arı sütünde bulunan 10-HDA ile ilişkilendirilmiştir. 10-HDA hem hücre proliferasyonu hem de hücre göçünü önleyerek tümör vaskülarizasyonunun engellenmesini sağlamıştır [267]. Farelerde arı sütünün transplantasyonu yapılan farklı tümörler üzerindeki etkisinin oral uygulama ile araştırıldığı bir çalışmada ise lösemi haricinde diğer tümörlerde transplantasyon sonrasında hayatta kalma süreleri, kullanılan arı sütünün uygulama protokollerine göre değişen miktarlarda önemli ölçüde artmıştır [268].

Arı sütüyle yapılan in vitro bir çalışmada ise arı sütünün içeriğinde bulunan ve anti-tümoral özellik gösteren RJP30 proteini HeLa hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermiş ve 7 günlük uygulama sonrasında başlangıç hücre yoğunluğunun 2,5 kat azaldığı belirlenmiştir [269].

2.11. Karaciğer Kök Hücreleri

Karaciğer plazma proteinlerinin üretimi, safra sentezi ve detoksifikasyon gibi birçok fizyolojik işlevi yerine getirir ve sentezlediği enzimlerle homeostaz için anahtar rol oynarlar. Karaciğer hepatositler, safra epitel hücreleri (BEC, kolanjiositler), endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve fibroblastlar olmak üzere çeşitli hücrelerden oluşur [26]. Günümüzde memelilerde yapılan rejeneratif çalışmalar için model organ konumunda olan karaciğerin rejeneratif yeteneği, kütesinin üçte ikisinin (kısmi hepatektomi) çıkarılması ya da hepatotoksik ajanlar ile hasarlanma sonrasında açıkça görülmektedir. Ethionine 11, CCl₄, allil alkol (AA) ve son zamanlarda sıklıkla kullanılan galaktosamin gibi hepatotoksik maddeler ile oluşturulan hasarın ardından oval hücrelerin ortaya çıkmasını belgelemiş olan çalışmalar vardır [270, 271].

Hepatositler ve safra epitel hücreleri (kolanjiositler) yetişkin karaciğerde bulunan belirgin biçimde farklı hücre tipleridir. Bu hücrelerin rejeneratif özelliği kemirgenlerde yapılan pek çok deneysel çalışma ile test edilmiştir. Kısmi hepatektomi veya safra kanalı ligasyonu sonrasında karaciğer rejenerasyonu sırasında, hepatositler veya kolanjiyositler kendi türlerinden hücreler oluşturmak için hızla çoğalırlar. Ancak hasar derecesine bağlı olarak hepatositlerin veya kolanjiositlerin rejeneratif yetenekleri bozulduğunda bu hücrelerin birbirlerine farklanabildikleri de bildirilmiştir [272].

Hepatositlerin güçlü rejeneratif özelliği olmasına rağmen, yetişkinlerde rejenerasyon için alternatif bir mekanizma olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, rat karaciğerinde toksin kaynaklı hasar ile hepatositlerin çoğalması inhibe edildiğinde ve karaciğer rejenerasyonu tehlikeye girdiğinde, periportal bölgede çok sayıda küçük hücrelerin ortaya çıktığı görülmüştür [273]. Bu hücreler "duktuler hepatositler", ya da daha yaygın olarak "oval hücreler," gibi birçok farklı isimlerle anılmıştır.. Morfolojik olarak oval hücreler, soluk mavi boyanan oval şekilli çekirdeğe sahip, az miktarda hafifçe bazofilik sitoplazması olan ve yaklaşık 10µm boyutundaki küçük hücrelerdir. Bazal membranları yoktur. Birçok deney, oval hücrelerin sağlıklı karaciğerde mevcut olmayan ve periportal bölgede sadece yaralanma koşulları altında ortaya çıkan bir hücre popülasyonu olduğunu desteklemektedir [273]. Hücre nakli çalışmaları ve in vitro farklılaşma deneyleri bu hücrelerin multipotent progenitör hücreler olduğunu göstermektedir. Oval hücreler, farklı izoenzim profilleri ile hem kolanjiositler hem de hepatositler ile benzerlik gösterirler. Karaciğer oval hücreleri, olgun hepatositler ve Transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu, belirli bir hücrenin farklılaşma durumunu değerlendirmek için oldukça önemlidir. Yetişkin karaciğerde sadece hepatositlerde veya kolanjiositlerde eksprese edilen spesifik transkripsiyon faktörlerinin yanı sıra, birçok hücre tipinde yaygın olarak eksprese edilen transkripsiyon faktörleri de bulunmaktadır [26, 274]. Kemirgenler üzerinde yapılan birçok çalışmada, oval hücrelerin ortaya çıkmasında ilk basamağın Hering kanallarında bulunan safra epitel hücrelerinde hepatosit-ilişkili transkripsiyon faktörlerinin sentezlenmeye başlaması olduğunu göstermiştir. Oval hücreleri, kolanjiositlerden ve hepatositlerden ayırt etmek için birçok morfolojik özellik bildirilmiştir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda, yetişkin rat karaciğerinde hepatoblastların; albümin ve AFP, kolanjiositlerin, CK-7, CK-19 ve OV-6 gibi yüzey belirteçleri eksprese ettikleri bildirilmiştir. Oval hücrelerin ise, EpCAM, albümin, OV-6, AFP, CK-19, CK-7, CK8, CK18, CD24, CD44, CD133, Claudin-7, ROS-1, konneksin-4, kaderin-22 gibi yüzey belirteçleri eksprese ettikleri bilinmektedir [27].

Normal epitel hücrelerinde ve tümör hücrelerinde eksprese edildiği bilinen EpCAM, yetişkin karaciğerde kolanjiositlerde eksprese edilirken, hepatositlerde eksprese edilmez. [275]. Buna karşılık, normal karaciğerde eksprese olmayan TROP2, hem rat hem de fareye ait hasarlı karaciğerde eksprese edilir. EpCAM ailesinin bir üyesi olan TROP2'nin çeşitli tümörlerde eksprese edildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Buna karşın karaciğerdeki ekspresyonunu gösteren çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Yapılan bir çalışmada yetişkin, hasarlı karaciğerde portal damarlar çevresinde, geniş çekirdekli çok sayıda küçük hücrenin varlığı uygulanan hematoksilin-eosin boyama ile açıkça gösterilmiştir. Oval hücreler ve kolanjiositler için bir belirteç olan CK-19 ile yapılan immünohistokimya boyaması ile bu hücrelerin oval hücreler oldukları doğrulanmıştır. Fare ve rat karaciğer yaralanma modellerinde, TROP2 ifadesi özellikle oval hücre aktivasyonu ile arttığı için TROP2'nin oval hücrelerde ifade edildiği öngörülmüştür. TROP2 ve EpCAM ile yapılan ikili boyamada, hasarlı karaciğerde EpCAM+ hücrelerin çoğunun TROP2 de ifade ettiği açıkça gösterilmiştir. Oval hücrelerin in-vivo proliferasyonu araştırmak için, izole edilmiş EpCAM+ hücrelere anti-Ki67 antikoruyla ile immünohistokimya uygulaması yapılan bir çalışmada izole EpCAM+ hücrelerde Ki67+ hücrelerinin yüzdesi, normal karaciğerde yaklaşık % 1 iken, bu oranın 1 hafta hepatotoksik diyet sonrasında % 12.2 ve 4 hafta sonra ise % 17.4'e yükseldiği görülmüştür [27]. Dolayısıyla bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar oval hücre proliferasyonunun indüklenmesinin karaciğerde hasara karşı oluşan temel yanıt olduğunu göstermektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 09/05/2017 tarihli ve G. Ü. ET-17.028 sayılı kararı ile onaylanan çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)’nden sağlanan 6-8 haftalık, 30 adet, erişkin, Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Oda sıcaklığı 20-25°C, nisbi nem %55 olarak ayarlanmış laboratuvar ortamında, uygun kafeslerde barındırılarak, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık dönemlerde kısıtlama olmaksızın ad-libitum beslenerek, suya serbest erişimleri sağlandı.

Denekler 5 gruba ayrıldılar;

1. Grup: Kontrol Grubu (n=6)
2. Grup: Sham Kontrol Grubu (n=6)
3. Grup: Arı Sütü Grubu (n=6)
4. Grup: Hipotiroidi Grubu (n=6)
5. Grup: Arı Sütü + Hipotiroidi Grubu (n=6)

3.2. Deneyin Yapılışı

3.2.1. Propiltiourasil (PTU) hazırlanışı

Hipotiroidi ve arı sütü + hipotiroidi gruplarında hipotiroidi modelinin oluşturulması için propiltiourasil 0.1 N NaOH içeren % 0.09 ‘luk NaCl içerisinde çözülerek, 10 mg/kg konsantrasyonda hazırlandı ve 30 gün boyunca intraperitoneal olarak deney gruplarına uygulandı.

3.2.2. Deneyin uygulanışı

1. Grup kontrol grubu olup birinci günden itibaren 30 gün boyunca standart laboratuvar diyeti ve distile su ile ad-libitum besleme yapıldı.
2. Grup sham kontrol grubu olup birinci günden itibaren 30 gün boyunca 10 mg/kg serum fizyolojik uygulandı ve deneklere standart laboratuvar diyeti ve distile su ile ad-libitum besleme yapıldı.

3. Grup arı sütü uygulanan grup olup birinci günden itibaren 30 gün boyunca 100 mg/kg arı sütü distile su içerisinde çözülerek gavaj yolu ile verildi.
4. Grup hipotiriodi modeli oluşturulan grup olup birinci günden itibaren 30 gün boyunca serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 10 mg/kg 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) intraperitoneal uygulanarak hipotiriodi modeli oluşturuldu.
5. Grup arı sütü + hipotiriodi grubu olup birinci günden itibaren 30 gün boyunca eş zamanlı olarak intraperitoneal olarak serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 10 mg/kg 6-n-propyl-2-thiouracil (Propiltiourasil, PTU) ile birlikte 100 mg/kg arı sütü distile su içerisinde çözülerek gavaj yolu ile verildi. (sodyum hidroksiti ekle).

Çalışmanın 30 günlük süresi bitiminde denekler yüksek doz anestezi altında feda edilerek deneklerin batın bölgeleri açılarak karaciğer dokuları alındı.

Deneklerden alınan dokular ışık mikroskopik inceleme için %10'luk nötral formaldehit tespit çözeltilisine alınarak gerekli işlemler gerçekleştirildi.

Deneklerden alınan kan örnekler serum tüplerine konularak santrifüj edildi. Ayrılan serum örnekleri biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

3. 3. Işık Mikroskopik Yöntem

Deneklerden alınan tüm karaciğer dokusu örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak % 10'luk formaldehit solüsyonunda en az 72 saat süresince oda sıcaklığı koşullarında tespit edildi. Tespit işleminden sonra doku örnekleri akarsu altında 24 saat süresince yıkandı. Doku örneklerine rutin histolojik takip yöntemleri uygulandı ve dokular erimiş parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 3µ kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-Eozin, SOD1 ve TROP2 immün boyamaları yapıldı. Kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve resimleri çekildi.

3.3.1. Hematoksilen eozin boyama yöntemi

Boya Solüsyonlarının Hazırlanışı

Harris Hematoksilen Solüsyonu

Hematoksilen 1g

% 96 Etil alkol 10mL

Potasyum alum (alüminyum potasyum sülfat) 20g

Distile su 200mL

Civa oksit 0.5g

Glasiyal asetik asit 8mL

Eozin Solüsyonu

Eozin 1g

Distile su 100mL

1 küçük timol kristali

Boyama Yöntemi

Deney gruplarından alınan 3 μ kalınlığındaki kesitler, 60°C etüvde 2 saat bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinin uzaklaştırıldı ve deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Lamlar daha sonra dokulardaki suyun uzaklaştırılması için sırasıyla azalan etil alkol serilerinden geçirildi (%100, %96, %80, %70, %50) ve alkol serilerinde 7'şer dakika tutulular. Kesitler daha sonra havada kurutuldular ve 10 dakika süresince akarsuda yıkanarak dokulardaki alkol uzaklaştırıldı. Ardından, Harris Hematoksilen'de 15 dakika boyandıktan sonra tekrar 10 dakika akarsuda yıkandılar. % 70 alkol + 2 – 3 damla glasiyel asetik asit karışımına 2-3 kez batırılıp çıkarılarak tekrar 10 dakika akarsuda yıkandı. Kesitler daha sonra 17 dakika Eozin boya solüsyonunda bekletilip 10 dakika daha akarsuda yıkandıktan sonra artan dereceli etil alkol serileriden (%50, %70, %80, %96, %100) geçirilerek, 2x15 dakika ksilole alındı ve entellan ile kapatıldı.

3.3.2. İmmünohistokimyasal yöntem

Karaciğer dokusunda SOD1 (Rabbit polyclonal, ab13498, Lot: GR80256-42, Abcam, UK) ve TROP2 (Rabbit polyclonal, bs-6198R, Lot: AB11217869, Bioss, USA) antikorlarıyla Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleksi yöntemiyle immün reaktivite açısından incelendi.

Polilizinli lamlara alınan kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyon işleminin kolaylaştırılması amacıyla etüv ısısı 60°C'ye çıkarılarak bu sıcaklıkta 1 saat daha bekletildi. Kesitler deparafinizasyonun tamamlanması için 2 kez 15 dakika ksilolde bekletildikten sonra 5'er dakika %100'lük, %96'lık, %80'lik, %70'lik ve %50'lik etil alkol serilerinden geçirildikten sonra 2 kez 5'er dakikalık distile sudan geçirilerek alkolden arındırıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, 95°C sıcaklıkta mikrodalga fırında 10 mM sitrat tamponuna (pH: 6.00) (Lot: MK170706, Lab Vision, Thermo Scientific, USA) etkin bırakıldı. Oda sıcaklığında 20 dakika soğutulduktan sonra 2 kez 5 dakika distile su ile yıkandı. Polilizinli lamaların üzerinde bulunan dokulara ait kesitlerin etrafı PAP Pen (Cat: Pen-01, PatoLab, Japan) ile çizildi. Bu işlemden sonra polilizinli lamalar immünobara yerleştirildi ve kesitler 3'er kez 3 dakika PBS (Lot: BBI120127, Thermo Scientific, USA) (pH: 7.4) ile yıkandı. Daha sonra dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi amacıyla 15 dakika % 3' lük H₂O₂'e (Lot: K41859197, Merck, Germany) etkin bırakıldı. Özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 15 dakika Ultra Ultra V Block (Lot: 1838146A, Life Technologies, Invitrogen, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, PBS ile dilüe edilen SOD1 ve TROP2 primer antikorlarına etkin bırakılarak, 1 gece boyunca +4°C'de inkübe edildi. Ertesi gün primer antikor uygulanmış kesitler 3'er kez 3 dakika boyunca PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika biyotinli sekonder antikor (Lot: 1838146A, Life Technologies, Invitrogen, USA) uygulanarak primer antikorlara bağlanması sağlandı. Kesitler 3'er kez 3 dakika PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Lot: 1838146A, Life Technologies, Invitrogen, USA) etkin bırakıldı. Kesitler 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan DAB (Lot: HDS36279, Thermo Scientific, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün tepkimenin açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Harris'in Hematoksileni (Cat: 008011, Lot:

73267432A, Invitrogen, USA) kullanıldı ve kesitler azalan etil alkol serilerinden geçirilerek 20 dakika ksilolde bekletildi. Lamlar daha sonra entellan ile kapatıldı.

3.4. ELISA Yöntemi

Deneklerden alınan kan örnekleri 3000 rpm'de +4°C'de 20 dk santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiş; serum örnekleri çalışılacağı güne kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Serbest T₄ (Katalog No: YLA0516RA Lot No: düzeylerinin ölçümünde rat ELISA kiti kullanıldı. 96 kuyucuklu mikropolanın bir kuyucuğu kör olarak kullanılmak üzere boş bırakıldı 100 µL farklı konsanrasyonlardaki standart solüsyonlar eklendi. Serbest T₄ için standartlar 16 mIU/mL, 8 mIU/mL, 4 mIU/mL, 2 mIU/mL, 1 mIU/mL olarak hazırlandı. Kör kuyucuğuna örnek konulmadı. Kromojen reaktifleri A ve B, durdurma solüsyonu eklendi. Standart solüsyon kuyucuğuna, 50µL standart ve 50µL streptavidin-HRP eklendi. Her bir örnek kuyucuğuna 40µL örnek ardından 10µL antikor (T₄), 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Sonrasında sızdırmaz bir film ile kaplanarak karışması için iyice çalkalanarak ve 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi. Sızdırmaz film dikkatlice kaldırılarak, kuyucuklardaki solüsyon boşaltıldı ve kalan solüsyon silkelendi. Her kuyucuk yıkama solüsyonu ile doldurularak 30 saniye sonra boşaltıldı ve bu işlem 5 kez tekrarlandı. Önce her kuyucuğa 50µL reaktif A, ardından 50µL reaktif B eklenerek iyice çalkalandı. 10 dakika süreyle 37 °C'de karanlıkta inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 50µL durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon sona erdirildi ve mavi ve sarı arasında renk değişimi gözlemlendi. Analiz için kör kuyucuk 0 olarak alınır. 450 nm dalgaboyu altında her kuyucuğun absorbansı ölçüldü. Bu aşama durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde tamamlandı. Standart konsantrasyonlar ve bunlara denk gelen absorbans değerleri göz önüne alınarak standart eğri elde edildi ve lineer regresyon denklemi hesaplandı. Sonrasında örneklerin absorbansına göre konsantrasyonları hesaplandı. Microsoft Office 2010 Excel programı kullanılarak standart grafiği elde edilmiş ve sonuçlar bu grafik ile hesaplanmıştır.

3.5. İstatiksel Analizler

Deney sonrasında sıçanlardan alınan kan örneklerine serumlardan serbest T₄ düzeylerinin ölçümü gerçekleştirildi. Gruplar arasında hormon değerleri arasındaki farklılıkları istatistiksel

olarak ortaya koymak için Kruskal Wallis testi uygulandı ve $p<0.05$ 'den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Mann-Whitney testi ile yapılan ileri analizlerde grupların ikili karşılaştırılması yapıldı. $p<0,05$ 'den küçük olan değerler anlamlı kabul edildi.

Leica SM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobu ve Leica Q Vin 3 programı yardımıyla kesitlerde bağ dokusu fibroblastları, v. porta hepatica endotel hücreleri, a.hepatica propria endotel hücreleri, safra kanalı epiteli hücreleri, hepatositler, Kupffer hücreleri ve sinüzoid endotel hücrelerinde SOD1 immünreaktivitesinin skorlamaları yapıldı. Buna göre her gruba ait 6 seri kesitte, pozitif hücelere göre kantitatif değerlendirmeler yapılarak hiç tutulum göstermeyen hücelere sahipse grade 0, $< \%10$ pozitif tutulum gösteren hücreye sahipse grade 1, $\%10-50$ pozitif tutulum gösteren hücreye sahipse grade 2, $55-90$ pozitif tutulum gösteren hücreye sahipse grade3, $> \%90$ pozitif tutulum gösteren hücreye sahipse grade 4 olarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal bulguların normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Non-parametrik Kruskal Wallis testi yapılarak $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Post-hoc Tukey testi ile gruplar arası farklılıklar değerlendirilerek $p<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz ve hesaplamalar IBM SPSS Statistics 16 programı ile yapıldı.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmelerde her gruba ait immünohistokimyasal skorlamalar yapıldı ve SOD1 immünohistokimyasal tutulumuna ait tanımlayıcı veriler Çizelge 4.1 'de gösterildi. Ayrıca sinüzoid endotel hücreleri, hepatositler ve Kupffer hücrelerine ait SOD1 immünreaktivitesinin yoğunlukları Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de verildi.

4. BULGULAR

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

4.1.1. Hematoksilen eozin boyama bulguları

Kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ait karaciğer dokularının hematoksilen- eozin ile boyanmış kesitleri incelendiğinde, klasik karaciğer lobüllerinin ve merkezi yerleşimli vena centralis'in, vena centralis'den lobülün periferine ışınsal olarak uzanan hepatosit kordonlarının normal histolojik yapılarında olduğu izlendi. Endotel hücreleri ile çevrili vena centralis'lerin genişlikleri normal yapılarında izlendi (Resim 4. 1. A - B, Resim 4. 2. A-B, Resim 4. 3. A-B).

Kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ait hematoksilen-eozin boyamalarında hepatositlerin bir veya iki çekirdeğe sahip olduğu, sitoplazmalarının granüler yapıda glikojen damlacıkları ile dolu olduğu, hepatositler arasında yerleşim gösteren sinüzoidlerin normal yapılarında olduğu izlendi (Resim 4.1C, Resim 4. 2. C, Resim 4. 3. C). Sinüzoid duvarlarında yer yer rastlanan Kupffer hücrelerinin normal histolojik yapılarını sergiledikleri izlendi (Resim 4. 1. D).

Kontrol, sham ve arı sütüne ait histolojik kesitlerde, karaciğer dokusunu dıştan saran Glisson kapsülünün, portal aralık, portal yol, portal üçgene ait bağ dokusu yapılarının, portal üçgene ait yapılardan vena porta ve arteria hepatica propria'nın dallarının, lenf damarlarının, safra boşaltım kanallarının normal yapılarında oldukları gözlemlendi (Resim 4. 1. D, Resim 4. 2. D, Resim 4. 3. D).

Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokularının hematoksilen-eozin ile boyanmış kesitleri incelendiğinde klasik karaciğer lobüllerinin merkezinde bulunan vena centralislerin dilate oldukları, vena centralis'i çevreleyen endotel hücrelerinin bazal membrandan yer yer ayrılmalar gösterdiği saptandı (Resim 4.4 A-B). Vena centralislerden lobülün periferine doğru ışınsal olarak uzanan hepatosit kordonlarının düzenlenimindeki bozulmalar dikkat çekiciydi (Resim 4. 4. B-C). Hepatositler arasında yerleşim gösteren sinüzoidlerde dilatasyonlar ve damar duvarlarında ödem izlendi. Sinüzoid duvarlarında eritrositler dikkat çekiciydi. Hepatositlerin poligonal şekillerinin kaybolduğu, sitoplazmik sınırlarının net

olarak ayırt edilemediği izlendi, bazı hepatositlerde nekroz gözlemlendi. Piknotik çekirdeklere sahip hepatositler dikkat çekiciydi (Resim 4. 4. C). Ayrıca vena centralis etrafında bulunan hepatositlerde de piknotik çekirdekler izlendi (Resim 4. 4. B).

Karaciğer dokusunu dıştan saran Glisson kapsülünün, portal aralık, portal yol ve portal üçgene ait bağ dokusu yapılarının kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer şekilde normal yapılarında oldukları saptandı. Ancak portal üçgene ait yapılardan olan vena portanın dallarına ait ven yapılarının kontrol, sham ve arı sütü grupları ile karşılaştırıldığında belirgin olarak dilatasyon gösterdiği izlendi. Buna karşılık portal üçgenin bir diğer elemanı olan arteria hepatica'nın dallarına ait arter yapılarının ve safra kanallarının kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak normal histolojik yapılarında oldukları belirlendi (Resim 4. 4. D).

Arı sütü + Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokularının histolojik kesitleri değerlendirildiğinde, Hipotiroidi grubu ile karşılaştırıldığında olarak klasik karaciğer lobüllerinin merkezinde bulunan vena centralislerdeki dilatasyonun belirgin olarak azaldığı, vena centralislerin kontrol, sham ve arı sütüne benzer yapıda olduğu izlendi. Kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak vena centralis'den lobülün periferine ışınal olarak uzanan hepatosit kordonlarının normal histolojik yapılarında olduğu belirlendi. Vena centralis'i çevreleyen endotel hücreleri kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak normal histolojik yapılarında gözlemlendi (Resim 4. 5. A-B).

Hepatositler arasında yerleşim gösteren sinüzoidlerin kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak normal histolojik yapılarında izlendi. Sinüzoidlerde dilatasyon ve ödem izlenmedi. Hipotiroidi grubu ile karşılaştırıldığında sinüzoidlerde eritrositlerin belirgin olarak azaldığı dikkat çekti (Resim 4. 5. B-C).

Hipotiroidi grubundan farklı olarak hepatositlerin çekirdek normal çekirdek yapılarını koruduğu gözlemlendi. Kontrol, sham grubu ve arı sütü gruplarına ait histolojik kesitlerdekine benzer olarak hepatositlerin poligonal şekilli oldukları izlendi. Hepatositlerdeki piknotik çekirdeklerin, nekrozun ve vakuoler dejenerasyonun hipotiroidi grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı dikkat çekti. Ayrıca hipotiroidi grubundan farklı olarak vena centralis çevresinde bulunan hepatositlerde piknotik çekirdekler izlenmedi (Resim 4. 5. C).

Kontrol, sham ve arı sütü grupları ile karşılaştırıldığında Glisson kapsülünün, portal aralık, portal yol, portal üçgene ait bağ dokusu yapılarının normal yapılarında olduğu gözlemlendi. Portal üçgene ait vena portanın dallarına ait ven yapılarının hipotiroidi grubuna benzer şekilde dilatasyon gösterdikleri belirlendi. Ancak portal üçgene ait arteria hepatica propria dallarına ait arter yapılarının duvar yapılarının ve safra kanallarının kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer histolojik yapı sergilediği izlendi (Resim 4. 5. D).

4.1.2. SOD1 immünohistokimya boyama bulguları

Karaciğer dokusunda SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde, kontrol, sham ve arı sütü gruplarında, klasik karaciğer lobüllerinde merkezi yerleşim gösteren vena centralisi çevreleyen endotel hücrelerinde, sinüzoid endotel hücrelerinde ve Kupffer hücrelerinde son derece zayıf sitoplazmik immünreaktivite izlendi.

Kontrol, sham ve arı sütü gruplarında, karaciğer parankiminin en küçük fonksiyonel birimini temsil eden karaciğer asinüsünde üç farklı konsantraik zonda yerleşim gösteren hepatositlerde SOD1 immünreaktivitesi incelendiğinde, her üç grupta da portal üçgene yakın olan zon 1’de, portal üçgene uzak ve santral vene yakın zon 3’de, zon 1 ve zon 3 arasında yer alan zon 2’de yerleşim gösteren hepatositlerin sitoplazmalarında zayıf immünreaktivite izlendi (Resim 4. 6 A-B, Resim 4. 7 A-B, Resim 4. 8 A-B).

SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ait karaciğer dokusunda portal üçgene ait yapılar değerlendirildiğinde, vena porta’nın dalı olan venlerin endotel hücreleri, arteria hepatica propria’nın dalı olan arterin endotel hücreleri ve safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin sitoplazmalarında zayıf immünreaktivite belirlendi (Resim 4. 6 C, Resim 4. 7 C, Resim 4. 8 C).

Deney hayvanlarında oluşturulan hipotiroidi modelinin tetiklediği oksidatif stres sonucunda hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda, SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde, klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşik, dilatasyon gösteren vena centralis’leri çevreleyen endotel hücrelerinde, sinüzoid endotel hücrelerinde ve Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında kuvvetli immünreaktivite izlendi. (Resim 4. 9. A-B). Hipotiroidi grubu ile kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ait karaciğer dokularında

SOD1 immünohistokimya boyamaları karşılaştırıldığında bu hücrelerde immünreaktivitenin belirgin olarak artış gösterdiği gözlemlendi.

Hipotiroidi grubunda, karaciğer asinüsünde farklı zonlarda yerleşim gösteren hepatositlerde SOD1 immünreaktivitesi incelendiğinde, vena centralis'e yakın olan zon 3'de ve portal üçgene yakın olan zon 1'de yerleşim gösteren hepatositlerin sitoplazmalarında kuvvetli immün reaktivite izlenirken, zon 2'de bulunan hepatositlerin sitoplazmalarında immün reaktivitenin ortadan kuvvetliye doğru değişiklik gösterdiği dikkat çekti. Portal alanın etrafında yerleşim gösteren hepatositlerin sitoplazmalarında ise SOD1 immünreaktivitesinin zayıftan ortaya değişiklik gösterdiği belirlendi. (Resim 4. 9. B).

Hipotiroidi grubunda, SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde portal üçgene ait yapılar da değerlendirildi. Vena porta'nın dalı olan venlerin endotel hücreleri, arteria hepatica propria'nın dalı olan arterlerin endotel hücreleri ve safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin sitoplazmalarında immünreaktivitenin kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak zayıf olduğu izlendi (Resim 4. 9. C).

Arı sütü + Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda, SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde karaciğer lobülünün merkezinde yerleşik vena centralis'leri çevreleyen endotel hücrelerinde, sinüzoid endotel hücrelerinde ve Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında hipotiroidi grubu ile karşılaştırıldığında immün reaktivitede belirgin azalma dikkat çekti (Resim 4. 10. A-B).

Karaciğer asinüsünde üç farklı zonda yerleşim gösteren hepatositlerin SOD1 immünreaktiviteleri hipotiroidi grubuyla karşılaştırıldığında, zon 1'de yer alan hepatositlerin sitoplazmalarında ortadan kuvvetliye immünreaktivite izlenirken, zon 3'de yerleşim gösteren hepatositlerin sitoplazmalarında immünreaktivitenin portal alana doğru ortadan zayıfa değişiklik gösterdiği izlendi. Zon 2'de yer alan hepatositlerin sitoplazmalarında immünreaktivitenin belirgin olarak değişmediği ve hipotiroidi grubuna benzer olarak ortadan zayıfa değişiklik gösterdiği belirlendi (Resim 4. 10. B).

Arı sütü + Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda, SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde portal üçgene ait yapılar değerlendirildiğinde, vena porta'nın

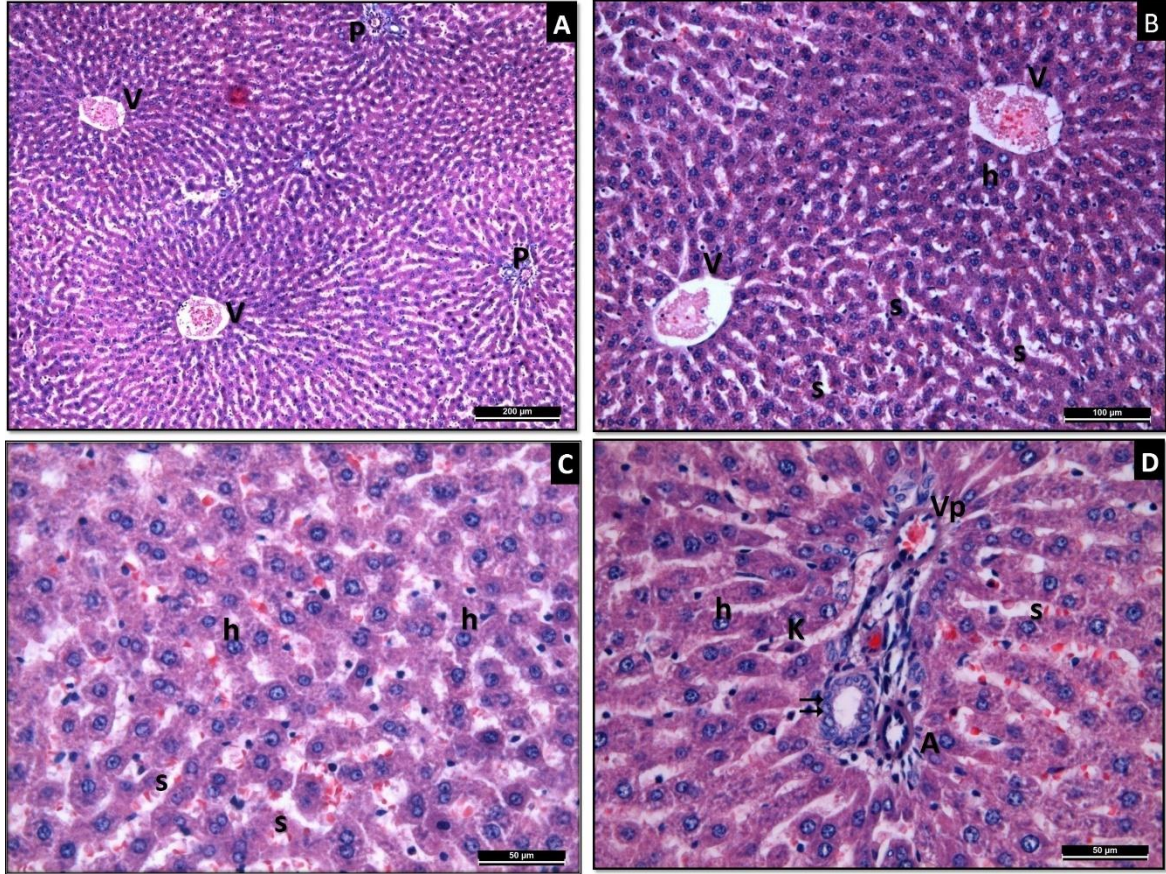
dalı olan venlerin endotel hücreleri, arteria hepatica propria'nın dalı olan arterlerin endotel hücreleri ve safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin sitoplazmalarında immünreaktivitenin kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak zayıf olduğu izlendi (Resim 4. 10 C).

4.1.3. TROP2 immünohistokimya boyama bulguları

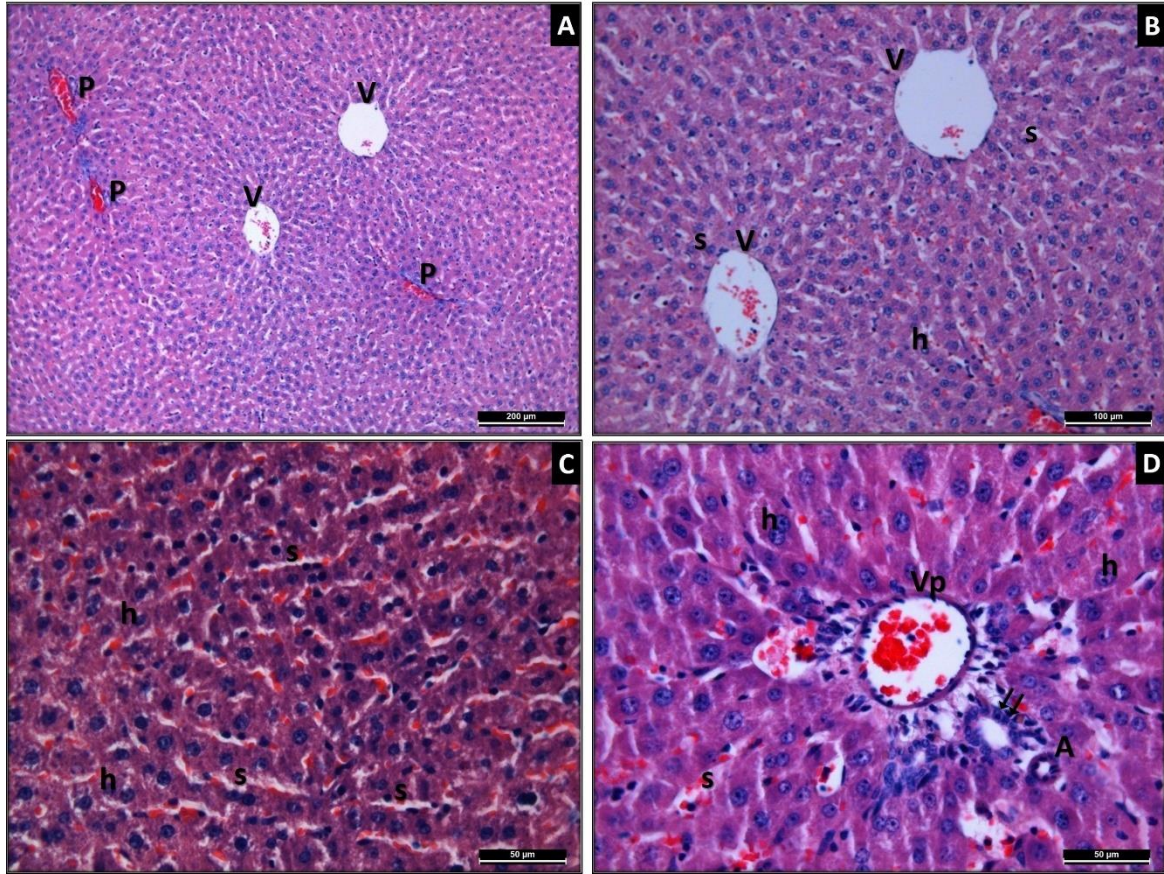
Karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde kontrol, sham ve arı sütü gruplarında klasik karaciğer lobüllerinde merkezi yerleşim gösteren vena centralisi çevreleyen endotel hücrelerinin, sinüzoid endotel hücrelerinin, Kupffer hücrelerinin ve hepatositlerin membranlarında son derece zayıf immünreaktive izlendi (Resim 4. 11. A, Resim 4.12. A, Resim 4.13. A). Bu gruplarda, portal üçgene ait vena porta'nın dalı olan venlerin endotel hücrelerinin, arteria hepatica propria'nın dalı olan arterlerin endotel hücrelerinin, safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin membranlarında TROP2 immünreaktivitesinin son derece zayıf olduğu dikkat çekti (Resim 4. 11 B, Resim 4.12. B, Resim 4. 13 B).

Hipotiroidi grubunda, TROP2 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde kontrol, sham ve arı sütü gruplarına benzer olarak karaciğer lobüllerinde merkezi yerleşim gösteren vena centralisi çevreleyen endotel hücrelerinin, sinüzoid endotel hücrelerinin, Kupffer hücrelerinin ve hepatositlerin membranlarında son derece zayıf immün reaktivite izlendi (Resim 4. 14 A). Hipotiroidinin karaciğer dokusunda meydana getirdiği dejenerasyona yanıt olarak ortaya çıkan, lobülün içinde, safra kanaliküllerinin yanında bulunan Hering kanallarında yerleşim gösteren, karaciğer kök hücreleri olan oval hücrelerin membranlarında kuvvetli TROP2 immünreaktivitesi dikkat çekti (Resim 4. 14. B).

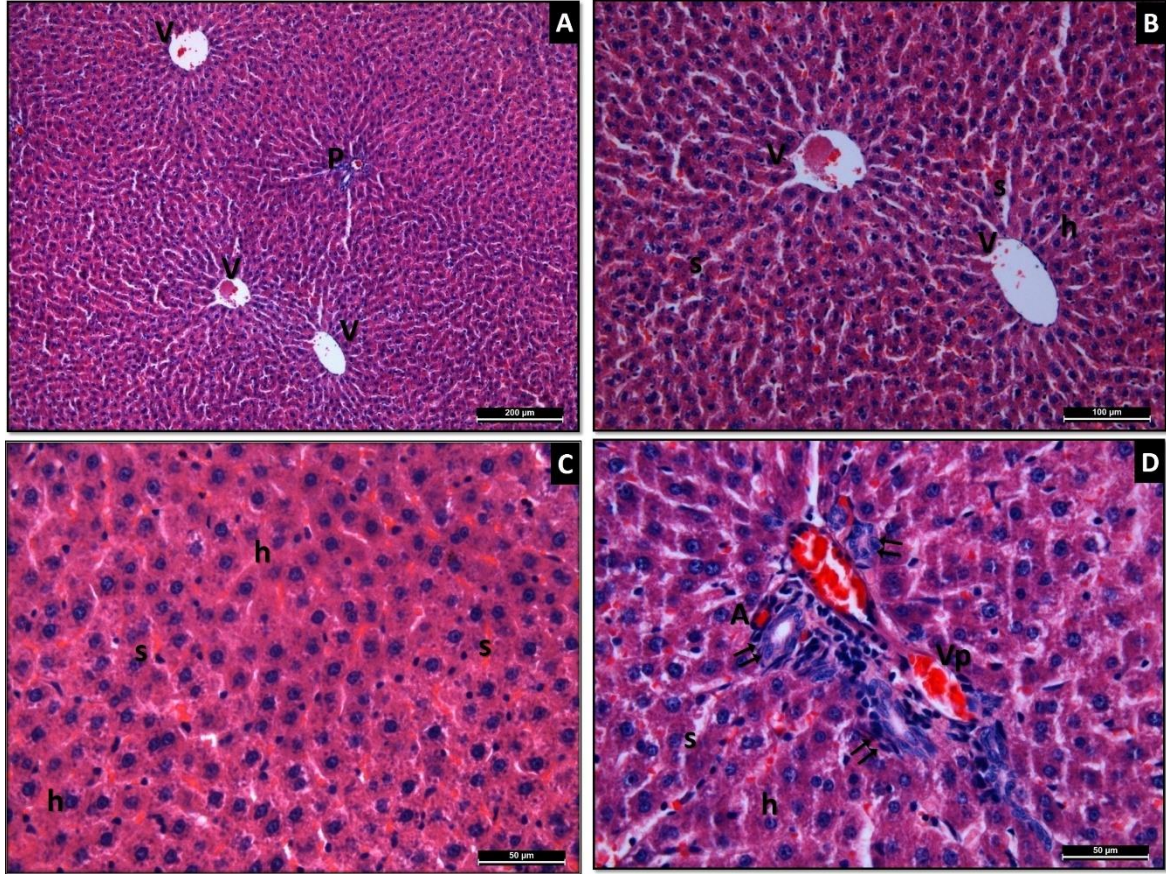
Arı sütü + Hipotiroidi grubunda, TROP2 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde kontrol, arı sütü ve sham gruplarına benzer olarak vena centralisi çevreleyen endotel hücrelerinin, sinüzoid endotel hücrelerinin, Kupffer hücrelerinin ve hepatositlerin membranlarında zayıf immünreaktivite izlendi (Resim 4. 15. A). Hipotiroidi grubuna ile karşılaştırıldığı olarak, karaciğer dokusunda meydana gelen dejenerasyona yanıt olarak ortaya çıkan, lobül içinde safra kanaliküllerinin yakınında bulunan Hering kanallarında yerleşim gösteren, oval hücrelerin membranlarında TROP2 immünreaktivitesinin belirgin olarak azaldığı izlendi (Resim 4. 15. B).



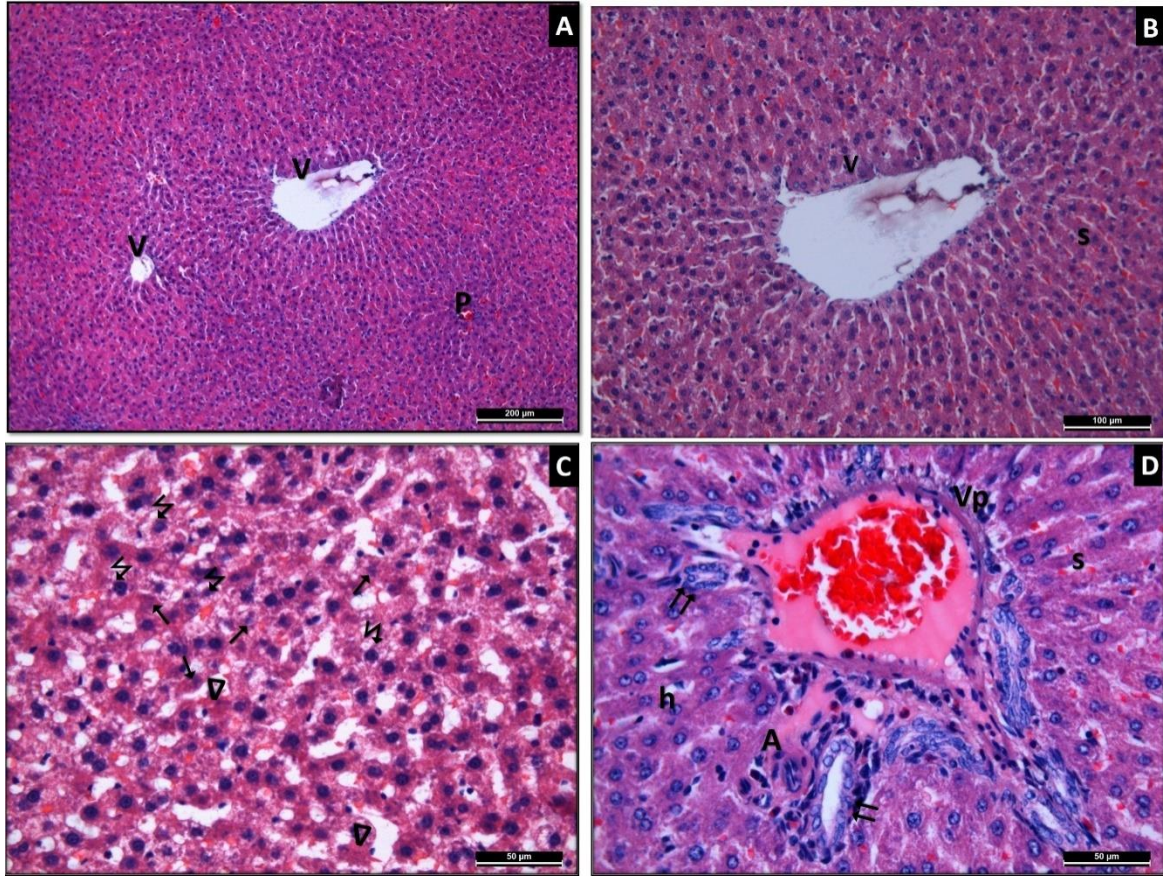
Resim 4.1. Kontrol grubu H.E boyaması. Merkezi yerleşimli v. centralisleri (V), v. centralislerden ışınal olarak uzanan, hepatosit (h) kordonları normal histolojik yapılarında izleniyor (A-B). Bir veya iki çekirdeğe sahip hepatositler (h) arasında normal genişlikteki sinüzoidler (s) gözleniyor (C). Portal üçgen (P), v. portanın dalı (Vp), a. hepatica proprianın dalı (A), Kupffer hücresi (K), safra kanalları (⇒) normal yapılarında izleniyor (D). (Hematoksilen-Eozin x 100, x200, x400)



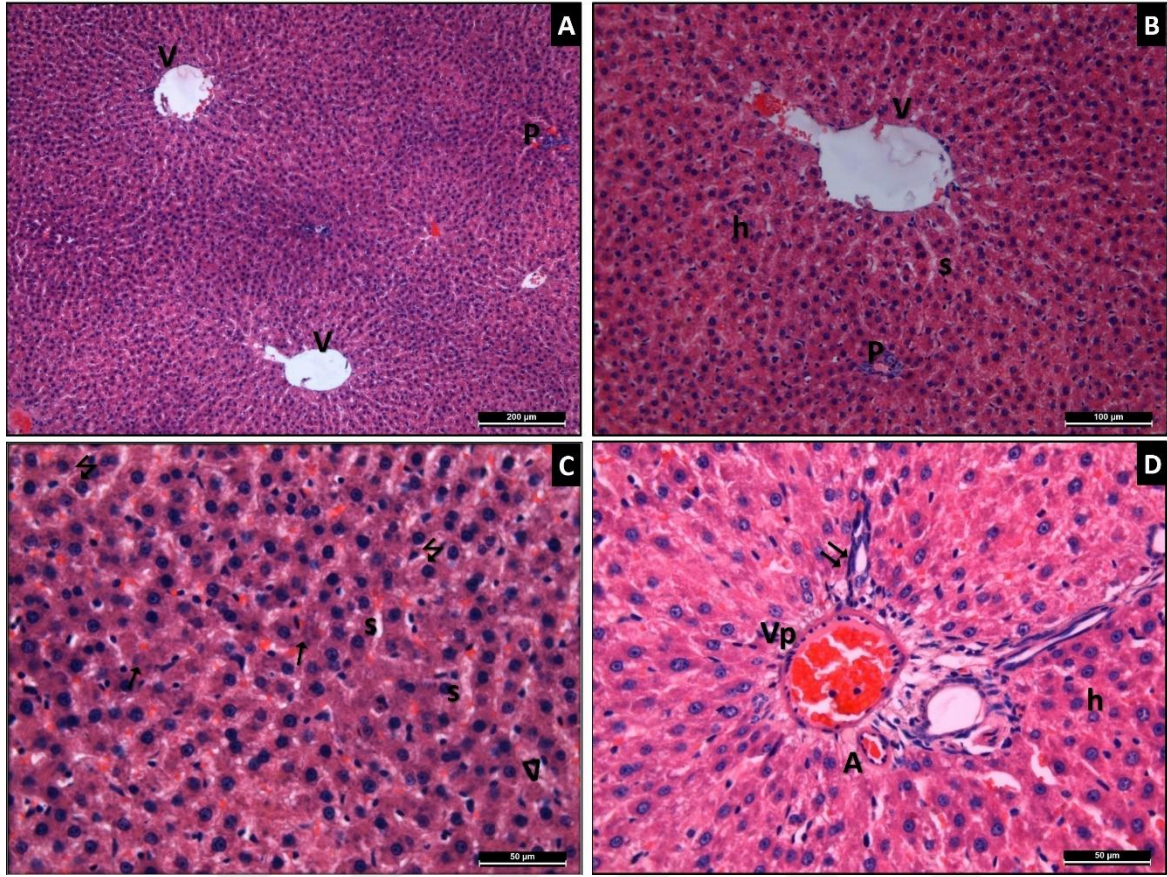
Resim 4.2. Sham grubu H.E boyaması. Merkezi yerleşimli v. centralisleri (V), v.centralislerden ışınal olarak uzanan, hepatosit (h) kordonları normal histolojik yapılarında izleniyor (A-B). Bir veya iki çekirdeğe sahip hepatositler (h) arasında normal genişlikteki sinüzoidler (s) gözleniyor (C). Portal üçgen (P), v. portanın dalı (Vp), a. hepatica proprianın dalı (A), Kupffer hücresi (K), safra kanalları (⇒) normal yapılarında izleniyor (D). (Hematoksilen-Eozin x 100, x200, x400)



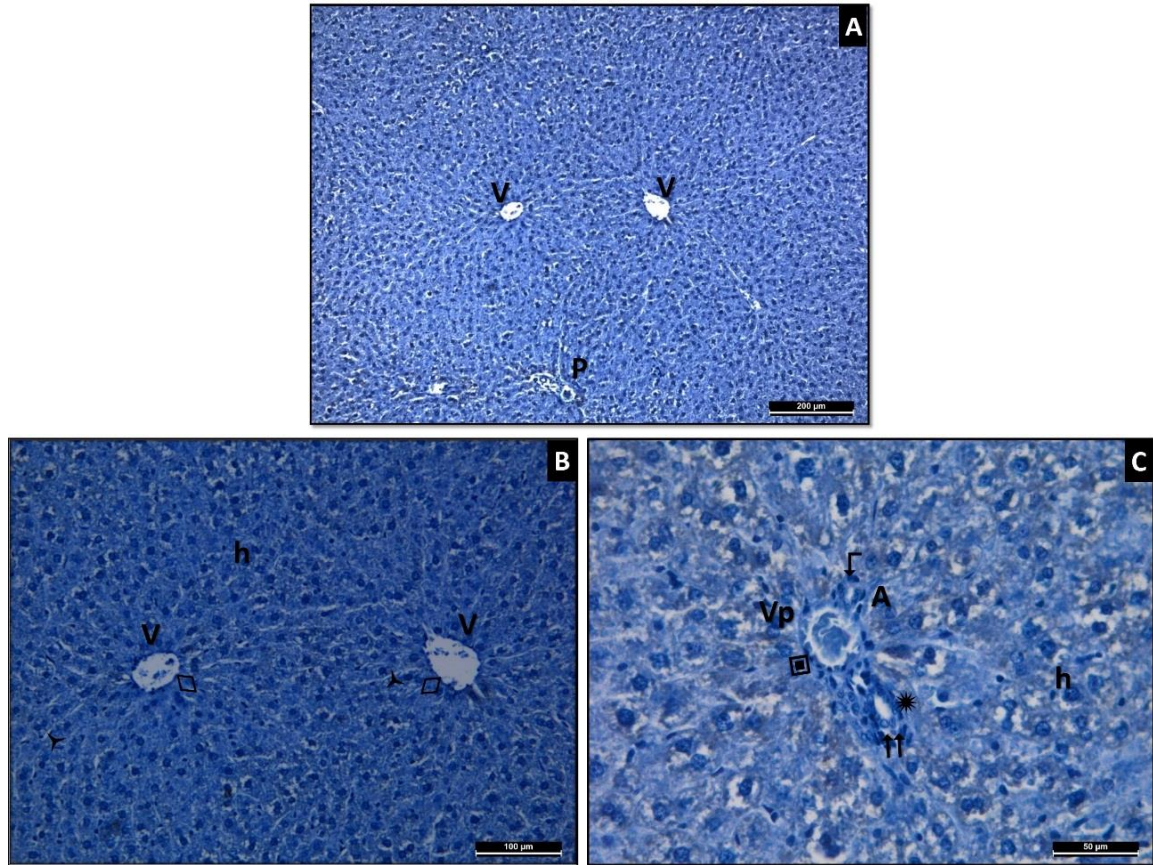
Resim 4.3. Arı sütü grubu H.E boyaması. Merkezi yerleşimli v. centralisleri (V), v. centralislerden ışınal olarak uzanan, hepatosit (h) kordonları normal histolojik yapılarında izleniyor (A-B). Bir veya iki çekirdeğe sahip hepatositler (h) arasında normal genişlikteki sinüzoidler (s) gözleniyor (C). Portal üçgen (P), v. portanın dalı (Vp), a. hepatica proprianın dalı (A), Kupffer hücresi (K), safra kanalları (⇒) normal yapılarında izleniyor (D). (Hematoksilen-Eozin x 100, x200, x400)



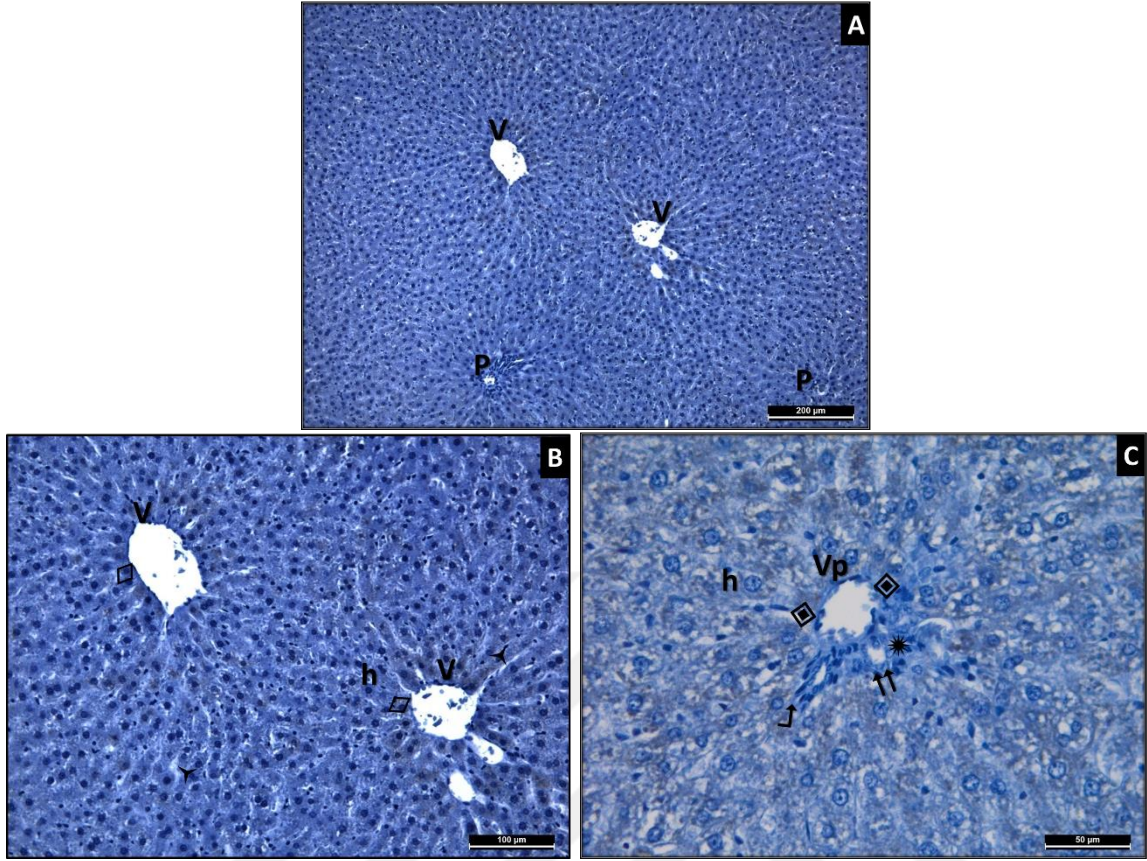
Resim 4.4. Hipotiroidi grubu H. E boyaması. Klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşik bulunan v.centralisde (V) dilatasyon izleniyor. V. centralisden lobülün periferine ışınal olarak hepatosit (h) kordonlarının düzenleniminde bozulmalar, v.centralis yakınında bulunan hepatositlerde (h) piknotik çekirdekler (↗) izleniyor. Sinüzoidlerde eritrositler (★) dikkat çekiyor. V. centralisi çevreleyen endotel hücreleri bazal membrandan ayrılımlar gösteriyor (►) (A-B). Hepatositlerde (h) vakuoler dejenerasyon (↗), nekroz (Δ) ve piknotik çekirdekler (↗) izleniyor (C). Portal üçgene (P) ait yapılardan v.portanın dallarına ait vende (Vp) belirgin dilatasyon görülüyor. A. hepatica proprianın dallarına ait arter (A) ve safra kanalları (⇔) normal histolojik yapılarında izleniyor (D). (Hematoksilen-Eozin x 100, x 200, x 400)



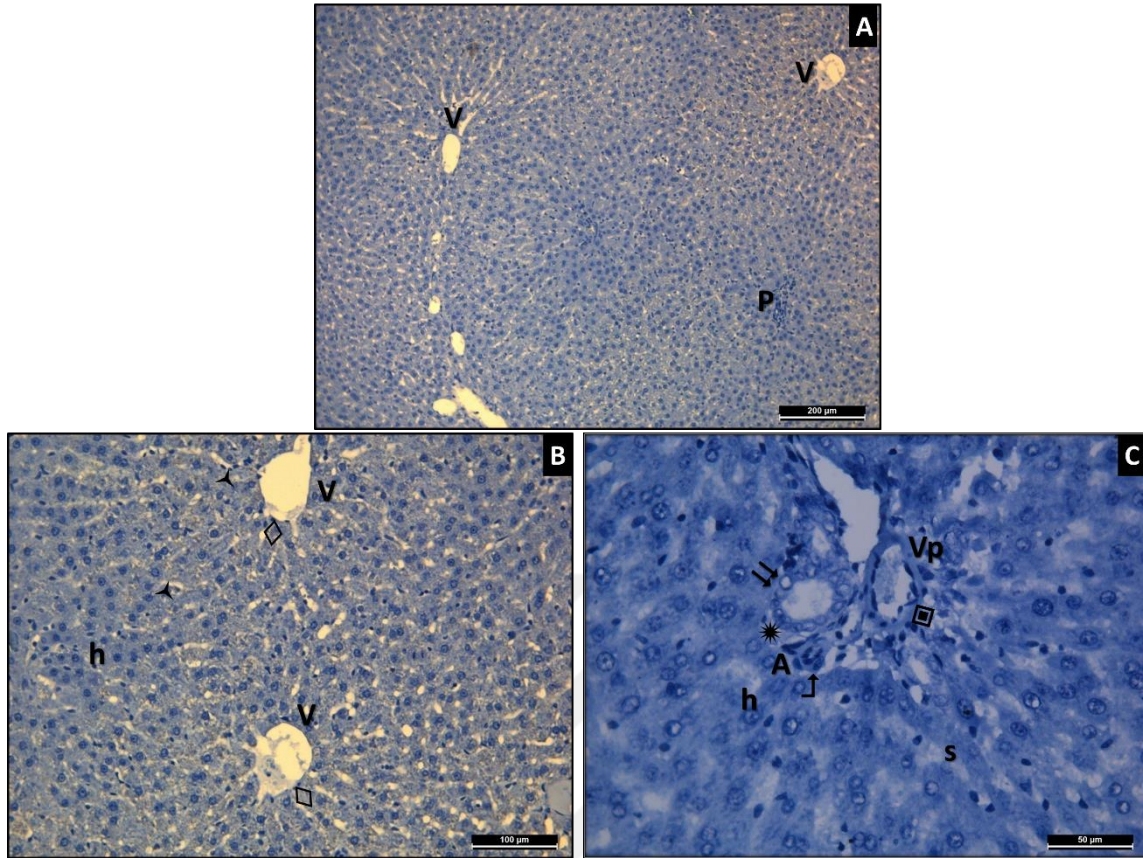
Resim 4.5. Arı sütü + Hipotiroidi grubu H.E boyaması. Klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşik bulunan v. centralis (V), v. centralisden (V) perifereşinsal olarak uzanan hepatosit kordonları (h) normal histolojik yapılarında gözleniyor (A-B). Hepatositler arasında yerleşim gösteren sinüzoidler normal yapılarında izleniyor. Poligonal şekilli hepatositlerde piknotik çekirdeklerin (↗), vakuolerdejenerasyonun ve nekrozun (Δ) azaldığı dikkat çekiyor (C). Portal üçgene (P) ait yapılardan v.portanın dallarına ait vende (Vp) dilatasyon görülüyor. A. Hepatica propria'nın dallarına ait arter (A) ve safra kanalları (⇨) normal histolojik yapılarında izleniyor (D). (Hematoksilen-Eozin x 100, x200, x400)



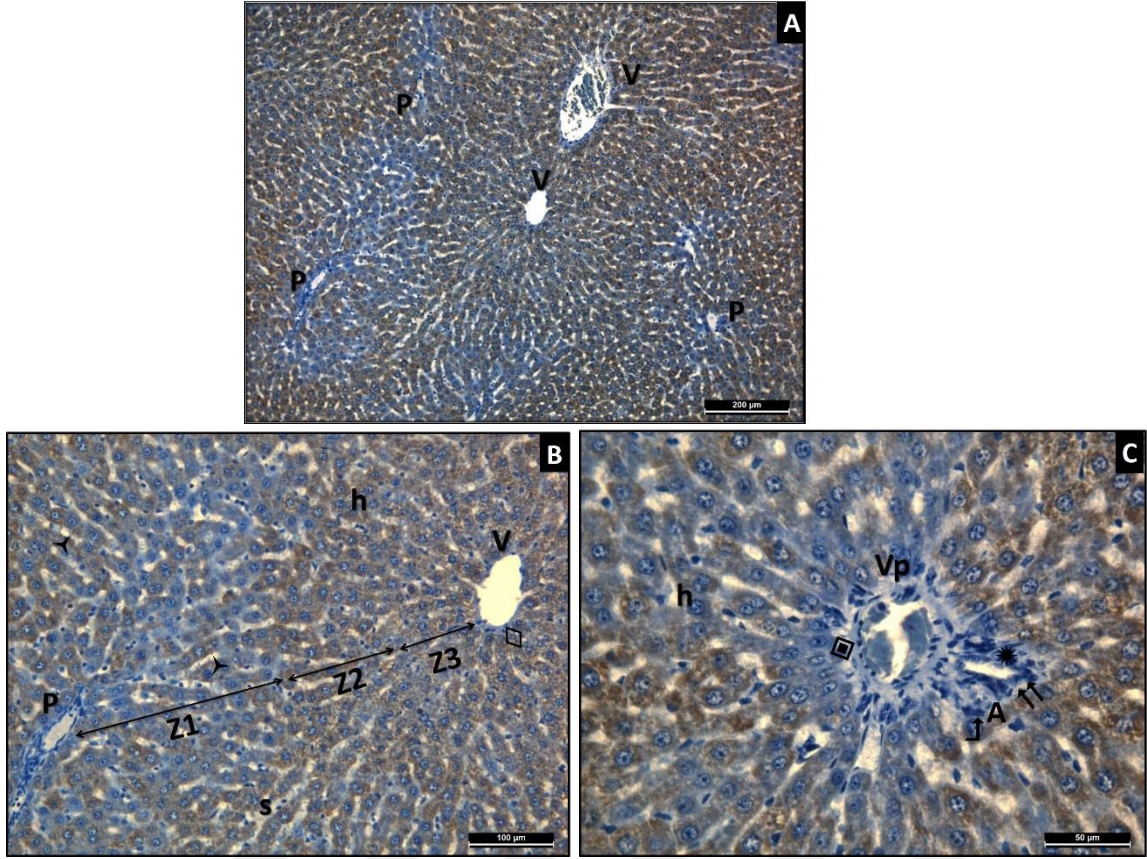
Resim 4.6. Kontrol grubu SOD1 immünohistokimya boyaması. Zayıf sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi gösteren v. centralis'i (V) çevreleyen endotel hücreleri (◊), sinüzoidler ve sinüzoid endotel hücreleri (A) ve hepatositler (h) izleniyor (A-B). Portal üçgene ait yapılardan, v. porta'nın dallarına ait veni (Vp) çevreleyen endotel hücrelerinde (◊), a. hepatica propria'nın dallarına ait arteri (A) çevreleyen endotel hücrelerinde (A) ve safra kanallarının epitelinde (*) SOD1 immün tutulumu zayıf izleniyor (C). (SOD1 primer antikoru, x100, x200, x400)



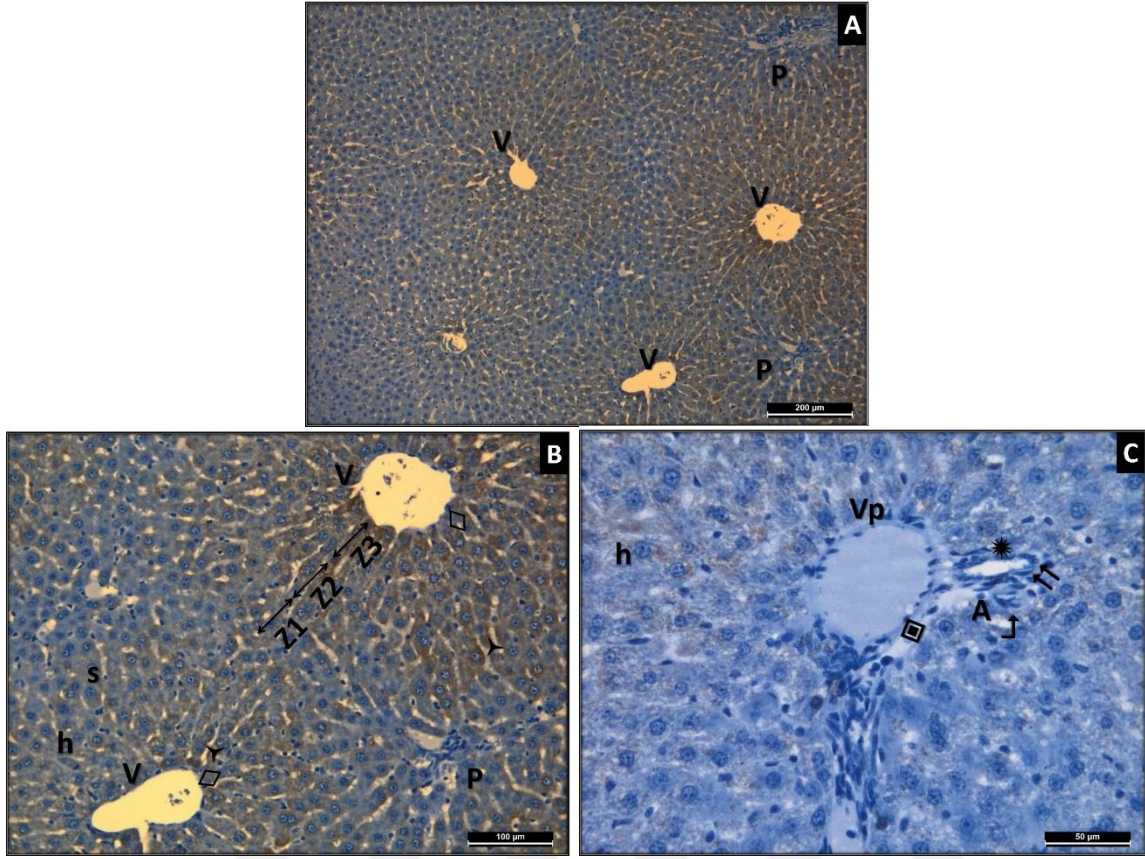
Resim 4.7. Sham grubu SOD1 immünohistokimya boyaması. Zayıf sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi gösteren v. centralis'i (V) çevreleyen endotel hücreleri (◊), sinüzoidler ve sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatositler (h) izleniyor (A-B). Portal üçgene ait yapılardan, v. porta'nın dallarına ait veni (Vp) çevreleyen endotel hücrelerinde (◊), a. hepatica propria'nın dallarına ait arteri (A) çevreleyen endotel hücrelerinde (◻) ve safra kanallarının epitelinde (*) SOD1 immün tutulumu zayıf izleniyor (C). (SOD1 primer antikor, x100, x 200, x400)



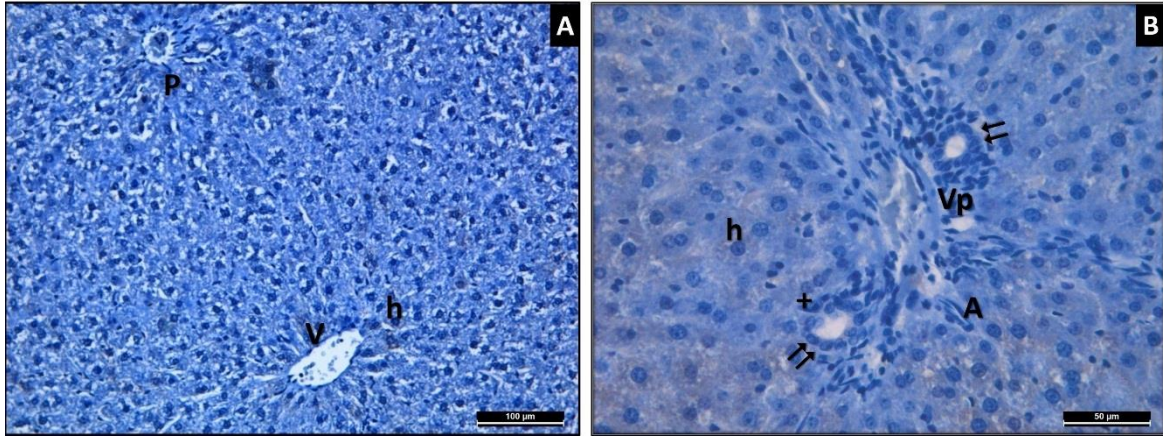
Resim 4.8. Arı sütü grubu SOD1 immünohistokimya boyaması. Zayıf sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi gösteren v. centralis'i (V) çevreleyen endotel hücreleri (◊), sinüzoidler ve sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatositler (h) izleniyor (A-B). Portal üçgene ait yapılardan, v. porta'nın dallarına ait veni (Vp) çevreleyen endotel hücrelerinde (◊), a. hepatica propria'nın dallarına ait arteri (A) çevreleyen endotel hücrelerinde (↯) ve safra kanallarının epitelinde (*) SOD1 immün tutulumu zayıf izleniyor (C). (SOD1 primer antikor, x100, x 200, x400)



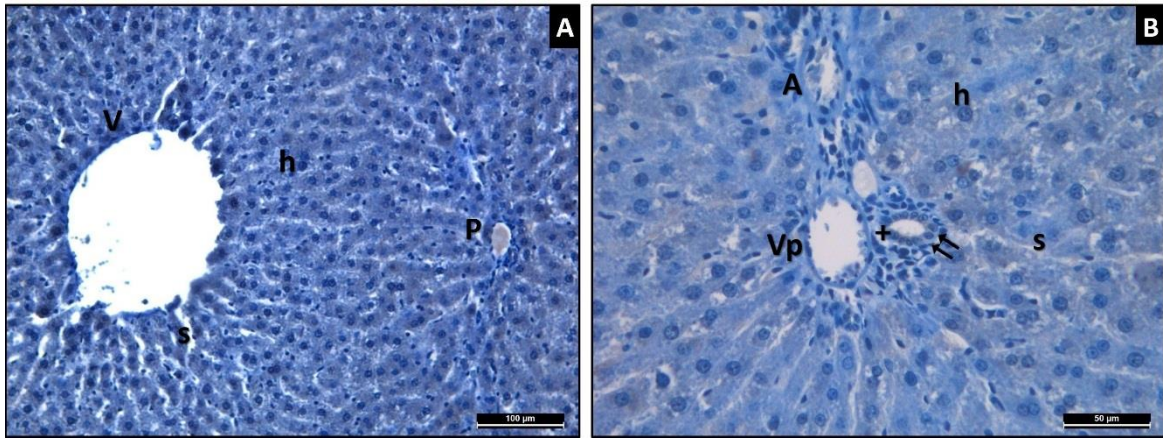
Resim 4.9. Hipotiroidi grubu SOD1 immünohistokimya boyaması. Zayıf sitoplazmik SOD1immünreaktivitesi gösteren v. centralis'in (V) endotel hücreleri (◊) ve kuvvetli sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi gösteren sinüzoid endotel hücreleri izleniyor (▲) (A). Karaciğer asinüsünde zon 1'deki (Z1) hepatositlerde kuvvetli sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi izlenirken, zon 2'de (Z2) hepatositlerde ortadan zayıfa değişen sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi ve zon 3'de (Z3) portal üçgene doğru zayıflayan sitoplazmik immünreaktivite görülüyor (B). Portal üçgene ait v. porta'nın dallarına ait venin (Vp) endotel hücrelerinde (◊), a. hepatica propria'nın dallarına ait arterin (A) endotel hücrelerinde (♣) ve safra kanallarının epitelinde (*) SOD1 immün tutulumu zayıf izleniyor (C).(SOD1 primer antikor, x100, x 200, x400)



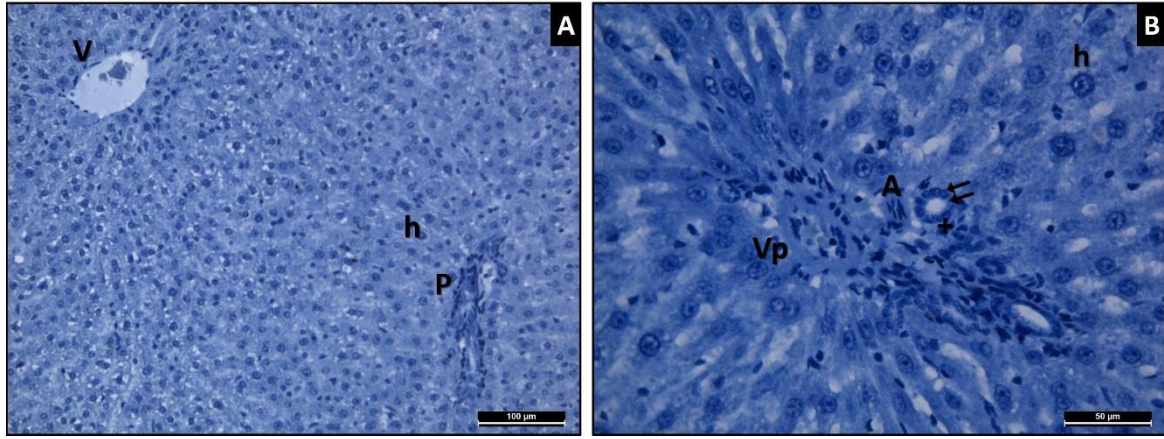
Resim 4.10. Arı sütü + Hipotiroidi grubu SOD1 immünohistokimya boyaması. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◊) ve sinüzoid endotel hücrelerinde SOD1 immünreaktivitesinde belirgin azalma izleniyor (▲). Karaciğer asinüsünde zon 1'deki (Z1) hepatosit sitoplazmalarında immünreaktivite ortadan kuvvetliye değişim gösterirken, zon 2'deki hepatositlerde immünreaktivitede belirgin bir değişim görülmemekte. Zon 3'teki (Z3) hepatositlerde portal alana doğru immünreaktivitede ortadan zayıfa doğru değişim izleniyor (A-B). Portal üçgende v.portanın dallarına ait venin (Vp) endotel hücrelerinde (◊), a. hepatica propria'nın dallarına ait arterin (A) endotel hücrelerinde (⌞) ve safra kanallarının (⇒) epitel hücrelerinin (*) sitoplazmalarında SOD1 immünreaktivitesi zayıf izleniyor (C). (SOD1 primer antikoru, x100, x 200, x400)



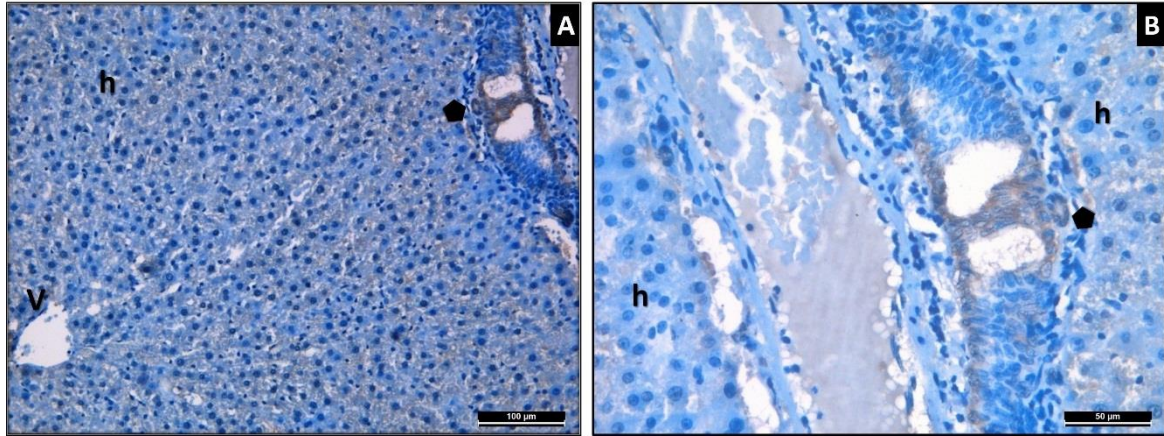
Resim 4.11. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◇), sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatosit (h) membranlarında son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi izleniyor (A). Portal üçgende v.portanın dallarına ait venin (Vp) endotel hücrelerinde (◇), a. hepatica propria'nın dallarına ait arterin (A) endotel hücrelerinde (♣) ve safra kanallarının (⇒)epitel hücrelerinin membranlarında (+) son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi dikkat çekiyor (B). (TROP2 primer antikoru, x 200, x400)



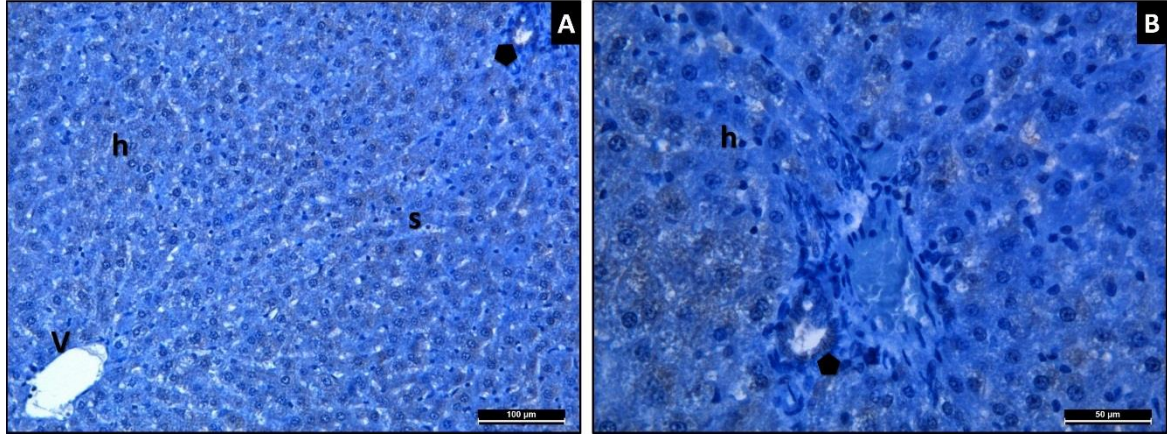
Resim 4.12. Sham grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◇), sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatosit (h) membranlarında son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi izleniyor (A). Portal üçgende v.portanın dallarına ait venin (Vp) endotel hücrelerinde (◇), a. hepatica propria'nın dallarına ait arterin (A) endotel hücrelerinde (♣) ve safra kanallarının (⇒)epitel hücrelerinin membranlarında (+) son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi dikkat çekiyor (B). (TROP2 primer antikoru, x 200, x400)



Resim 4.13. Arı sütü grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◇), sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatosit (h) membranlarında son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi izleniyor (A). Portal üçgende v.portanın dallarına ait venin (Vp) endotel hücrelerinde (◇), a. hepatica propria'nın dallarına ait arterin (A) endotel hücrelerinde (▽) ve safra kanallarının (⇒)epitel hücrelerinin membranlarında (+) son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi dikkat çekiyor (B). (TROP2 primer antikoru, x 200, x400)



Resim 4.14. Hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◇), sinüzoid endotel hücreleri (▲) ve hepatosit (h) membranlarında son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi izleniyor (A). Lobülün içinde, safra kanaliküllerinin yanında bulunan Hering kanallarında yerleşim gösteren, karaciğer kök hücreleri olan oval hücrelerin (●) membranlarında kuvvetli TROP2 immünreaktivitesi dikkat çekiyor (B). (TROP2 primer antikoru, x 200, x400)



Resim 4.15. Ari sütü + hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda TROP2 immünohistokimyasal boyama. V. centralis'in (V) endotel hücreleri (◇), sinüzoid endotel hücreleri(▲) ve hepatosit (h) membranlarında son derece zayıf TROP2 immünreaktivitesi izleniyor (A). Lobülün içinde, safra kanaliküllerinin yanında bulunan Hering kanallarında yerleşim gösteren, karaciğer kök hücreleri olan oval hücrelerin (◆) membranlarında zayıf TROP2 immünreaktivitesinde belirgin azalma dikkat çekiyor. (TROP2 primer antikoru, x 200, x400)

Çizelge 4.1. SOD1 immünreaktivitesinin tanımlayıcı verileri

Parametre	Grup no	Ortalama değer	Standart hata	Ortanca değer	Standart sapma	En düşük değer	En yüksek değer
BAĞ DOKUSU FİBROBLASTLARINDA SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,6967	0,14532	0,67	0,35596	0,17	1,17
	2	0,7783	0,1402	0,83	0,34342	0,17	1,17
	3	0,8617	0,19424	0,915	0,47579	0,17	1,5
	4	0,8883	0,08248	1	0,20203	0,5	1
	5	0,6117	0,14046	0,585	0,34406	0,17	1
SİNÜZOİD ENDOTELİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,555	0,1263	0,5	0,30937	0,17	1
	2	0,5567	0,11921	0,585	0,292	0,17	1
	3	0,5833	0,12701	0,585	0,31111	0,17	1
	4	3,085	0,03801	3,085	0,09311	3	3,17
	5	0,555	0,08294	0,585	0,20315	0,33	0,83
V.PORTA ENDOTELİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,61	0,08226	0,585	0,20149	0,33	0,83
	2	0,5283	0,06824	0,585	0,16714	0,33	0,67
	3	0,4433	0,10233	0,33	0,25065	0,17	0,83
	4	0,8067	0,14507	0,915	0,35534	0,17	1,17
	5	0,585	0,03801	0,585	0,09311	0,5	0,67
A. HEPATİCA ENDOTELİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,4433	0,03584	0,5	0,08779	0,33	0,5
	2	0,4983	0,0865	0,415	0,21189	0,33	0,83
	3	0,5567	0,05667	0,585	0,1388	0,33	0,67
	4	0,7783	0,11134	0,75	0,27272	0,5	1,17
	5	0,61	0,08226	0,585	0,20149	0,33	0,83
SAFRA KANALI EPİTELİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,3867	0,03584	0,33	0,08779	0,33	0,5
	2	0,555	0,07037	0,5	0,17237	0,33	0,83
	3	0,585	0,05807	0,67	0,14223	0,33	0,67
	4	0,61	0,08226	0,585	0,20149	0,33	0,83
	5	0,61	0,11843	0,75	0,2901	0,17	0,83
HEPATOSİTLERDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,8617	0,0663	0,915	0,16241	0,67	1
	2	0,8883	0,05534	0,915	0,13556	0,67	1
	3	1	0,06208	1	0,15205	0,83	1,17
	4	3,0283	0,15726	3,085	0,3852	2,5	3,5
	5	1,0867	0,08333	1,17	0,20412	0,67	1,17
KUPFFER HÜCRELERİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	1	0,6383	0,0663	0,585	0,16241	0,5	0,83
	2	0,5833	0,10391	0,585	0,25453	0,33	1
	3	0,585	0,03801	0,585	0,09311	0,5	0,67
	4	2,0833	0,12701	2,085	0,31111	1,67	2,5
	5	0,7783	0,08203	0,75	0,20094	0,5	1

Çizelge 4.2. Sinüzoid endotelinde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri

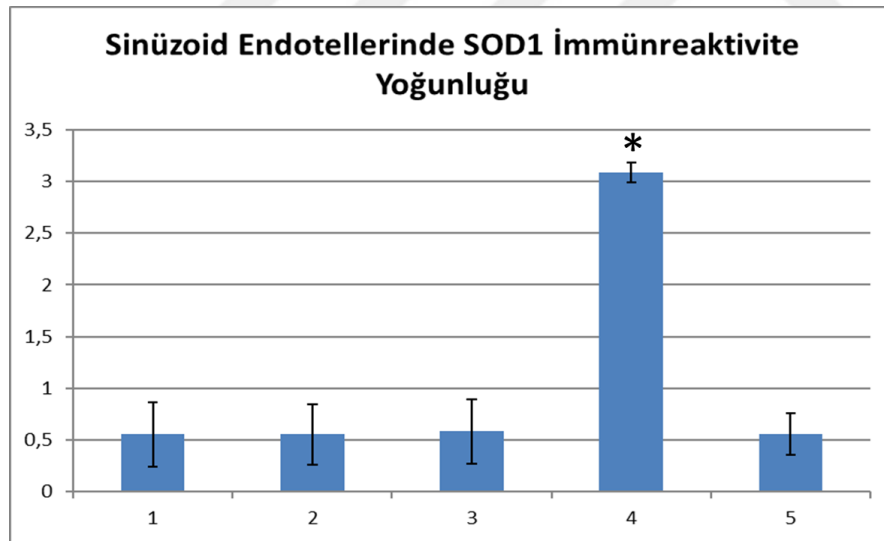
Parametre	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
SİNÜZOİD ENDOTELİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,007*	1	2	1
			3	1
			4	0*
			5	1
		2	1	1
			3	0*
			4	1
			5	1
		3	1	1
			2	1
			4	0*
			5	1
		4	1	0*
			2	0*
			3	0*
			5	0*
		5	1	1
			2	1
			3	1
			4	0*

Çizelge 4.3. Heptaositlerde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri

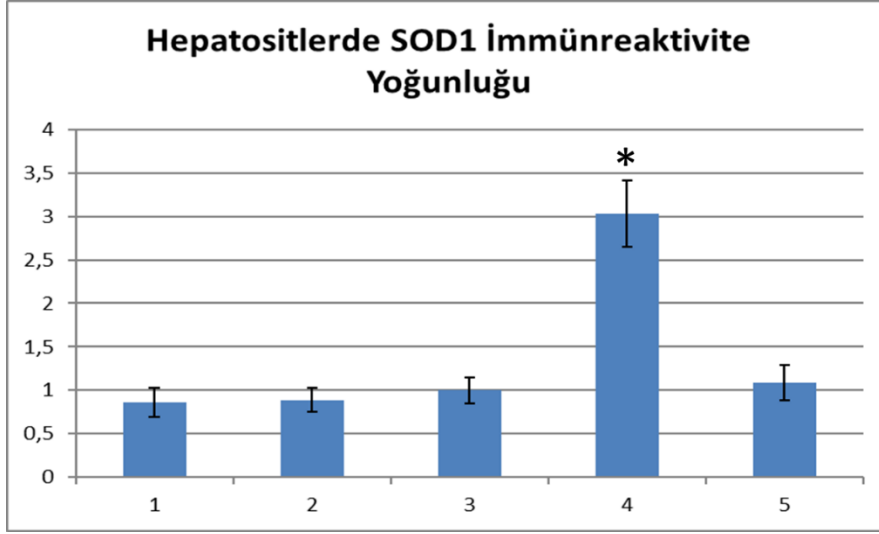
Parametre	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
HEPATOSİTLERDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,001*	1	2	1
			3	0,827
			4	0*
			5	0,443
		2	1	1
			3	0,912
			4	0*
			5	0,564
		3	1	0,827
			2	0,912
			4	0*
			5	0,963
		4	1	0*
			2	0*
			3	0*
			5	0*
		5	1	0,443
			2	0,564
			3	0,963
			4	0*

Çizelge 4.4. Kupffer hücrelerinde SOD1 immünreaktivitesinin karşılaştırmalı istatistiksel verileri

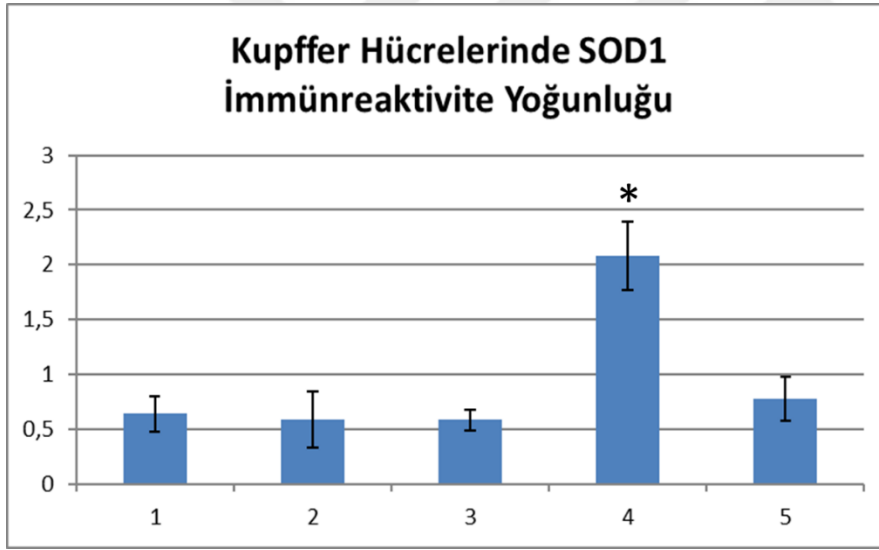
Parametre	P değerleri	Grup (1)	Grup (2)	P değeri
KUPFFER HÜCRELERİNDE SOD1 TUTULUMUNUN SKOR TABLOSU	0,002*	1	2	0,992
			3	0,993
			4	0*
			5	0,798
		2	1	0,992
			3	1
			4	0*
			5	0,541
		3	1	0,993
			2	1
			4	0*
			5	0,549
		4	1	0
			2	0
			3	0
			5	0
		5	1	0,798
			2	0,541
			3	0,549
			4	0



Şekil 4.1. SOD1 primer antikorunun sinüzoid endotellerindeki immünreaksiyon yoğunluğu. (1: Sham grubu, 2: Kontrol grubu, 3: Arı sütü grubu, 4: Hipotiroidi grubu, 5: Arı sütü + Hipotiroidi grubu, *P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık)



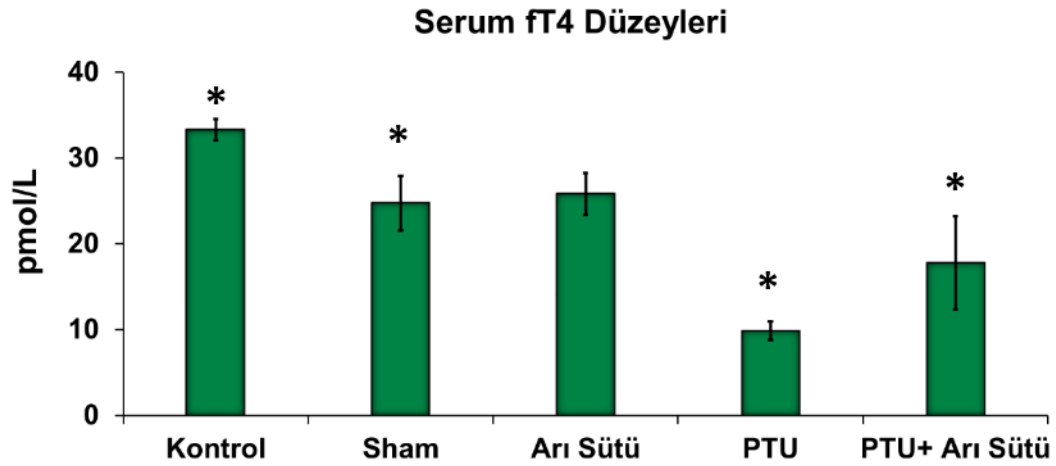
Şekil 4.2. SOD1 primer antikorunun hepatositlerde immünreaksiyon yoğunluğu. (1: Sham grubu, 2: Kontrol grubu, 3: Arı sütü grubu, 4: Hipotiroidi grubu, 5: Arı sütü + Hipotiroidi grubu, *P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık)



Şekil 4.3. SOD1 primer antikorunun Kupffer hücrelerinde immünreaksiyon yoğunluğu. (1: Sham grubu, 2: Kontrol grubu, 3: Arı sütü grubu, 4: Hipotiroidi grubu, 5: Arı sütü + Hipotiroidi grubu, *P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık)

4.2. ELISA Yöntemi Bulguları

Gruplar arasında sT4 değerleri arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak ortaya koymak için Kruskal Wallis testi uygulandı ve $p<0.05$ 'den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Mann-Whitney testi ile yapılan ileri analizlerde grupların ikili karşılaştırılması yapıldı. $p<0.05$ 'den küçük olan değerler anlamlı kabul edildi.



Şekil 0.1. Bütün deney gruplarındaki ortalama serbest sT3 düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verilmiştir. *P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Serum sT4 seviyelerinin hipotiroidi ve arı sütü + hipotiroidi grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi (Şekil 4. 4). Yapılan değerlendirmeler sonucunda PTU uygulanan gruplarda hipotiroidi modelinin oluşturulduğu kanısına varıldı.



5. TARTIŞMA

Batı dünyasında hipotiroidizmin insidansı 1000 kişi başına 0.6 ile 3,5 arasında değişmekte ve Avrupa’da kadınlar erkeklere göre hipotiroidizimden 1.7- 6.8 kat daha fazla etkilenmektedir [276, 277]. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda 6-8 haftalık dişi Wistar albino sıçanları kullandık.

Deneyssel olarak oluşturulan hipotiroidi modelinde ratlar kullanılmıştır. Literatürde tiroidektomi yöntemi, içme sularına PTU veya metimazol gibi antitiroidal ilaçların katılması veya bu ilaçların intraperitoneal enjeksiyon yoluyla verilerek deneyssel hipotiroidi modellerinin ratlarda oluşturulduğu bildirilmiştir [278-280]. Literatürdeki deney modelleri doğrultusunda çalışmamızda hipotiroidi grubu olarak belirlenen ratlara 30 gün boyunca gün boyunca 0.1 N NaOH içeren serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 10 mg/kg 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) intraperitoneal olarak uyguladık [281]. Deneylerimizin başlamasından sonra 29. gün sonunda 5 deney grubundaki her hayvandan kan örnekleri alınarak serum T₄, T₃ ve TSH değerleri ELISA yöntemi ile değerlendirildi. Hipotiroidi ve arı sütü + hipotiroidi gruplarında serum T₄ ve serum T₃ değerlerinde kontrol grubuna göre belirgin azalma olduğu tespit edildi. Bu sonuçlara göre verilen PTU’nun dozunun yeterli olduğu kanısına varılarak hipotiroidi modelinin oluşturulduğu belirlendi. 30 günlük deney süresi bitiminde ratlar yüksek doz anestezik altında feda edildi.

Metimazole ve tiroidektomi yöntemi ile Wistar albino ratlarda hipotiroidi modeli oluşturulan bir çalışmada dalak, kalp, karaciğer, akciğer ve böbrek dokularında meydana gelen hücresel hasar incelenmiştir. Tiroidektomi gruplarında karaciğer dokusuna ait hematoksilen-eozin ile boyanmış histolojik kesitler kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında hepatositlerin ışınal düzenlenişinin benzer olduğu izlenirken, metimazole ile hipotiroidi oluşturulan gruba ait karaciğer dokusunda kontrol grubundan farklı olarak hepatositlerin ışınal düzenlenişinde bozukluklar, piknotik çekirdekler, hiperkromatik hücreler ve çekirdek/sitoplazma oranında değişiklikler görülmüştür [280]. Biz de çalışmamızda benzer olarak hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokularının Hematoskilen-eozin boyamalarına ait değerlendirmelerde hepatosit kordonlarının ışınal düzenlenişinde belirgin bozukluklar ve hepatositlerde piknotik çekirdekler tespit ettik.

Ratlarda metimazole ile hipotiroidi modeli oluşturulan başka bir çalışmada ise hipotiroidiye bağlı olarak alkolsüz karaciğer yağlanması araştırılmış, yapılan histolojik değerlendirmelerde hipotiroidinin karaciğer dokusunda hafif yağlanma (steatozis) belirlenmiştir. Hematoksilen-eozin ile boyanan karaciğer dokusu kesitleri incelendiğinde hipotiroidizm oluşturulan ratların hepatositlerinde keskin kenarlı ve rastgele dağılım gösteren açık renkli mikroveziküler vakuoller gözlenmiştir. Bu vakuollerin Oil Red O boyaması ile yağ içeren vakuoller oldukları belirlenmiştir. Hepatosit kordonlarında düzensizlikler ve parankimada hafif dejenerasyon izlenmiştir. Hem kontrol hem de hipotiroidi gruplarında lenfositler ve makrofajlardan oluşan portal yerleşimli hafif mononükleer hücre infiltrasyonu belirlenmiştir [282]. Hipotiroidizm ve alkolsüz karaciğer yağlanması arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bu çalışmadaki bulgulara benzer olarak çalışmamızda hipotiroidi grubuna ait hematoksilen-eozin boyamalarında hepatosit sitoplazmalarında belirgin vakuoler dejenerasyon gözlemledik. Ancak bu çalışmadan farklı olarak hem kontrol hem de hipotiroidi gruplarında portal alan çevresinde lenfosit veya makrofajinfiltrasyonu bulgusuna rastlamadık.

Tavşanlarda metimazole ile oluşturulan hipotiroidi modelinde, karaciğer rejenerasyonuna eşlik eden hafif steatohepatit, mast hücre infiltrasyonu ve farnesoid x reseptörünün ifadesindeki değişikliklerin değerlendirildiği bir çalışmada ise hipotiroidinin karaciğerde yağlanma, fibrozis, mast hücre infiltrasyonuna yol açtığı ve daha fazla okside lipid oluşumunun gerçekleştiği ve glikojen miktarının azaldığı ifade edilmiştir. Kontrol grubunda hepatik venlerin etrafında kollajenin normal olarak bulunduğu ifade edilirken, hipotiroidi grubunda hepatositlerin çevresinde ve hatta karaciğer yüzeyinde kollajen miktarının arttığı ifade edilmiştir [283]. Ancak biz bu çalışmadan farklı olarak karaciğer dokusuna ait kesitlerde, kollajen miktarının hem doku genelinde hem de ven yapılarının etrafında artış gösterdiğine dair bir bulguya rastlamadık. Tiyoasetamit ile karaciğer fibrozisi oluşturulan bir çalışmada hipotiroidizmin karaciğer üzerindeki potansiyel terapötik etkileri araştırılmıştır. Tiyoasetamit uygulamasının kesilmesinden sekiz hafta sonra ötrioid kontrol grubuna kıyasla hem PTU hem de Metimazole ile hipotiroidi oluşturulan ratlarda, karaciğer fibrozisinin histolojik skorlamalarının anlamlı olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma bizim hipotiroidinin karaciğerdefibrozis meydana getirmediğiyle ilgili tespitimizi destekler niteliktedir.

Oksidatif stres, serbest radikallerin üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin serbest radikallerin artışı lehine değişiklik gösterdiği ortaya çıkan durum olarak tanımlanır [28]. Tiroid hormonları oksijenin mitokondriyal kullanımını teşvik eder ve bunun sonucunda serbest radikallerin üretimi artar. [29]. Bu nedenle yapılan pek çok araştırmada oksidatif stresin hipertiroidizm gibi hipermetabolik durumlar ile tutarlı bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir [30]. Öte yandan hipotiroidizm, tiroid hormonlarının eksikliği nedeniyle meydana gelen hipometabolik bir durumdur. Bu nedenle oksidatif stresin, oksijen kullanımının azalması nedeniyle hipotiroidizmde artış göstermemesi gerektiği düşünülebilir. Ancak hipotiroidizmde oksidatif stresin varlığını gösteren çalışmalar vardır. Bu çalışmalar hipotiroidizmde oksidatif stres belirteci olan MDA düzeyleri ve ateroskleroz için bilinen bir risk faktörü olan okside LDL'deki artışa işaret etmektedir.

PTU ile hipotirodi oluşturulan ratlarda serum paraoksonazındaki değişiklikler ve E vitamini takviyesinin hipotirodi üzerindeki etkilerini incelendiği bir çalışmada karaciğer, kalp ve iskelet kası MDA düzeyleri karşılaştırılmış, hipotirodi oluşturulan grupta MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin artış gösterdiği ve hipotirodinin oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir [284]. Farklı yaş gruplarında bulunan ratlarda karaciğer, kalp, beyin ve tiroid dokularında malondialdehid ve antioksidan enzim aktivitelerinin düzeylerinin incelendiği başka bir deneysel çalışmada, MDA düzeylerinin hem 30 günlük hem de 60 günlük ratların karaciğer dokularında artış gösterdiği belirtilmiş ancak katalaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir [285].

Hipotiroidili hastalarda yapılan çalışmada, bu hastaların LDL oksidasyonuna karşı daha savunmasız olduğu ve oksidatif stresin varlığı gösterilmiştir [286]. Obez hipotiroidili kadınlarda ise yapılan çalışmada ise MDA düzeylerinin artış gösterdiği bildirilmiştir [287]. Hipotiroidizmli ve hipertiroidizmli hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, endojen peroksidazlar ve okside LDL reseptörüne karşı gelişen antikorlar karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hipotiroidizmli hastalarda enzimatik antioksidanların daha yüksek düzeylerde olduğu ancak enzimatik olmayan antioksidanların ise daha düşük olduğu belirlenmiştir [288]. Hipertiroidi, hipotiroidi ve normal bireylerde yapılan bir vaka kontrol çalışmasında açlık durumunda katalaz, süperoksit dismutaz ve total antioksidan kapasitesi düzeyleri serumda ölçülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında total antioksidan kapasitenin hipertiroidili bireylerde

düşüş gösterdiği, hipotiroidi bireyler ile kıyaslandığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür. Katalaz ve süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hem hipotiroidi hem de hipertiroidi gruplarında belirgin olarak artış gösterdiği bildirilmiştir [289]. Çalışmamızda kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ile hipotiroidi grubuna ait SOD1 immünohistokimya boyamaları değerlendirildiğinde, hipotiroidi grubunda v. centralis'i çevreleyen endotel hücrelerinde, Kupffer hücrelerinde, hepatositlerde kuvvetli sitoplazmik SOD1 immünreaktivitesi gözlemledik. Bulgularımız, literatürde hipotiroidizmin oksidatif strese yol açtığını ve SOD1 gibi enzimatik antioksidanların düzeylerinde artışa neden olduğunu gösteren çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Arı sütü, genç işçi arıların hipofaringeal ve mandibular tükrük bezlerinde üretilen ve kraliçe arının gelişimi için salgılanan kremi bir üründür [214]. İçeriği protein (%12-15), şeker (%10-16), lipidler, vitamin, tuz, serbest amino asitler ve sudan (%60-70) oluşmaktadır [268]. Tıbbi amaçlar için ve besin takviyesi olarak günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Arı sütünün anti-mikrobiyal, anti-oksidan, anti-inflamatuvar vb. etkileri ile ilgili literatürde pek çok araştırma mevcuttur [244, 246, 252].

Literatürde farklı farmakolojik ajanlarla oluşturulan organ hasarı modellerinde arı sütünün koruyucu etkisine dair pek çok çalışma bulunmaktadır. Parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarı modelinde, arı sütünün hepatositlerdeki vakuoler dejenerasyonu ve nekrozu azalttığı bildirilmiştir [32]. CCl_4 ile ratlarda deneysel hasar oluşturulan bir çalışmada, CCl_4 uygulanan grupta karaciğer dokusunda inflamasyon, hepatositlerde belirgin nekroz ve aşırı kollajen birikimi, parankimada lipid birikimi, hidropik dejenerasyon ve lenfosit infiltrasyonu gibi ciddi patolojik hasarlar olduğu gözlemlenirken, 50 mg/kg arı sütü uygulanan grupta lezyonların hafiflediği, 100 mg/kg ve 200 mg/kg arı sütü uygulanan gruplarda nekrozun, kollajen birikiminin ve hidropik dejenerasyonun belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca kanda MDA ve GSH düzeylerinin, serumda ise seruloplazmin, sialik asit, askorbik asit, retinol ve β -karotenin ve karaciğer enzimlerinin düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır [33].

Cisplatin uygulamasının paraoksonaz-1 ve arilesteraz enzimlerindeki değişiklikler üzerinde arı sütünün koruyucu etkilerini değerlendirdirildiği bir çalışmada, Cisplatin uygulamasının bu enzimlerin aktivitesini önemli ölçüde azalttığı, serum ALT düzeylerinin

ise belirgin olarak arttığı tespit edilmiş ve bu biyokimyasal gözlemler histolojik bulgularla desteklenmiştir. Histolojik değerlendirmede kontrol ve arı sütü gruplarında karaciğer dokusu normal histolojik yapı göstermiş, Cisplatin uygulanan ve Cisplatinin yanı sıra arı sütü takviyesi yapılan gruplarda ise karaciğer dokusunda histolojik değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişiklikler sinüzoidal dilatasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, konjesyon, hepatoselüler dejenerasyon ve apoptoz ile karakterize edilmiştir. Cisplatin uygulamasının yanı sıra arı sütü takviyesinin verildiği grupta, santral ven etrafındaki hepatositlerin sitoplazmik hasarında ve sinüzoidlerdeki dilatasyonlarda sadece Cisplatin uygulanan grup ile kıyaslandığında önemli azalma izlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada, karaciğerde apoptotik immün-pozitif reaksiyonlar kaspaz-3 antikoru ile araştırılmış ve Kaspaz-3 immünoreaktif hücreler, Cisplatin uygulanan grupta lobüller boyunca ve v. centralis etrafında yoğun olarak gözlenirken, Cisplatin ve arı sütünün birlikte uygulandığı grupta, apoptotik hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir [290].

Karaciğer ve böbrek dokularında Cisplatin hasarı sonucunda oluşan oksidatif stres ve arı sütünün koruyucu etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise doku homojenatlarında MDA, GSH, GST, GSH-Px ve SOD düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Arı sütü uygulanan deney gruplarında MDA düzeylerinde azalma, GSH, GST, GSH-Px, ve SOD gibi antioksidan enzimlerin etkinliğinde artış tespit edilmiştir. Cisplatin uygulanan grupların karaciğer ve böbrek dokularında konjesyon, dilatasyon, epitelyal vakuolizasyon ve mononükleer hücrelerin infiltrasyonu içeren önemli histolojik değişiklikler meydana gelmiştir. Öte yandan arı sütü takviyesi yapılan gruplarda karaciğer ve böbrek dokularında meydana gelen bu dejeneratif değişikliklerin azaldığı izlenmiştir. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokularında apoptotik ve anti-apoptotik immünohistokimyasal reaksiyonlar kaspaz-3 ve Bcl-xL antikoru ile değerlendirilmiştir. Cisplatin uygulanan deney grubunun karaciğer dokusunda kaspaz-3 ve Bcl-xL immünoreaktif hücreler v. centralis etrafında izlenmiştir. Kaspaz-3 immünoreaktivitesinin arı sütü uygulanan gruplarda azaldığı izlenmiştir. Bcl-xL immünoreaktivitesinin ise arı sütü uygulanan gruplar ile kontrol grubu kıyaslandığında artış gösterdiği bildirilmiştir [34].

Cisplatin kaynaklı hepatotoksistide karaciğer fonksiyonları, oksidatif stres belirteci olan MDA, total antioksidan kapasitesi ve katalaz enzim aktivitesindeki değişikliklerin ve arı sütünün koruyucu etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise Cisplatin uygulanan

deney gruplarında karaciğer dokusunun histolojik olarak değerlendirilmiştir. Hepatositlerde atrofi, vakuoler dejenerasyon, nekroz ve şişme gösteren hepatositlerde çekirdeğin periferinde kümelenmiş kromatin izlenmiştir. Kontrole grubuna göre dejenera olmuş ikili çekirdekli hepatositler daha sık ratlanmıştır. V. centralis ve sinüzoidlerin dilatasyonuna bağlı olarak hepatosit kordonlarının düzenlenişinde bozulmalar ve parankimanın tamamında lökositik inflamatuvar hücreler gözlenmiştir. Arı sütü uygulanan grupta ise kontrol grubuna benzer olarak karaciğer dokusu normal histolojik yapısında izlenmiştir. Serum örneklerinin değerlendirilmesi sonucunda, Cisplatin grubu ile sadece arı sütü uygulanan gruplarda ALT, AST, MDA total antioksidan kapasitesi ve katalaz enzimi aktivitesi karşılaştırıldığında, arı sütü uygulaması yapılan grupta MDA, ALT, AST ve albüminde istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilirken total antioksidan kapasitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiş, katalaz enzimi aktivitesinde de belirgin bir artış tespit edilmiştir [291].

Fumonisin karaciğer ve böbrek dokularında oluşturduğu toksisiteye karşı arı sütünün koruyucu etkileri araştırılmıştır. Fumonisin tek başına uygulandığında ratlarda vücut kilo alımı veya azalmasını, GPX ve SOD düzeylerini azaltmış ancak MDA, ALT, AST, trigliseritler, kolesterol, HDL, LDL, kreatinin ve ürik asit düzeylerini arttırmıştır. Tek başına arı sütü verilen grupta ve fumonisin ile birlikte arı sütü uygulanan grupta GPX ve SOD'da önemli bir artışla birlikte MDA'da kontrol değerlerine göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Fumonisin'e etkin bırakılan deney gruplarının karaciğer ve böbrek dokularında ciddi histolojik ve histokimyasal değişiklikler gözlenmiştir. Fumonisin ile kontamine diyetle beslenen grupta hepatositlerin normal dağılımlarında bozulmalar, damarlarda konjesyon ve dilatasyon, safra kanalı proliferasyonu ve portal alan çevresinde inflamatuvar hücreler izlenmiştir. Hepatositlerin tipik poligonal şekillerini yitirdiği, vakuolizasyon ve hidropik dejenerasyon nedeniyle şişmiştiği gözlenmiştir. Fumonisin ile arı sütünün eş zamanlı olarak uygulandığı grupta ise karaciğer dokusunun, kontrol grubuna yakın histolojik yapıda olduğu belirlenmiştir [292]. Benzer olarak çalışmamızda deneysel hipotiroidi modeli oluşturduğumuz grupta karaciğer dokusunda SOD1 immünohistokimya boyamasına ait incelemelerde, klasik karaciğer lobülünün merkezinde yerleşik, dilatasyon gösteren vena centralis'leri çevreleyen endotel hücrelerinde, sinüzoid endotel hücrelerinde ve Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında kuvvetli immünreaktivite gözlemledik. Kontrol, sham ve arı sütü gruplarına ait karaciğer dokularında SOD1 immünohistokimya boyamaları karşılaştırıldığında bu hücrelerde immünreaktivitenin belirgin olarak artış

gösterdiği bulgusunu elde ettik. Dolayısıyla elde ettiğimiz immünohistokimyasal bulgular bu çalışma ile uyumlu olup hipotiroidinin tetiklediği oksidatif stres durumunda serumda SOD1 antioksidanının düzeylerindeki düşüş ile paralelik göstermektedir. Bu çalışmadaki biyokimyasal verilerle uyumlu olark arı sütü + hipotiroidi grubunda SOD1 immünohistokimyasal boyama sonucunda bu grupta SOD1'in sitoplazmik immünreaktivitesinde hipotiroidi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düşüş gösterdiğini belirledik.

Oksimetalon ile oksidatif karaciğer hasarı oluşturulan farelerde arı sütünün olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. Oksimetalon uygulanan deney grubunda total antioksidan kapasitesi, katalaz aktivitesinde, albumin ve total protein miktarında istatistiksel olarak anlamlı belirgin bir azalma, MDA düzeyinde ise artış görülmüştür. Ayrıca ALT, AST ve ALP gibi karaciğer enzimlerinin düzeylerinde de artış saptanmıştır. Arı sütü uygulaması ile total protein miktarı ve albumin düzeyinde oksimetalon grubuna göre artış izlenmiştir. Oksimetalon uygulanan deney grubunda karaciğer dokusunun histolojik değerlendirmesinde v. centralis etrafında bazı inflamatuvar odaklar bulunmuş ve v.centralis'de dilatasyon izlenmiştir. Oksimetalon ile birlikte arı sütü uygulanan gruba ait karaciğer dokusu kesitlerinin ise oksimetalonun neden olduğu hasarın etkilerinin belirgin olarak azaldığı izlenmiştir [293].

Streptozotosin ile indüklenen diyabet modelinin oluşturulduğu sıçanlarda karaciğer ve pankreasda oksidatif stres düzeyine arı sütünün etkilerinin değerlendirilmiştir. İnsülin, HDL-c, total protein, albumin, ALT, AST, ALP, MDA, demir azaltıcı antioksidan güç, katalaz ve açlık kan şekeri değerleri deney gruplarından alınan kan örneklerinin serumlarında incelenmiştir. Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda AST, ALT, ALP ve açlık kan şekeri değerlerinde belirgin bir artış izlenirken, insülin, HDL-c ve total protein düzeylerinde belirgin bir düşüş tespit edilmiştir. Arı sütü uygulanan gruba ait serum örnekleri değerlendirildiğinde arı sütünün demir azaltıcı antioksidan güç ve katalaz enzimi düzeylerinde belirgin bir düzelme sağladığı, karaciğer ve pankreas dokularında MDA düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir [294].

Tüm vücuda radyasyon uygulaması yapılan ratlarda arı sütünün akciğer ve karaciğer hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. Radyasyon alan grup kontrol grubu ile kıyaslandığında karaciğer ve akciğer dokularında MDA düzeylerinde istatistiksel olarak

anlamlı bir artış belirlenirken, karaciğer dokusunda AST, ALT, kolesterol, trigliserit değerlerinde de karaciğer dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Akciğer ve karaciğer dokularında katalaz, SOD ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesinde anlamlı bir düşme olduğu belirlenmiştir. Arı sütü uygulaması sonrasında, tek başına radyasyon alan gruba kıyasla karaciğer ve akciğer dokularında MDA konsantrasyonunda belirgin normalizasyon sağlamıştır. Benzer şekilde aynı grupta karaciğer ve akciğer dokularında SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde belirgin iyileşme tespit edilmiştir [295].

Karaciğerin en karakteristik özelliği, sahip olduğu yüksek rejeneratif kapasitedir. Kısmi hepatektomi modellerinde, parankimanın yaklaşık %70'i alındığında 1-2 hafta içerisinde olgun hepatositlerin hipertrofisi ve proliferasyonu ile gerçekleştirilirken bu süreçte karaciğerde bulunan kök/öncü hücrelerin katkıda bulunmadığı bilinmektedir [22, 23]. Hepatosit proliferasyonunun şiddetli veya kalıcı karaciğer hasarına bağlı olarak durduğu koşullarda insanlarda hepatik progenitör hücre, kemirgenlerde ise oval hücre adı verilen, hepatosit ve kolanjiyositlere farklanabilen yeni bir hücre topluluğu ortaya çıkmaktadır [24]. Oval hücreler kolanjiyositlere özgü olan CK-7, CK-8, CK-18, CK-19, OV-6 ve EpCAM belirteçlerini, hepatositlere özgü belirteçler olan albümin, HNF4 α ve AFP ifade eder [25, 26]. Bu belirteçlerin yanı sıra oval hücreleri, normal kolanjiyositlerden ayırt etmeyi sağlayan ve sadece karaciğer hasarı sırasında ifade edilen TROP2 oval hücrelerde yakın zamanda tanımlanmıştır [27].

Genetik olarak obez, etanol ve metionin-kolin eksik diyetle yağlı karaciğer modeli oluşturulan farelerde ve insanlarda alkolsüz karaciğer yağlanması ve alkolik karaciğer hastalığının incelenerek, oval hücrelerin yağlı karaciğerlerde artıp artmadığını ve bu cevaba neden olan mekanizmanın açığa çıkartılması amaçlanmıştır [296]. Değişen derecelerde, tüm fare modelleri, p21 gibi hücre döngüsü inhibitörlerinin bilinen bir indükleyicisi olan H₂O₂'nin aşırı hepatik mitokondriyal üretimini sergilemiştir. En fazla H₂O₂ üretimi gerçekleşen farelerde, olgun hepatosit çoğalmasının daha fazla inhibe edildiği buna bağlı olarak daha fazla sayıda oval hücre birikiminin gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmayı yapan araştırmacılar daha önce yayınladıkları makalelerinde p21 ifadesinin alkol ile beslenen farelerde ve obez farelerde kısmi hepatektomi sonrasında artış gösterdiği bildirmişler ve her iki fare modelinde de kısmi hepatektomi ile olgun hepatositlerde indüklenen DNA sentezinin engellendiğini

göstermişlerdir [297, 298]. Araştırmacılar genetik olarak obez, etanol ve metionin-kolin eksik diyetle yağlı karaciğer modeli oluşturulan farelerde ve insanlarda alkolsüz karaciğer yağlanması ve alkolik karaciğer hastalığının inceledikleri çalışmalarında reaktif oksijen türevlerinin olgun hepatositlerde replikatif durgunluğa neden olduğunu ve bunun sonucunda da oval hücre proliferasyonunun arttığını göstermişlerdir [296]. Biz de bu bilgiler ışığında hipotiroidi modeli oluşturduğumuz dişi sıçanlarda oksidatif stres sonucunda karaciğer dokusunda meydana gelen hasara cevap olarak oval hücre cevabını değerlendirmek amacıyla TROP 2 immünohistokimyasal boyama ile hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda oval hücrelerin varlığını gösterdik. Hipotiroidi grubunda oksidatif stresin oluşumunu SOD1 immünohistokimya boyaması ile değerlendirdik. Yaptığımız incelemelerde kontrol, sham ve arı sütü gruplarında klasik karaciğer lobüllerinde merkezi yerleşim gösteren vena centralisi çevreleyen endotel hücrelerinin, sinüzoid endotel hücrelerinin, Kupffer hücrelerinin ve hepatositlerin membranlarında son derece zayıf immünreaktive bulgularına rastladık. Ayrıca bu gruplarda, portal üçgene ait vena porta'nın dalı olan venlerin endotel hücrelerinin, arteria hepatica propria'nın dalı olan arterlerin endotel hücrelerinin, safra kanallarını oluşturan epitel hücrelerinin membranlarında TROP2 immünreaktivitesinin son derece zayıf olduğu tespit ettik. Ancak hipotiroidi grubuna ait karaciğer dokusunda lobül içinde, safra kanaliküllerinin yanında bulunan Hering kanallarında yerleşim gösteren, karaciğer kök hücreleri olan oval hücrelerin membranlarında kuvvetli TROP2 immünreaktivite bulgularına rastladık. Arı sütü + hipotiroidi grubunda ise benzer şekilde aynı alanda bulunan oval hücre membranlarında TROP2 immünreaktivitesine rastladık ancak bu gruba ait kesitlerde immünreaktivitenin hipotiroidi grubundaki kadar kuvvetli olmadığını gözlemledik. Arı sütü + hipotiroidi grubunda SOD1 immünohistokimya boyamalarında sinüzoidler, Kupffer hücreleri ve hepatosit sitoplazmlarında immünreaktivitenin kontrol, sham ve arı sütü grupları ile kıyaslandığında belirgin olarak azaldığını ve arı sütünün oksidatif strese karşı koruma sağlayarak karaciğer hasarını önlediği gözlemledik. Dolayısıyla oksidatif stresin azalmasına bağlı olarak arı sütü + hipotiroidi grubunda oval hücre membranlarında da TROP2 immün tutulumunun azalması normaldi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde sıklıkla karşımıza çıkan, yaygın bir endokrin hastalık olan hipotiroidi; tedavi edilmediği takdirde kardiyovasküler sistemden ürogenital sisteme, sindirim sisteminden sinir sistemine kadar pek çok organ ve işleyişi üzerinde önemli değişimlere yol açabilmektedir. Benzer şekilde; karaciğer ve tiroid bezinin fizyolojik işlevleri birbirini tamamlayıcı özellikte olup, bu organlardan herhangi birinde meydana gelebilecek işlevsel bir bozukluk önemli sonuçlar doğurabilmektedir. Hipotiroidinin oksidatif stres ile ilgili ilişkisi hakkında tartışmalar olsa da, pek çok araştırma bu ilişkiyi ve altında yatan mekanizmaları daha fazla gündeme getirmekte ve dolayısı ile hipotiroidinin sebep olduğu oksidatif stres, organ ve sistemlerdeki değişimlerin ortaya çıkmasındaki temel mekanizmalardan birisi olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, hipotiroidi koşullarında dokuları olası oksidatif hasardan korumak adına farklı antioksidanların kullanılması gün geçtikçe daha fazla önem arz etmektedir.

Oluşturulan hipotiroidi modelinin karaciğer üzerindeki olası etkilerini ve anti-mikrobiyal, anti-oksidan, anti-inflamatuar, yara iyileştirici, bağışıklığı düzenleyici, anti-hiperlipidemik, anti-hipertansifanti-tümoral, nörotropik ve insülin benzeri etkileri sebebi ile önemli bir antioksidan kaynağı olan arı sütünün bu etkiler üzerindeki olası koruyucu özelliklerini incelediğimiz bu çalışmamızda; hipotiroidinin karaciğer dokusu üzerinde önemli dejeneratif değişimlere yol açtığını yaptığımız histokimyasal incelemeler ile tespit ettik. Bu dejenerasyonun, Hering Kanalındaki karaciğer kök hücreleri olan oval hücreler üzerinde rejenerasyonu tetikleyici etki gösterdiğini TROP2 immünohistokimya boyaması ile, tüm bu değişimlerin altında yatan mekanizmalardan birinin de hipotiroidi ile ortaya çıkan oksidatif stres olduğunu ise SOD1 immünohistokimya boyaması ile belirledik. Kuvvetli antioksidan özelliği dolayısı ile kullandığımız arı sütünün, dokuda olaylanan hasara karşı koruyucu etki gösterdiğini ise yine bu boyamalar üzerinden gözlemledik.

Sonuç olarak; literatür bilgileri ışığında, farklı deney modelleri üzerinden karaciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkilerini bildiğimiz, ancak hipotiroidinin neden olduğu hasar üzerindeki etkileri konusunda başka bir çalışmaya rastlamadığımız, bu nedenle bu literatür açığını doldurmayı amaçlayarak uyguladığımız arı sütünün, hipotiroidinin yol açtığı oksidatif strese karşı enzimatik antioksidan sistemleri üzerinden etki ederek, karaciğer dokusunu koruduğu kanısına vardık. Karaciğerde olaylanan oksidatif stresin kök hücre

yanıtı üzerindeki mekanizmaların aydınlatılmasında, çalışmamızın önemli bir veri birikimi sağladığını düşünerek; yaptığımız bu çalışmanın, ileride yapılacak çalışmalara bilgi ve kaynak sağlayacağı kanısındayız.



KAYNAKLAR

1. Boelaert, K., Franklyn, J. A. (2005). Thyroid hormone in health and disease. *The Journal of Endocrinology*, 187(1), 1-15.
2. Yen, P. M. (2001). Physiology and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiological Reviews*, 81(3), 1097-1126.
3. Oppenheimer, J. H., Schwartz, H. L., Mariash, C. N., Kinlaw, W. B., Wong, N. C. W., and Freaque, H. C. (1987). Advances in our understanding of thyroid hormone action at the cellular level. *Endocrine Reviews*, 8(3), 288-308.
4. Weintraub, B. D. (Editör). (1995). *Molecular Endocrinology: Basic Concepts and Clinical Correlations* (First edition). New York: Raven Press, 249-268.
5. Arora, S., Chawla, R., Tayal, D., Gupta, V. K., Sohi, J. S. (2009). Biochemical markers of liver and kidney function are influenced by thyroid function a case controlled follow up study in Indian hypothyroid subjects. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24(4), 370-374.
6. Glioner D., (1976). Thyroxine-binding globulin biosynthesis in isolated monkey hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis*, 418 (2), 232-244.
7. Malik, R., Hodgson, H. (2002). The relationship between the thyroid gland and the liver. *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians*, 95(9), 559-569.
8. Chopra, I. J., Solomon, D. H., Chopra, U., Young, R. T., Chuateco, G. N. (1974). Alterations in circulating thyroid hormones in hepatic cirrosis; evidence for euthyroidism despite subnormal serum triiodothyronine. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 39(3), 501-511.
9. Nomura, S., Pittman, C. S., Chambers, J. B., Buck, M. W., Shimizu, T. (1975). Reduced peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine in patients with hepatic cirrhosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 56(3), 643-652.
10. Green, J. R. B., Snitcher, E. J., Mowat, N. A., Ekins, R. P., Rees, L. H., and Dawson, A. M. (1977). Thyroid function and thyroid regulation in euthyroid men with chronic liver disease: Evidence of multiple abnormalities. *Clinical Endocrinology*, 7(6), 453-461.
11. Walfish, P. G., Orrego, H., Israel, Y., Blake, J., Kalant, H., (1979). Serum triiodothyronine and other clinical and laboratory indices of alcoholic liver disease. *Annals of Internal Medicine*, 91(1), 13-16.
12. Huang, M., Liaw, Y. F. (1995). Clinical associations between thyroid and liver diseases. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 10(3), 344-350.
13. Franklyn, J. A. (2009). Hypothyroidism. *Medicine*, 37(8), 426-429.

14. Hueston, W. J. (2001). Treatment of hypothyroidism. *American Family Physician*, 64(10), 1717-1724.
15. Laycock, M. A., Pascuzzi, R. M. (1991). The neuromuscular effects of hypothyroidism. *Seminars in Neurology*, 11(3), 288-294.
16. Thode, N., Piger, P., and Joners, M. P. (2000). Primary hypothyroidism masquerading as hepatic encephalopathy: case report and review of the literature. *Postgraduate Medical Journal*, 76 (897), 424-426.
17. Klein, I., Lively, G. S. (1984). Unusual manifestations of hypothyroidism. *Archives of Internal Medicine*, 144 (1), 123-128.
18. Daher, R., Yazbeck, T., Jaoude, J. B., and Abboud, B. (2009). Consequences of dysthyroidism on the digestive tract and viscera. *World of Gastroenterology*, 15(23), 2834-2838.
19. Duntas L. H., (2002). Thyroid disease and lipids, *Thyroid: Official Journal of The American Thyroid Association*, 12 (4), 287–293.
20. Cappola, A. R., Ladenson, P. W. (2003). Hypothyroidism and atherosclerosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(6), 2438–2444.
21. Youssef, W. I., Mullen, K. D. (2002). The liver in other (nondiabetic) endocrine disorders. *Clinics in Liver Disease*, 6 (4), 879-889.
22. Higgins, G. M., Anderson, R. M. (1931). Experimental pathology of liver: restoration of liver of the white rat following partial surgical removal. *Archives of Pathology*, 12,186–202.
23. Farber, E., (1956). Similarities of the sequence of the early histological changes induced in the liver of the rat by 2-acetylaminofluorine, and 3-methyl-4-dimethylaminoazo-benzene. *Cancer Research*, 16 (2), 142-148.
24. Fausto, N., (2004). Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology*, 39 (6), 1477-1487.
25. Kaur, S., Siddiqui, H., and Bhat, M. H. (2015). Hepatic progenitor cells in action. Liver Regeneration or Fibrosis?. *The American Journal of Pathology*, 185(9), 2342-2350.
26. Michalopoulos, G. K., Khan, Z. (2015). Liver stem cells: experimental findings and implications for human liver disease. *Gastroenterology*, 149 (4), 876–882.
27. Okabe, M., Tsukahara, Y., Tanaka, M., Suzuki, K., Saito, S., and Kamiya, Y. (2009). Potential hepatic stem cells reside in EpCAM+ cells of normal and injured mouse liver. *Development*, 136, (11), 1951-1960.
28. Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 344 (8924), 721-724.
29. Yen, P. M. (2001). Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action. *Physiological Reviews*, 81(3), 1097-1142.

30. Bianchi, G., Solaroli, E., Zaccheroni, V., Grossi, G., Bargossi, A. M., and Melchionda, N. (1999). Oxidative stress and antioxidant metabolites in patients with hyperthyroidism: Effect of treatment. *Hormone and Metabolic Research*, 31(11), 620-624.
31. Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9 (4), 1-9.
32. Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B. C., ve Altinordulu, S. (2009). The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61 (2), 123-132.
33. Cemek, M., Aymelek, F., Büyükokuroğlu, M. E, Karaca, T., Büyükben, A., ve Yilmaz, F. (2010). Protective potential of royal jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (10), 2827-2832.
34. Karadeniz, A. Şimsek, N., Karakus, E., Yıldırım, S., Kara, A., ve Can, I. (2011). Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 1-10.
35. Calmont, A., Wandzioch, E., Tremblay, K. D., Minowada, G., Kaestner, K. H., and Martin (2006). An FGF response pathway that mediates hepatic gene induction in embryonic endoderm cells. *Developmental Cell*, 11(3), 339–348.
36. Bort, R., Signore M., Tremblay, K., Barbera, J. P., Zaret, K.S. (2006). Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Developmental Biology*, 290 (1), 44–56.
37. Houssaint, E., (1980). Differentiation of the mouse hepatic primordium. I. An analysis of tissue interactions in hepatocyte differentiation. *Cell Differentiation*, 9(5), 269–279.
38. Le Douarin, N. M., (1975). An experimental analysis of liver development. *Medical Biology*, 53 (6), 427–455.
39. Shiojiri, N., Sugiyama, Y. (2004). Immunolocalization of extracellular matrix components and integrins during mouse liver development. *Hepatology*, 40 (2), 346–355.
40. Medlock, E. S., Haar, J. L. (1983). The liver hemopoietic environment: I. Developing hepatocytes and their role in fetal hemopoiesis. *The Anatomical Record*, 207(1), 31–41.
41. Keng, V. M., Yagi, H., and Ikawa, M. (2000). Homeobox gene Hex is essential for onset of mouse embryonic liver development and differentiation of the monocyte lineage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276 (3), 1155–1161.

42. Zhao, R., Watt, A. J., Li, J., Luebke-Wheeler, E., Morrissey, E. E., and Duncan, S. A. (2005). GATA6 is essential for embryonic development of the liver but dispensable for early heart formation. *Molecular and Cellular Biology*, 25(7), 2622–2631.
43. Margagliotti, S., Clotman, F., and Pierreux, C. E. (2007). The Onecut transcription factors HNF-6/OC-1 and OC-2 regulate early liver expansion by controlling hepatoblast migration. *Developmental Biology*, 311(2), 579–589.
44. Lüdtke, T. H., Christoffels, V. M., Petry, M., and Kispert, A. (2009). Tbx3 promotes liver bud expansion during Mouse development by suppression of cholangiocyte differentiation. *Hepatology*, 49(3), 969–978.
45. Sosa-Pineda, B., Wigle, J. T., and Oliver, G. (2000). Hepatocyte migration during liver development requires Prox1. *Nature Genetics*, 25(3), 254–255.
46. Golub, R., Cumano, A. (2013). Embryonic hematopoiesis. *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 51(4), 226–231.
47. Migliaccio, G., Migliaccio, A. R., Petti, S., Mavilio, F., Russo, G., and Lazzaro, D. (1986). Human embryonic hemopoiesis. Kinetics of progenitors and precursors underlying the yolk sac–liver transition. *The Journal of Clinical Investigation*, 78 (1), 51–60.
48. Kamiya, A., Kinoshita, T., Ito, Y., Matsui, T., Morikawa, Y., and Senba, E. (1999). Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer. *The EMBO Journal*, 18 (8), 2127–2136.
49. Schmidt, C., Bladt, F., and Goedecke S. (1995). Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. *Nature*, 373 (6516), 699–702.
50. Tanimizu, N., Miyajima, A. (2007). Molecular mechanism of liver development and regeneration. *International Review of Cytology*, 259, 1–48.
51. Weinstein M., Monga, S. P. S., and Liu, Y. (2001). Smad proteins and hepatocyte growth factor control parallel regulatory pathways that converge on β 1-integrin to promote normal liver development. *Molecular and Cellular Biology*, 21(15), 5122–5131.
52. Zhao, R., Duncan, S. A. (2005). Embryonic development of the liver. *Hepatology*, 41(5), 956–967.
53. Jung, J., Zheng, M., Goldfarb, M., and Zaret, K. S. (1999). Initiation of mammalian liver development from endoderm by fibroblast growth factors. *Science*, 284 (5422), 1998–2003.
54. Germain, L., Blouin, M. J., and Marceau, N. (1988). Biliary epithelial and hepatocytic cell lineage relationships in embryonic rat liver as determined by the differential expression of cytokeratins, α -fetoprotein, albumin, and cell surface-exposed components. *Cancer Research*, 48 (17), 4909–4918.

55. Van Eyken, P., Sciote, R., Callea, F., Van der Steen, K., Moerman, P., and Desmet, V. J. (1988). The development of the intrahepatic bile ducts in man: a keratin-immunohistochemical study. *Hepatology*, 8(6), 1586–1595.
56. Antoniou, A., Raynaud, P., Cordi, S., Zong, Y., Tronche, F., and Stanger, B. (2009). Intrahepatic bile ducts develop according to a new mode of tubulogenesis regulated by the transcription factor SOX9. *Gastroenterology*, 136 (7), 2325–2333.
57. Raynaud, P., Carpentier, R., Antoniou, A., and Lemaigre, F. P. (2011). Biliary differentiation and bile duct morphogenesis in development and disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 43 (2), 245–256.
58. Baer, M. M., Chanut-Delalande, H., and Affolter, M. (2009). Cellular and molecular mechanisms underlying the formation of biological tubes. *Current Topics in Developmental Biology*, 89, 137–162.
59. Lubarsky, B., Krasnow, M. A. (2003). Tube morphogenesis: making and shaping biological tubes. *Cell*, 112 (1), 19–28.
60. Terada, T., Nakanuma, Y. (1995). Detection of apoptosis and expression of apoptosis-related proteins during human intrahepatic bile duct development. *The American Journal of Pathology*, 146 (1), 67–74.
61. Strazzabosco, M., Fabris, L. (2012) Development of the Bile Ducts: Essentials for the Clinical Hepatologist. *Journal of Hepatology*, 56 (5), 1159-1170.
62. Lemaigre, F. P. (2010). Molecular Mechanisms of Biliary Development. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 97, 103-126.
63. Frachon, S. C., Scoazec, J. Y. (2008). Vascular Development and Differentiation During Human Liver Organogenesis. *The Anatomical Record*, 291 (6), 614-627.
64. Enzan, H., Himeno, H., Hiroi, M., Kiyoku, H., Saibara, T., and Onishi, S. (1997). Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microscopy Research and Technique* 39 (4), 336–349.
65. Pérez-Pomares, J.M., Carmona, R., Gonzalez-Iriarte, M., Macias, D., Guadix, J.A., and Munoz-Chapuli, R. (2004). Contribution of mesothelium-derived cells to liver sinusoids in avian embryos. *Developmental Dynamics*. 229 (3), 465–474.
66. Loo, C.K., Wu, X. J. (2008). Origin of stellate cells from submesothelial cells in a developing human liver. *Liver International*, 28 (10), 1437–1445.
67. Asahina, K., Tsai, S.Y., Li, P., Ishii, M., Maxson, R. E.J., Jr., and Sucov, H.M. (2009). Mesenchymal origin of hepatic stellate cells, submesothelial cells, and perivascular mesenchymal cells during mouse liver development. *Hepatology* 49 (3), 998–1011.
68. Naito, M., Hasegawa, G., Ebe, Y., and Yamamoto, T. (2004). Differentiation and function of Kupffer cells. *Medical Electron Microscopy*, 37 (1), 16-28.
69. Si-Tayeb, K., Lemaigre, F. P., and Duncan, S. A. (2010). Organogenesis and Development of the Liver. *Developmental Cell*, 18(2), 175-189.

70. Gouysse, G., Couvelard, A., Frachon, S., Bouvier, R., Nejari, M., and Dauge, M.C. (2002). Relationship between vascular development and vascular differentiation during liver organogenesis in humans. *Journal of Hepatology*, 37 (6), 730–740.
71. Aktümsek, R. (2012). *Anatomi ve Fizyoloji: İnsan Biyolojisi*. Ankara: Nobel Yayınevi, 315-318.
72. Ergun, M., Hayran, M. (2014). *Anatomi*. Ankara: Medikal Network Nobel Tıp Kitapevi, 425-433.
73. Standring, S. (Editör). (2008). *Gray's anatomy the anatomical basis of clinical practice*. (Fortieth edition). Edinburg: Churchill Livingstone/ Elsevier, 1160-1173.
74. Moore, K. L., Dalley, A. F. (2007). *Kliniğe Yönelik Anatomi*, (çev. Prof. Dr. Kayıhan Şahinoğlu) Nobel Tıp Kitapevi (Eserin orijinali 1980'de yayımlandı), 263- 272.
75. Gövsa, F.G. (2008). *Sistematik Anatomi*, İzmir: Güven Kitabevi, 506-514.
76. Arıncı K, Elhan, A. (2005), *Anatomi, 1. Cilt*, Ankara: Güneş Kitabevi, 265-273.
77. Drake, R. L., Vogl, A. W., and Mitchell, A. W. M. (2007). *Gray's Anatomi Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Anatomi (Gray's Anatomy for students)*. (Çev. M. Yıldırım). İstanbul: Güneş Kitabevi. (Eserin orijinali 2005'de yayımlandı), 285-287.
78. Dancygier, H. (2010). *Clinical Hepatology, Principles and Practice of Hepatobiliary Diseases, Volume 1*(1st Edition), New York : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 11-14.
79. Arey, L. B. (1966). *Developmental Anatomy. 6th Edition*. Tokyo, Japan: W. B. Saunders, 279–80.
80. Snell, R. S. (1998). *Tıp Fakültesi Öğrencileri için Klinik Anatomi*. (Çev. M. Yıldırım). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 1973'de yayımlandı). 229.
81. Ibukuro, K., Fukuda, H., Tobe, K. A., and Takeguchi, T. (2016). The vascular anatomy of the ligaments of the liver: gross anatomy, imaging and clinical applications. *The British Journal of Radiology*, 89 (1064), 1-13.
82. Abdel-Misih, S. R. Z., Bloomston, M. (2010). Liver Anatomy. *The Surgical Clinicals of North America*, 90(4), 643-653.
83. Chung, K. W., Chung, H. M. (2012). *BRS: Gross Anatomy*. (Seventh edition). United States: Lippincott Williams & Wilkins, 200-203.
84. Hollinshead, W. H. (1971). *Anatomy for surgeons: volume 2 the thorax, abdomen, and pelvis*. New York: Harper and Row, 334–336.
85. Robinson, A. (1914). *Cunningham's Text Book of Anatomy*. (Fourth edition). New York: William Wood and Company, 1187-1201.
86. Sibulesky, L. (2013). Normal liver anatomy. *Clinical Liver Disease*, 2(51), S1-S3.

87. Ozan, H. (2014). *Ozan Anatomi klinik, ikroskobik, fonksiyonel, gelişimsel* (Üçüncü Baskı). Ankara: Klinisyen Tıp Kitapevleri, 239-241.
88. Mahadevan, V. (Baskıda). Anatomy of the liver. *Surgery*, 1-5.
89. Yıldırım, M. (1997). *Resimli Sistemik Anatomi* (1. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 514-518.
90. Blumgart, L. H., Belghiti, J. (2007). *Surgery of the liver, biliary tract, and pancreas* (3rd Edition). Philadelphia: Saunders Elsevier, 3-30.
91. Arıncı, K., Elhan, A. (2006). *Anatomi, 2. Cilt*, Ankara: Güneş Kitabevi, 54-7.
92. Çiçekçi, A. E., Ünver Doğan, N., Fazlıoğulları, Z., Ögüç Şanlı, Ö., Büyükmumcu, M., ve Salbacak, A. A. (2011). Arteria mesenterica superior'dan orijin alan arteria hepatica dextra. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18 (1): 21-24.
93. Polgaj, M., Gabryniak, T., and Topol, M. (2010). The right accessory hepatic artery; a case report and review of the literature. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 32 (2), 175-179.
94. Panagoulis, E., Venieratos, D. (2011). Right accessory hepatic artery arising from the left gastric artery: a case report. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 52 (3): 1143-1145.
95. Dere, F. (1994). *Anatomi Ders Kitabı*, (Üçüncü Baskı). Adana: Okullar Pazarı Kitabevi, 633-639.
96. Yong, T. L., Houli, N., and Christophi, C. (2016). Anatomy of hepatic lymphatics and its implications in hepatic malignancies. *Anz Journal of Surgery*, 86 (11), 868-873.
97. Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji*. (Çev. S.Solakoğlu ve Y.Aytemir, Y.) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri (Eserin orijinali 2003'de yayımlandı). 332-344.
98. Ross, M. H., Pawlina, W. (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas* (Çev. Doç. Dr. Barış Baykal). Ankara: Palme Yayıncılık. (Eserin orijinali 2002'de yayımlandı). 628-643.
99. Eşrefoğlu, M. (2016). *Özel Histoloji*, (2. Baskı). Ankara: İstanbul Tıp Kitabevi, 147-164.
100. Navarro, A., Boveris, A. (2004). Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287 (5), 1244-1249.
101. Pryor, W. A. (1989). On the detection of lipid hydroperoxides in biological samples. *Free Radical Biology & Medicine*, 7 (2), 177-178.
102. Sies, H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine*, 91 (3C), 31S-38S.

103. McCorry, K. K. (2008). *Essentials of Human Physiology for Pharmacy*, (2nd Edition). United States: CRC Press, 295-297.
104. Preston, R. R., Wilson, T. E. (2014). Lippincott Görsel Anlatımlı Çalışma Kitapları, Fizyoloji. (Çev. Ü. İşoğlu-Alkaç). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. (Eserin orijinali 2012'de yayımlandı), 402- 420.
105. Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., and Brooks, H. L. (2009). *Ganong's Review of Medical Physiology*. (Twenty-Third Edition). McGraw-Hill Medical, 479-586.
106. Fox, S. I. (2015). *Human Physiology*. (Fourteenth Edition). Amerika : McGraw-Hill Education, 636-638.
107. Noyan, A. (2011). *Yaşam ve Hekimlikte Fizyoloji*, 19. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 882-885.
108. Bechmann, L. P., Hannivoort, R. A., Gerken, G., Hotamisligil, G. S., Trauner, M., and Canbay, A. (2012). The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *Journal of Hepatology*, 56 (4), 952-964.
109. Guyton, A. C, Hall, J. E. (2007). *Tıbbi Fizyoloji*. (Çev. H. Çavuşoğlu ve B. Ç. Yeğen) Ankara: Güneş Tıp Kitabevi. (Eserin orijinali 1956'da yayımlandı),
110. Agius, L. (2008). Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *The Biochemical Journal*, 414 (1), 1–18.
111. Roach, P. J. (2002). Glycogen and its metabolism. *Current Molecular Medicine*, 2(2), 101–120.
112. Bollen, M. (1998). Specific features of glycogen metabolism in the liver. *Biochemical Journal*, 336 (1), 19-31.
113. Rui L., (2014). Energy Metabolism in the Liver. *Comprehensive Physiology*, 4(1), 177-197.
114. Berne, R. M., Levvy, Mathew, N., Koeppen, B. M., ve Stanton, B. A. (2008). *Fizyoloji*. (Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. (Eserin orijinali 2006'da yayımlandı), 585-592.
115. Rhoades, R. A., Bell, D. R. (2013). *Medical Physiology Principles for Clinical Medicine (Fourth Edition)*, Lippincott Williams & Wilkins, 536-548.
116. Boron, W. F., Boulpaep, E. L. (2016). *Medical Physiology* (Third edition). Philadelphia: Elsevier, 3400-3495.
117. Mergen, H. (2010). Lipoprotein metabolizması hastalıkları ve tedavisine yaklaşım. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 14(1): 38-45.

118. McManus, L. M. (Editörler). (2014). *Pathobiology of Human Diseases, A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (First Edition), San Diego: Academic Press, 1770-1782.
119. Murie, P. (Editör). (2017). *Liver Pathophysiology Therapies and Antioxidants* (First Edition), United Kingdom: Academic Press, 391-400.
120. VanPutte C., Regan J., Seeley R., Stephens, T., Tate, P., and Russo A. (2013). *Seeley's Anatomy & Physiology* (Tenth Edition). Amerika: McGraw-Hill, 883-889.
121. Johnson, R. L., Barrett, K. E., Merchant, J. L., Said, H. M., Ghisken, F. K., and Wood, J. D. (Editörler). (2006). *Physiology of the gastrointestinal tract*. (Fourth Edition), USA: Academic Press, (1437-1504).
122. Üçok, K., Mollaoğlu H., Genç, A., Akkaya, M., ve Şener, Ü. (2010). Safra sistemi fizyolojisi. *Cerrahi Sanatlar Dergisi*, 3(1), 1-8.
123. Önür, N. D., Beyler, A. R. (2001). Safra asitleri metabolizması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 54(19), 65-76.
124. Ceydilek, B., Beyler, A. R. (2005). Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 58 (2), 68-72.
125. Costanzo L. S. (2015). *BRS Physiology (Sixth edition)*. Çin: Wolters Kluwer Health, 219-220.
126. Carroll, R. G. (2007). *Elsevier's Integrated Physiology*. Amerika: Mosby Elsevier, 151-164.
127. Costanzo, L. S. (2014). *Physiology* (Fifth edition). Amerika: Saunders Elsevier, 359-363.
128. Eren, M., Saltık-Temizel İ., Koçak N. (2004). İlaça bağlı hepatoksisite. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 47(3), 222-227.
129. Akkoyun, H. T., Bayramoğlu, M., Ekin, S., ve Çelebi, F. (2014). D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9 (3), 213-219.
130. Kuntz, E., Kuntz, H. D. (2005). *Hepatology Principles and Practice* (Second edition). Almanya: Springer, 32-70.
131. Ponka, P., Beaumont, C., and Richardson, D. R. (1998). Function and regulation of transferrin and ferritin. *Seminars in Hematology*, 35(1), 35-54.
132. Hellman, N. E., Gitlin, J. D. (2002). Ceruloplasmin metabolism and function. *Annual Review of Nutrition*, 22, 439-458.
133. Anderson, G. J., Frazer, D. M. (2005). Hepatic Iron Metabolism. *Seminars in Liver Disease*, 25(4), 420-32.

134. Anderson, E. R., Shah, Y. (2013). Iron homeostasis in the liver. *Comprehensive Physiology*, 3(1), 315-330.
135. Mills, S. E. (Editör). (2012). *Histology for Pathologists* (Fourth edition). Çin: Lippincot Williams & Wilkins, 1185-1202.
136. White, B. A., Porterfield, S. P. (Editörler). (2012). *Endocrine and Reproductive Physiology* (Fourth edition). Amerika: Elsevier Mosby, 129-145.
137. Molina, P. E. (2013). *Endocrine Physiology* (Fourth edition). Amerika: McGraw-Hill, 73-97.
138. Maia, A. L., Kim, B.W., Huang, S. A., Harney, J. W Larsen, P. R. (2005). Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T3 in euthyroid humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(9), 2524-2533.
139. Spek, A. H., Fliers, E., and Boelen, A. (2017). The Classic Pathways of Thyroid Hormone Metabolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 458 (15), 29-38.
140. Bianco, A. C., Kim, B.W. (2006). Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *The Journal of Clinical Investigation*, 116 (10), 2571-2579.
141. Bello, F., Bakari, A. G. (2012). Hypothyroidism in adults: A review and recent advances in management. *Journal of Diabetes and Endocrinology*, 3(5), 57-69.
142. Devdhar, M., Ousman, Y.,and Burman, K. (2007). Hypothyroidism. Endocrinology and Metabolism. *The Medical Clinics of North America*, 36 (3), 595–615.
143. Shafer, R. B., Prentiss, R. A., and Bond, J. H. (1984). Gastrointestinal transit in thyroid disease. *Gastroenterology*, 86 (5), 852–855.
144. Almandoz, J. P., Gharib, H. (2012). Hypothyroidism: Etiology, Diagnosis, and Management. *The Medical Clinics of North America*, 96(2), 203-21.
145. Burman, K. D., McKinley-Grant, L. (2006). Dermatologic aspects of thyroid disease. *Clinics Dermatology*, 24(4), 247–55.
146. Dubbs, S. B., Spangler, R. (2014). Hypothyroidism Causes, Killers, and Life-Saving Treatments. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 32(3), 303-317.
147. Burmeister, L. A, Ganguli, M., and Dodge, H. H. (2001). Hypothyroidism and cognition: preliminary evidence for a specific defect in memory. *Thyroid: Official Journal of The American Thyroid Association*, 11(12), 1177–1185.
148. Arınç, H., Gündüz, H., and Uyan, C. (2006). Tiroid Hormonu ve Kardiyovasküler Sistem. *Türkiye Klinikleri Cardiovascular Sciences*, 18(2), 138-142.
149. Klein, I., Ojamaa, K. (2001). Thyroid hormone and the cardiovascular system. *The New England Journal of Medicine*, 344 (7), 501-509.

150. Ottesen, M., Feldt-Rasmussen, U., Andersen, J., Hippe, E., Schouboe, A. (1995). Thyroid function and autoimmunity in pernicious anemia before and during cyanocobalamin treatment. *Journal of Endocrinological Investigation*, 18(2), 91-97.
151. Carr, B. R., Blackwell, R. E. (1993). *Text Book of Reproductive Medicine* (First Edition). Connecticut: Appleton & Lange, 323-351.
152. Joshi, J.V, Bhandarkar, S.D., Chadha. M., Balaiah, D., Shah, R. (1993). Menstrual irregularities and lactation failure may precede Thyroid dysfunction or goitre. *Journal of Postgraduate Medicine*, 39(3),137-141.
153. Franklyn, J. A. (2009). Hypothyroidism. *Medicine*, 37(8), 426-429.
154. Hueston, W. J. (2001). Treatment of hypothyroidism. *American Family Physician*. 64(10). 1717-1724.
155. Kasagi. K., Kousaka, T., Higuchi. K., Iida, Y., Misaki, T., and Alam, M. S. (1996). Clinical significance of measurements of antithyroid antibodies in the diagnosis of Hashimoto's Thyroiditis: Comparison with histological findings. *Thyroid: Official Journal of The American Thyroid Association*, 6(5), 445-450.
156. Hayashi, Y., Tamai, H., Fukata, S., Hirota, Y., Katayama S., and Kuma, K. (1985). A long-term clinical, immunological, and histological follow-up study of patients with goitrous chronic lymphocytic Thyroiditis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 61(6), 1172-1178.
157. Kostoglou-Athanassiou, I., Ntalles, K. (2010). Hypothyroidism - new aspects of an old disease. *Hippokratia*, 14(2), 82-87.
158. Gerstein, H. C. (1990). How common is postpartum thyroiditis? A methodologic overview of the literature. *Archive of Internal Medicine*, 150 (7), 1397–1400.
159. Sakaiharu, M., Yamada, H., and Kato, E. H. (2000). Postpartum thyroid dysfunction in women with normal thyroid function during pregnancy. *Clinical Endocrinology*, 53 (4), 487–492.
160. Hancock, S. L., Cox, R. S., and McDougall, I. R. (1991). Thyroid diseases after treatment of Hodgkin's disease. *The New England Journal of Medicine*, 325 (9), 599–605.
161. Mercado, G., Adelstein, D. J., and Saxton, J. P. (2001). Hypothyroidism: a frequent event after radiotherapy and after radiotherapy with chemotherapy for patients with head and neck carcinoma. *Cancer*, 92 (11), 2892–2897.
162. Vetter, M.L., Kaul, S., and Iqbal, N. (2008). Tyrosine kinase inhibitors and the thyroid as both an unintended and an intended target. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 14(5), 618-624.
163. Gupta, V., Lee, M. (2011). Central hypothyroidism. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 15 (2), S99-S106.

164. Chaker, L., Bianco, A. C., Jonklaas, J., and Peeters, R. (2017). Hypothyroidism. *The Lancet*, 390 (10101), 1550-1562.
165. Lania, A., Persani, L., and Beck-Peccoz, P. (2008). Central hypothyroidism. *Pituitary*, 11(2), 181-186.
166. Khandelwal, D., N, Tandon. (2012). Overt and Subclinical Hypothyroidism Who to Treat and How. *Drugs*, 72 (1), 17-33. 166.
167. Persani, L. (2012). Central hypothyroidism: pathogenic, diagnostic and therapeutic challenges. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(9):3068–3078.
167. Yamada, M., Mori, M. (2008). Mechanisms related to the pathophysiology and management of central hypothyroidism. *Nature Clinical Practise. Endocrinology & Metabolism*, 4 (12), 683-94.
168. Zulewski, H., Möller, B., Exer, P., Miserez, A. R, Staub, J. J. (1997). Estimation of tissue hypothyroidism by a new clinical score: evaluation of patients with various grades of hypothyroidism and controls. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(3), 771-776.
169. Hollowell, J. G., Staehling, N. W., and Flanders, W. D. (2002). Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87 (2), 489-499.
170. Cooper, D. S. (2001). Clinical Practise. Subclinical hypothyroidism. *The New England Journal of Medicine*, 345 (4), 260-265.
171. Fatourechi, V. (2004). Subclinical hypothyroidism: when to treat, when to watch?. *Consultant*, 44, 533-539.
172. Hak, A. E, Pols, H. A, Visser, T. J, Drexhage, H. A, Hofman, A., and Witteman, J. C. (2000). Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam study. *Annals of Internal Medicine*, 132 (4), 270-278.
173. Brenta, G., Berg, G., Arias, P., Zago, V., Schnitman, M., and Muzzio, M. L. (2007). Lipoprotein alterations, hepatic lipase activity and insulin sensitivity in subclinical hypothyroidism: response to L-T(4) treatment. *Thyroid: Official journal of the American Thyroid Association*, 17(5), 453-460.
174. Abalovich, M., Mitelberg, L., Allami, C., Gutierrez, S., Alcaraz, G., and Otero, P (2007). Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in women with infertility. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 23 (5), 279-283.
175. Casey, B. M, Dashe, J. S, Wells, C. E, McIntire, D. D, Byrd, W., and Leveno, K. J (2005). Subclinical hypothyroidism and pregnancy outcomes. *Obstetrics and Gynecology*, 105 (2), 239-245.

176. Idris, I., Srinivasan, R., Simm, A., and Page, R. C. (2005). Maternal hypothyroidism in early and late gestation: effects on neonatal and obstetric outcome. *Clinical Endocrinology (Oxf)*, 63(5), 560-565.
177. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. (2013). *Tiroid hastalıkları tedavi ve tanı klavuzu 2013* (Beşinci Baskı). Ankara: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 13-44.
178. Guetens, G., De Boeck, G., Highley, M., van Oosterom, A. T., De Bruijn, E. A. (2002). Oxidative DNA damage: Biological significance and methods of analysis. *Critical Review in Clinical Laboratory Science*, 39(4-5), 331-457.
179. Kılınç, K., Kılınç, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 110-118.
180. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., and Yönden, Z. (2015.)Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
181. Freeman, B. A, Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation; a journal of technical methods and pathology*, 47(5), 412-426.
182. Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*. 41(12 Pt 2), 1819-1828.
183. Halliwell, B, (1994). Antioxidants and Human Disease: curiosity, cause or consequence?. *Lancet*, 344(8924), 721-724.
184. Valko, M., Morris, H., and Cronin, M.T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161-1208.
185. Moncada, S., Palmer, R. M., and Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109-142.
186. Jomova, K., Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2-3), 65-87.
187. Yin, H., Xu, L., and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944-5972.
188. Vincent, A. M, Russell, J. W, Low, P., and Feldman, E. L. (2004). Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25(4), 612-628.
189. Pratico, D. (2005). Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*, 181(2), 215-224.
190. Aslan, R., Şekeroğlu, M. R., and Bayıroğlu, F. (1995). Serbest Radical Türlerinin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri Ve HücreSEL Antioksidan Savunma. *Yüzüncü yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2, 137-142.

191. Hamamcıoğlu, A. C. (2017). Diyabette Oksidatif Stres ve Antioksidanların Rolü. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi*, 1(1), 7-13.
192. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1): 91-100.
193. Sen, S., Chakraborty R. (2011). *The Role of Antioxidants in Human Health*. (First Edition). Washington : American Chemical Society, 1-37.
194. Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
195. Karabulut, H., Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.
196. Limon-Pacheco, J., Gonsbatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*, 674(1-2), 137-147.
197. Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., and Chuang, (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research*, 18(1), 1-11.
198. Şener, G., Yeğen, B. Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*. 22, 5-13.
199. Dündar, Y., Aslan, R. (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2), 134-142.
200. Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*. 2(2), 56-60.
201. Tabakoğlu, E., Durgut, R. (2013). Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, 3(1), 69-75.
202. Gutteridge, J. M. C. (1993). Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*, 19(3): 141-158.
203. Erenel, G., Erbaş, D., ve Arıcıoğlu, A. (1992). Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, 3, 243-250.
204. Girotti, A. W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39(8), 1529-1542.
205. Kanner, J., German, J. B., and Kinsella, J. E. (1987). Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*, 25(4), 317-364.

206. Esterbauer, H., Schaur, R.J., and Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81-128.
207. Catalá A. (2006). An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38 (9), 1482-1495.
208. Prokai L, Yan, L. J., Vera-Serrano, J. L, Stevens, S. M, Jr., Forster M. J. (2007) Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. *Journal of Mass Spectrometry*, 42(12), 1583-1589.
209. Rao, R. S., Moller, I. M. (2011). Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics*, 11(21), 4166-4173.
210. Breen, A. P., Murphy, J. A. (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(6), 1033-1077.
211. Helbock, H. J., Beckman, K. B., and Ames, B. N. (1999). 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-Hydroxy-guanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods in Enzymology*, 300, 156-166.
212. Cooke, M. S, Evans., M. D, Dizdaroglu., and M., Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb Journal: Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17(10), 1195-214.
213. Hu, J. J, Dubin, N, Kurland, D., Ma, B. L., Roush, G. C. (1995). The effects of hydrogen peroxide on DNA repair activities. *Mutation Research*, 336(2),193-201.
214. Wongchai, V., Ratanavalachai, T. (2002). Seasonal Variation of Chemical Composition of Royal Jelly Produced in Thailand. *Thammasat International Journal of Science and Technology*, 7(2), 1-8.
215. Fratini, F., Cilia, G., and Felicioli, A. (2016). Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*, 192, 130-141.
216. Domerego, R. (2001). *Ces abeilles qui nous guérissent*. Paris: J. C. Lattes.
217. Molan, P. C. (1999). Why honey is effective as a medicine. *Bee World*, 80(2), 80-92.
218. Cherbuliez, T., Domerego, R. (2003). *L'apithérapie: médecine des abeilles*. Brüksel: Amyris.
219. Contessi, A. (2010). *Le Api. Biologia, allevamento, prodotti*. (3. Baskı). Bologna: Edagricole.
220. Levet, M. (2008). *Guérir avec les abeilles*. (Birinci Baskı). Paris: Editions Trajectoire.
221. Uçar, M. (2018). Arı Sütünün Büyüme, Yaşlanma ve Üreme Sağlığına Etkisi. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 193-202.

222. Bărnăuțiu, L. I., Al- Mărghitaș, L., Dezmiorean, D. S., Mihai, C. M., Bobiș, O. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Royal Jelly – Review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44 (2), 67-72.
223. Melliou, E., Chinou, I. (2005). Chemistry and bioactivity of Royal Jelly from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (23), 8987-8992.
224. Sabatini, A. G., Marcazzan, L. G., Caboni, M. F., Bogdanov, S, Bicudo de Almeida-Muradian, L. (2009). Quality and Standardisation of Royal Jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1 (1), 16-21.
225. Ramadan, M. F, Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: a review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 39–52.
226. Finke, M. D. (2005). Nutrient composition of bee brood and its potential as human food. *Ecology of Food and Nutrition*, 44 (4), 257-270.
227. Blum, M. S., Novak, A. F., and Taber, S. (1959). 10-Hydroxy-2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. *Science*, 130 (3373), 452–453.
228. Townsend, G. F., Brown, W. H., Felauer, E. E., and Hazlett, B. (1961). Studies on the in vitro antitumor activity of fatty acids. The esters of acids closely related to 10-hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly against transplantable mouse leukemia. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 39, 1765–70.
229. Sugiyama, T., Takahashi, K., and Mori, H. (2012). Royal jelly acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, as a modulator of the innate immune responses. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 12 (4), 368–376.
230. Scarselli, R., Donadio, E., Giuffrida, M. G., Fortunato, D., Conti, A., and Balestreri, E. (2005). Toward Royal Jelly proteome. *Proteomics*, 5(3), 769-776.
231. Albert, S., Klaudiny, J. (2004). The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*: Identification of new members in the EST library. *Journal of Insect Physiology*, 50(1), 51–59.
232. Albert, S., Bhattacharya, D., Klaudiny, J., Schimitszova, J., Smith, J. (1999). The family of major Royal Jelly proteins and its evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 49 (2), 290-297.
233. Kamakura, M., Suenobu, N., and Fukushima, M. (2001). Fifty-sevenkDa protein in royal jelly enhances proliferation of primary cultured rat hepatocytes and increases albumin production in the absence of serum. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282 (4), 865–874.
234. Okamoto, I., Taniguchi, Y., Kunikata, T., Kohno, K., Iwaki, K., and Ikeda, M. (2003). Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sciences*, 73(16), 2029–2045.

235. Simuth, J., Bilikova, K., Kovacova, E., Kuzmova, Z., Schroder, W. (2004). Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: Physiologically active royal jelly protein stimulating TNF-alpha release is a regular component of honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2154–2158.
236. Bilikova, K., Huang, S. S. Lin., I. P., Simuth, J., Peng, C. C. (2015). Structure and antimicrobial activity relationship of royalisin, an antimicrobial peptide from Royal Jelly of *Apis mellifera*. *Peptides*, 68, 190-196.
237. Fontana, R., Mendes, M. A., De Souza, B. M., Konno, K., César, L. M., and Malaspina, O. (2004). Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25 (6), 919-928.
238. Bilikova, K., Hanes, J., Nordhoff, E., Saenger, W., Klaudiny, J., and Simuth, J. (2002). Apisimin, a new serine-valine-rich peptide from honeybee (*Apis mellifera* L.) Royal Jelly: purification and molecular characterization. *FEBS Letters*, 528(1-3), 125-129.
239. Kamakura, M. (2011). Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*, 473(7348), 478-483.
240. Han, B., Li, C., Zhang, L., Fang, Y., Feng, Y., and Li, J. (2011). Novel Royal Jelly proteins identified by gel-based and gel-free proteomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (18), 10346-10355.
241. Fujita, T., Kozuka-Hata, H., Ao-Kondo, H., Kunieda, T., Oyama, M., and Kubo, T. (2013). Proteomic analysis of the Royal Jelly and characterization of the functions of its derivation glands in the honeybee. *Journal of Proteome Research*, 12(1), 404-411.
242. Kim, B. Y., Jin, B. R. (2015). Apolipophorin III from honeybees (*Apis cerana*) exhibits antibacterial activity. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*. 182, 6-13,
243. Fenfenati, L., Sabatini, A. G., and Nanetti, A. (1986). Composizione in sali minerali della gelatina reale. *Apicoltura*, 2, 129–143.
244. Sauerwald, N., Polster, J., Bengsch, E., Niessen, L., Vogel, R. F. (1998). Combine antibacterial and antifungal properties of water soluble fraction of royal jelly. *Advances in Food Sciences*, 20(1-2), 42-56.
245. Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yaeshima, T., Kawashima, T., and Kobayashi, K. (1990). A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(19), 11333-11337.
246. Guo, H., Kouzuma, Y., and Yonekura, M. (2009). Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*. 113(1), 238–245.

247. Watanabe, S., Suemaru, K., Takechi, K., Kaji, H., Imai, K., and Araki, H. (2013). Oral mucosal adhesive films containing royal jelly accelerate recovery from 5-fluorouracil-induced oral mucositis. *Journal of Pharmacological Sciences*, 121(2), 110–118.
248. Pavel, C. I., Mărghițaș, L., Bobiș, O., Dezmirean, D. S., Șapcaliu, A., and Radoi, I. (2011). Biological Activities of Royal Jelly – Review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44 (2), 108- 118.
249. Vucevic, D., Melliou, E., Vasilijic, S., Gasic, S., Ivanovski, P., and Chinou, I. (2007). Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell-mediated immune response in vitro. *International Immunopharmacology*, 7(9), 1211-1220.
250. Kohno, K., Okamoto, I., Norie, A., Iwaki, K., Ikeda, M., and Kurimoto, M. (2004). Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68: 138–145.
251. Erem, C., Deger, O., Ovali, E., ve Barlak, Y. (2006). The effects of royal jelly on autoimmunity in Graves' disease. *Endocrine*, 30:175–183.
252. Fujii, A., Kobayashi, S., Kuboyama, N., Furukawa, Y., Kaneko, Y., and Ishihama, S. (1990). Augmentation of wound healing by royal jelly (RJ) in streptozotocin-diabetic rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 53, 331–337.
253. Satomi, K. M., Okamoto, I., Ushio, S., Iwaki, K., Ikeda, M. (2004). Identification of a Collagen Production-promoting Factor from an Extract of Royal Jelly and Its Possible Mechanism. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68 (4), 767-773.
254. Karaca, T., Bayiroglu, F., Yoruk, M., Kaya, S, Uslu, S., and Comba, B. (2010). Effect of royal jelly on experimental colitis induced by acetic acid and alteration of mast cell distribution in the colon of rats. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 54 (4), 193-196.
255. Suemaru, K., Cui, R., Li B., Watanabe, S., Okihara, K., and Hashimoto, K. (2008). Topical application of royal jelly has a healing effect for 5- fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamsters. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 30 (2), 103-106.
256. Siavash, M., Shokri, S., Haghighi, S., Mohammadi, M., Shahtalebi, M. A., and Farajzadehgan, Z. (2011). The efficacy of topical royal jelly on diabetic foot ulcers healing: a case series. *Journal of Research in Medical Sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 16 (7), 904–909.
257. Vittek, J. (1995). Effect of royal jelly on serum lipids in experimental animals and humans with atherosclerosis. *Experientia*, 51, 927–935.
258. Kashima, Y., Kanematsu, S., Asai, S., Kusada, M., Watanabe, S., and Kawashima, T. (2014). Identification of a novel hypocholesterolemic protein, major royal jelly protein 1, derived from royal jelly. *PloS One*, 9 (8), 1-13.

259. Chiu, H. F., Chen, B. K., Lu, Y. Y, Han, Y. C, Shen, Y. C., and Venkatakrisnan, K, (2017). Hypcholesterolemic efficacy of royal jelly in healthy mild hypercholesterolemic adults. *Pharmaceutical Biology*, 55, 497–502.
260. Matsui, T., Yukiyoishi, A., Doi, S., Sugimoto, H., Yamada, H., and Matsumoto, K. (2002). Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (2), 80-86.
261. Takaki-Doi, S., Hashimoto, K., Yamamura, M., and Kamei, C. (2009). Antihypertensive activities of royal jelly protein hydrolysate and its fractions in spontaneous hypertensive rats. *Acta Medica Okayama*, 63 (1), 57-64.
262. Batchelder, T. (2002) A novel mechanism of liver enhancement from a traditional bee product. *Townsend Letter for Doctors and Patients*, 233, 46-48.
263. O'Connor, K., (1985). The demonstration of insulin-like material in the honey bee *Apis mellifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 81 (3), 755–760.
264. Hattori, N., Nomoto, H., Fukumitsu, H., Mishima, S., Furukawa, S. (2007). Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells in vitro. *Biomedical Research*, 28 (5), 261-6.
265. Hashimoto, M., Kanda, M., Ikeno, K., Hayashi, Y., Nakamura, T., and Ogawa, Y. (2005). Oral administration of royal jelly facilitates mRNA expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and neurofilament H in the hippocampus of the adult mouse brain. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 69 (4), 800-805.
266. Hattori, N., Ohta, S., Sakamoto, T., Mishima, S., Furukawa, S. (2009). Royal jelly facilitates restoration of the cognitive ability in trimethyltin-intoxicated mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 63 (1), 57-64.
267. Izuta, H., Chikaraishi, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2009). 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6 (4), 489-94.
268. Tamura, T., Fujii, A., and Kuboyama, N. (1987). Antitumor effects of royal jelly (RJ). *Nihon Yakurigaku Zasshi. Folia pharmacologia Japonica*, 89(2), 73-80.
269. Salazar-Olivo, L. A., Paz-González, V. (2005). Screening of biological activities present in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Toxicology In Vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 19(5), 645-51.
270. Snell, S. (2001). Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology*, 33 (3), 738-750.

271. Shafritz, D. A., Oertel, M., Menthena, A., Nierhoff, D., Dabeva, M. D. (2006). Liver stem cells and prospects for liver reconstitution by transplanted cells. *Hepatology*, 43(2), 89–98.
272. Lee, C. S., Friedman, J. R., Fulmer, J. T., and Kaestner, K. H. (2005). The initiation of liver development is dependent on Foxa transcription factors. *Nature*, 435(7044), 944–947.
273. Fausto, N., Campbell, J. S. (2003). The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mechanisms of Development*, 120(1), 117–130.
274. Limaye, P. B., Alarcón, G., Walls, A. L., Nalesnik, M. A, Michalopoulos, G. K., and Demetris, A. J. (2008). Expression of specific hepatocyte and cholangiocyte transcription factors in human liver disease and embryonic development. *Laboratory Investigation*, 88(8), 865–872.
275. Hreha, G., Jefferson, D. M, Yu, C. H, Grubman, S. A, Alsabeh, R., and Geller, S.A. (1999). Immortalized intrahepatic mouse biliary epithelial cells: Immunologic characterization and immunogenicity. *Hepatology*, 30(2), 358–371.
276. Hoogendoorn, E. H., Hermus, A. R., de Vegt, F., Ross, H. A, Verbeek, A. L., and Kiemeny, L. A. (2006). Thyroid function and prevalence of anti-thyroperoxidase antibodies in a population with borderline sufficient iodine intake: influences of age and sex. *Clinical Chemistry*, 52 (1), 104–111.
277. Vanderpump, M. P., Tunbridge, W. M., French, J. M., Appleton, D., Bates, D., and Clark, F. (1995). The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. *Clinical Endocrinology*, 43(1), 55–68.
278. Donzelli, R., Colligiani, D., Kusmic, C., Sabatini, M., Lorenzini, L., and Accorroni, A. (2016). Effect of Hypothyroidism and Hyperthyroidism on Tissue Thyroid Hormone Concentrations in Rat. *European Thyroid Journal*, 5(1), 27-34.
279. Atıcı, E., Mogulkoc, R., Baltacı, A. K., and Menevse, E. (2017). The effect of thyroid dysfunction on nesfatin-1 and adiponectin levels in rats. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 32(3), 1-6.
280. Cano-Europa, E., Blas-Valdivia, V., Franco-Colin, M., Gallardo-Casas, C. A., Ortiz-Butron, R., (2011). Methimazole-induced hypothyroidism causes cellular damage in the spleen, heart, liver, lung and kidney. *Acta Histochemica*, 113 (1), 1-5.
281. Belviranlı, M., Baltacı, A. K. (2008).The relation between reduced serum melatonin levels and zinc in rats with induced hypothyroidism. *Cell Biochemistry and Function*, 26 (1), 19-23.
282. Demir, Ş., Ünübol, M., Ünübol Aypak, S., İpek, E., Aktaş, S., and Ekren, G. S. (2016). Histopathologic Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Hypothyroidism-Induced Rats. *International Journal of Endocrinology*, 2016, 1-7.

283. Castelan- Rodriguez, I., Corona-Perez, A., Toledo, L. N., Martinez-Gomez, M., Castelan, F., and Cuevas-Romero, E. (2017). Hypothyroidism Induces a Moderate Steatohepatitis Accompanied by Liver Regeneration, Mast Cells Infiltration, and Changes in the Expression of the Farnesoid X Receptor. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 125(3), 183-190.
284. Sarandöl, E., Taş, S., Dirican, M., and Serdar, Z. (2005). Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. *Cell Biochemistry and Function*, 23(1), 1-8.
285. Yılmaz, S., Ozan, S., Benzer, F., and Canatan, H., (2003). Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell Biochemistry and Function*, 21(4), 325-330.
286. Diekman, T., Demacker, P. N, Kastelein, J. J, Stalenhoef, A. F, Wiersinga, W. M. (1998). Increased oxidizability of low-density lipoproteins in hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(5), 1752-1755.
287. Olinescu, R., Radaceanu, V., Nita, S., and Lupeanu, E. (1992). Age-dependent variations of the plasma peroxides and total antioxidants in women with obesity and hypothyroidism. *Romanian Journal of Internal Medicine*, 30(4), 285-90.
288. Resch, U., Helsel, G., Tatzber, F., and Sinzinger, H. (2002). Antioxidant status in thyroid dysfunction. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(11), 1132-1134.
289. Naazeri, S., Rostamian, M., and Hedayati, M., (2014). Impact of Thyroid Dysfunction on Antioxidant Capacity, Superoxide Dismutase and Catalase Activity. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(1), 51-54.
290. Yıldırım, S., Karadeniz, A., Karakoç, A., Yıldırım, A., Kalkan, Y., and Şimşek, N. (2012). Effects of royal jelly on liver paraoxonase activity in rats treated with cisplatin. *Turkish Journal of Medicine*, 42(3), 367-375.
291. (2014). Hepatoprotective Effect of Royal Jelly Against Cisplatin-Induced Biochemical, Oxidative Stress, Anti-Oxidants And Histopathological Abnormalities. *Advances in Life Science and Technology*, 27, 28-38.
292. El-Nekeety, A. A., El-Kholyb, W., Abbas, N. F., Ebaid, A., Amra, H. A., and Abdel-Wahhab, M. A. (2007). Efficacy of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. *Toxicon*, 256-269.
293. Nejati, V., Zahmatkesh, E., and Babaei, M. (2016). Protective Effects of Royal Jelly on Oxymetholone- Induced Liver Injury in Mice. *Iranian Biomedical Journal*, 20(4), 229-234.
294. Ghanbari, E., Nejati, V., and Mozafar Khazaei, M. (2016). Improvement in Serum Biochemical Alterations and Oxidative Stress of Liver and Pancreas following Use

- of Royal Jelly in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Cell Journal*, 18 (3), 362-370.
295. Cihan, Y. B., Öztürk, A., and Gökalp, S. S. (2013). Protective Role of Royal Jelly Against Radiation-Induced Oxidative Stress in Rats. *International Journal of Hematology and Oncology*, 23(2), 79-87.
296. Roskams, T., Yang, S. Q., Koteish, A., Durnez, A., De Vos, R., and Huang, X. (2003). Oxidative Stress and Oval Cell Accumulation in Mice and Humans with Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *The American Journal of Pathology*, 163(4), 1301-1311.
297. Koteish, A., Yang, S., Lin, H., Huang, Diehl, A. M. (2002). Ethanol induces redox-sensitive cell-cycle inhibitors and inhibits liver regeneration after partial hepatectomy. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26 (11), 1710–1718.
298. Torbenson, M., Yang, S. Q., Liu, H. Z, Huang, J., Gage, W., and Diehl, A. M (2002). STAT-3 overexpression and p21 up-regulation accompany impaired regeneration of fatty livers. *The American Journal of Pathology*, 161 (1), 155–161.





EK-1. Sertifika



30 November- 08 December
2011

Xth LABORATORY ANIMAL PRACTICE & ETHICS

CERTIFICATE

This is to certify that,

Deniz İrem BULUT

has participated successfully in the

"10th Laboratory Animal Practice and Ethics Course"

that has been held in Ankara/Turkey between

30 November and 08 December 2011

Prof. Rıza AYHAN
Rector, Gazi University

Prof. Gökhan ALPASLAN
Chairman of Ethics Committee

Prof. Nurten TÜRKÖZKAN
Director of GUDAM

EK-2. Etik kurul onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 09/05/2017-E.67708



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



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Çiğdem ELMAS
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Çiğdem ELMAS, Deniz İrem BULUT'tan oluşan G.Ü.ET-17.028 kod numaralı ve *"Hipotiroidi Oluşturan Dişi Sıçanlarda Arı Sütü Taviyesinin Karaciğer Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-17.028 and entitled *"The possible protective effects of royal jelly administration on liver of hypothyroid induced female rats"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino (Dişi)
Hayvan Sayısı : 24

Ek:1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Esengül BOŞNAK
Genel Evrak Sorumlusu

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

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, Soyadı, : Deniz İrem BULUT
 Uyruğu : T. C

Eğitim

Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Histoloji-Embriyoloji	Devam ediyor
Yüksek lisans	Hacettepe Üniversitesi/Nanoteknoloji	2012
Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji	2010
Lise	Sokullu Mehmet Paşa Lisesi	2004

İş Deneyimi, Yıl

2015- devam ediyor

Çalıştığı Yer

Gazi Üniversitesi

Görev

Araştırma Görevlisi

Yabancı Dili

İngilizce

Bildiriler

Karaman B. Seymen C. M, Çakır Gündoğdu A, Bulut D. İ. Yılmaz Demirtaş C, Elmas Ç. Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Tuba Uterina Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi. Cell & Tissue Biology Research, May 2018: Vol 6, 245.

Kayhan H. S, Seymen C. M, Çakır Gündoğdu A, Bulut D. İ, Yılmaz Demirtaş C, Elmas Ç. Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Uterus Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi. Cell & Tissue Biology Research, May 2018: Vol 6: 246.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

