

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

**KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN
KARACİĞER HASARI ÜZERİNE BETAİNE'İN
ETKİSİNİN IŞIK MİKROSKOPİK DÜZEYDE
ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Muharrem UÇAR

138685

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali OTLU

MALATYA – 2003

İÇİNDEKİLER	Sayfa
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğerin Embriyolojik Gelişimi	3
2.2. Karaciğerin Anatomisi	4
2.2.1. Konumu ve Genel Özellikleri	4
2.2.2. Karaciğerin Yüzeyleri ve Kenarları	5
2.2.3. Karaciğerin Lobları	7
2.2.4. Karaciğerin Bağları	8
2.2.5. Karaciğerin Damar ve Sinirleri	8
2.3. Karaciğerin Histolojisi	10
2.3.1. Genel Histolojik Yapı	10
2.3.2. Karaciğerin Stroması	10
2.3.3. Karaciğerin Parankimasi	11
2.3.3.1. Karaciğer Lobülleri	11
2.3.3.2. Hepatositler	12
2.3.3.3. Safra Kanalcıkları	14
2.3.3.4. Karaciğer Sinuzoidleri	15
2.3.3.5. Disse Aralığı (perisinüzoidal aralık)	16
2.4. Karaciğerin Fonksiyonları	18
2.5. Karaciğerde Rejenerasyon	20
2.6. Karbon Tetraklorür (CCl₄)	21
2.6.1. CCl₄ toksositesi ve yan etkileri	22
2.6.2. Hepatotoksik etkisi	22
2.6.3. CCl₄ toksisitesine karşı kullanılan tedavi seçenekleri	24
2.7. Betain (C₅H₁₁NO₂)	25

2.7.1. Betainin Lipotropik Etkisi ve Transmetilasyon	26
2.7.2. Osmoregülasyon ve Betain	28
3. MATERYAL ve METOD	29
4. BULGULAR	31
4.1. İstatistiksel yöntemler	31
4.2. Histolojik Bulgular	31
5. TARTIŞMA	63
6. ÖZET	74
7. SUMMARY	75
8. KAYNAKLAR	76



TEŞEKKÜR

Bu deneysel çalışmanın her aşamasında sabırla bana yol gösteren ve yardım eden tez danışmanım Prof. Dr. Ali OTLU'ya, fikirleri ile tezime büyük destekleri olan hocalarım Doç. Dr. Mukaddes EŞREFOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Feral ÖZTÜRK'e, çalışmalarımda büyük emeği geçen Öğr. Gör. Dr. Nigar VARDI ve Öğr. Gör. Dr. Murat YAĞMURCA'ya, laboratuvar çalışmalarımda emeği geçen Biyolog Mehmet GÜL'e, laboratuvarlarını geniş anlamda istifademe sunan Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Engin Nasuhi AYDIN'a özefagial entübasyonlarda yardımcı olan Fırat Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHNA'ya sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Muharrem UÇAR

* NOT: Bu tez çalışması, İnönü Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığının 2001/32 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vücudumuzun deriden sonra en büyük organı olan karaciğer, pek çok önemli görevi bulunan ekzokrin ve endokrin bir bezdir (1,2,3). Bu nedenle çok eski yıllardan beri tıbbın çalışma konusu olmuştur. Çağının önemli bir tıp bilgini olan Galenos (M.S. 120-200) karaciğeri vücudumuzun “yemek kazanı” olarak tanımlamış ve karaciğerin hastalıklarının kişinin ruhsal durumunu etkilediğini ileri sürmüştür (1).

Yaşam için mutlaka gerekli olan karaciğer, dolaşım sistemi açısından vücutta kavşak konumundadır. Portal ve sistemik dolaşımın karaciğerde birleşerek ortak bir venöz kan akımı oluştururlar. Tüm besin maddelerinin ara metabolizmaları karaciğerde gerçekleştirilir (2,4). Sentetik, katabolik ve detoksifikasyon işlemlerinin de ana merkezidir. İçerdiği Kupffer hücreleriyle vücut savunmasında önemli rol oynar (4). Karaciğerin temel görevleri ekzokrin ve endokrin sekresyon, ekskresyon, depolama, fagositoz, detoksifikasyon, konjugasyon, metabolizma ve hematopoezdir. Tüm bu görevler karaciğer parankimini oluşturan epitel hücreleri aracılığıyla gerçekleştirilir (5).

Çeşitli biyolojik olaylardan olumsuz etkilenen bir organımız olmasına karşın, ileri derecede rejenerasyon yeteneğine sahip olması bir şanstır. Deney hayvanlarında karaciğer parankiminin % 80-90'ı ortadan kaldırılrsa bile normal işlevini sürdürebilmektedir (4). Karaciğer parankimasında dejenerasyon çoğunlukla rejenerasyonla birlikte seyreder. Ancak hasar sürekliyse veya tekrarlanırsa hücre yenilenmesi normalden saparak bağ dokusu artışıyla sonuçlanır. Bağ dokusundaki artış siroz olarak isimlendirilen patolojik tabloya yol açabilir. Karaciğer parankiminin tahrip olması ve bunun yerine bağ dokunun gelişmesi, fonksiyonel karaciğer hücreleri yanında, damar ve safra kanal sistemlerini bozar. Pek çok toksik madde (karbon tetraklorür, alkol, fosfor, kloroform, manganez, arsenik, kömür katranı) ve enfeksiyonlar sirozla sonuçlanan karaciğer harabiyetine neden olur.

Karbondisülfürün klorlanmasıyla veya aynı bileşiğin kükürt monoklorür ile tepkimeye girmesiyle ortaya çıkan karbon tetraklorür (CCl_4) solunum, sindirim ve deri yoluyla vücuda giren bir maddedir. CCl_4 ve diğer sıvı halojenli hidrokarbonlar eskiden beri sanayide temizleyici ve yağ uzaklaştırıcı madde (deterjan) olarak kullanılmaktadır. Ayrıca veteriner hekimlikte de antihelmintik olarak kullanılırlar. CCl_4 hepatotoksik bir maddedir. Yüksek dozlarda kullanıldığında siroza neden olabilir. Sadece karaciğer için değil, birçok organ için zararlı bir maddedir (5).

Karaciğerde fibrozis ve yağlanmayla giden karaciğer hastalıklarının araştırılmasında CCl_4 pekçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. CCl_4 karaciğer, dalak,

pankreas, timus, lenf düğümü, böbrek, akciğer ve kalp gibi pek çok organı doğrudan veya dolaylı bir şekilde etkilemektedir (5).

Çalışmamızda sıçan karaciğerinde CCl_4 ile oluşacak histopatolojik değişiklikleri ve bu değişiklikler üzerine betainin olası yararlı etkilerinin ışık mikroskopik düzeyde araştırılması amaçlandı. Betainin karaciğer hasarı üzerindeki olası yararlı etkilerinin karaciğer hastalıkları ile ilgili klinik çalışmalara ışık tutabileceği düşüncesindeyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğerin Embriyolojik Gelişimi

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları dördüncü haftanın başında, pre-enteron'un kavdal parçasından öne doğru bir çıkıntı olarak belirirler (6,7). Diverticulum hepaticum (karaciğer tomurcuğu) septum transversuma uzanır. Septum transversum, kalp taslağı ile mesenteron arasında uzanan splanknik mezodermal bir kitledir (6,7,8) ve diaphragma'nın centrum tendineum'u ile bu bölgedeki mesenterium ventrale'yi oluşturur. Diverticulum hepaticum, mesenterium ventrale'nin iki yaprağı arasında hızla büyüyerek ikiye ayrılır (6,7). Diverticulum hepaticum'un daha büyük olan kraniyal parçası primordium hepaticum adını alır (7,9). Bu karaciğer taslağıdır (6,9). Çoğalan endodermal hücreler hepatik hücre kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epiteli oluştururlar. Bu hepatik hücre kordonları, endotelle döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak karaciğer sinüzoidlerinin taslaklarını meydana getirirler. Karaciğerin bağ dokusu, hematopoietik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversum'daki mezenkimden gelişirler (6,7,8,9,10,11). Mezodermal hücrelerin kolinesteraz aktivitesi göstermeleri, söz konusu hücrelerin karaciğer gelişiminde morfogenetik açıdan aktif rol oynadıklarını ortaya koymaktadır (10).

Diverticulum hepaticum'un daha küçük olan kavdal parçası vesica biliaris'i, divertikülün sapı da ductus cysticus'u oluşturur (6,7,9,10). Başlangıçta ekstrahepatik safra yolları epitel hücreleri ile tıkanmışken, bu hücrelerin dejenerasyonu ile kanallar açılır. Ductus hepaticus ve ductus cysticus'u duodenuma bağlayan kordon, ductus choledochus'a dönüşür. Başlangıçta duodenum kavsinin ön yüzüne bağlı olan ductus choledochus, duodenumun büyümesi ve rotasyonu ile duodenumun arka yüzüne taşınır (6,7). İnce ve iki yapraklı olan mesenterium ventrale zarından, omentum minus ve ligamentum falciforme hepatis gelişir (7,8). Omentum minus'un karaciğer ile omentum minus arasında uzanan kısmına ligamentum hepatogastricum, karaciğer ile duodenum arasında uzanan kısmına da ligamentum hepatoduodenale denir. Ligamentum falciforme, karaciğer ile karın ön duvarı arasında uzanır. V. umbilicalis, chorda umbilicalis'ten çıkıp karaciğere giderken ligamentum falciforme'nin serbest kenarı boyunca seyrederek. Mesenterium ventrale aynı zamanda karaciğerin visseral peritonunu da oluşturur (7). Karaciğer, diaphragma ile doğrudan temasta olan area nuda dışında tümüyle peritonla örtülüdür (7,8).

Hepatik arter ve portal ven safra kanalı ile birlikte karaciğer hilusuna girer. Portal venden ve hepatik arterlerden gelen kan asinüs içine boşalır, daha sonra lobülün periferindeki santral venlerde toplanır. Santral venler birleşerek hepatik venleri oluşturur, hepatik venler vena cava inferiora boşalır. Her bir santral ven bitişiğindeki asinüs

segmentlerinden gelen kanı toplamaktadır. Merkezinde santral venin bulunduğu karaciğer dokusu venöz karaciğer lobülünü meydana getirir. Karaciğer loblarının gelişimi fetal dönemdeki venlerin izlediği yollara bakılarak geriye doğru incelenebilir. Yeni doğanda umbilikal venin hala vena kava inferiora doğrudan bağlantısı (duktus venozus) bulunmaktadır. Umbilikal ven sol umbilikal venden köken aldığından solda yer alır. Oysa portal ven gövdesi sağ vitellus veninden oluşur ve bu yüzden sağda yer alır. Bu düzenlenim karaciğer loblarının bebekte izlenen tipik şekli olan H yapısını meydana getirir. H'in merkezi bölümü sağ tarafa hilus ve safra kesesi ile, sola ise umbilikal ven kalıntıları ve duktus venozus (karaciğerin yuvarlak ligamanı ve ligamentum venozum) ile bağlanır. Bu merkezi bölüm üst kısımda kaudat lobu içerir. Umbilikal venin ön bölümündeki portal ven genişlemesine 'umbilikal girinti' adı verilir (10).

Karaciğer, 5-10. haftalar arasında hızla gelişerek karın boşluğunun büyük bir kısmını doldurur. V. umbilicalis'ten karaciğere akan oksijenli kanın miktarı, karaciğerin gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler (6,7). Kordonların çoğalması başlangıçta simetriktr. Gelişim ilerledikçe sağ lobun büyümesi hızlanır (6,7,9). Sol lob başlangıçtan beri gelişmek için boş yer bulmakta zorluk çekmektedir. Çünkü, aynı zamanda bu alanda mide de gelişmektedir. Gelişimin ilk dönemlerinde burada oluşan bazı epitelyal hücre kordonlarının, midenin gelişmesi nedeniyle esas tomurcukla olan bağlantıları kaybolabilmektedir. Bu nedenle meso-hepaticum laterale içerisinde bu bölgeye ait, 'vasa aberrantia' adı verilen atrofiye olmuş safra kanallarına rastlanır (9).

Altıncı haftada başlayan hematopoiesis, karaciğere parlak kırmızı bir renk verir. Karaciğerin 7-9. haftalar arasındaki büyüklüğü hematopoietik aktiviteden dolayıdır. Dokuzuncu haftaya kadar fetusun total ağırlığının %10'unu karaciğer oluşturur. Organın ağırlığındaki bu fazlalık, sinusoid sayısının fazlalığına ve hemopoietik işlevine bağlıdır. İntrauterin hayatın 5. ayına doğru karaciğerdeki kan yapımı en yüksek düzeye ulaşır. Hemopoietik işlev, gebeliğin son iki ayına kadar giderek azalır ve geride ancak birkaç hemopoietik hücre adası kalır. Doğumda, karaciğer ağırlığı toplam vücut ağırlığının %5'i kadardır. Fakat karaciğerin hemopoietik yeteneği yaşam boyunca saklı kalır. Karaciğer hücreleri safra yapımına 12. haftadan itibaren başlar (6,7,8,9).

2.2. Karaciğerin Anatomisi

2.2.1. Konumu ve Genel Özellikleri

İnsan vücudunun en büyük bezi (1,3,12,13,14,15,16) olan karaciğer karın boşluğunun üst tarafında, diafragmanın altında (1,12,13,15), mide ve barsakların üstünde bulunur (1). Regio hypochondriaca (hypochondrium) dextra'nın tümünü, regio

epigastrica'nın (epigastrium) büyük bir kısmını (1,12,17) sol regio hypochondrica'nın yukarı ve sağ yarısını doldurur (1). Karaciğerin büyük bölümü peritonla kaplıdır. Ancak area nuda, fossa vesica biliaris, sulcus venae cavae, fissura ligamenti teretis, fissura ligamenti venosi ve porta hepatis peritonsuzdur (1,12,14).

Karaciğerin ağırlığı erkeklerde 1400-1800 gram (1,12,17), kadınlarda 1200-1400 gramdır (12,17). Bu ağırlığı dışında canlılarda yaklaşık 1 kg kan bulunur. Fetusda, karaciğerin vücut ağırlığına göre oranı, erişkinlerdekinden daha fazladır. Erişkinlerde vücut ağırlığının %2'si, çocuklarda ise %5'i kadardır (12). Uzunluğu ortalama 25-30 cm (1,12), genişliği ve yüksekliği en geniş ve yüksek yerinde 14-16 cm kadardır (1). Yarım bir elipsoid şeklinde olup (13), koyu kırmızı- kahverengidir (1,12,13,14,17). Karaciğeri meydana getiren küçük lobüllerin orta ve kenar parçalarının rengi aynı değildir, lobüllerde devam eden fizyolojik olaylara ve kan miktarına göre değişir. Karaciğer dokusu sıkı ve kıvamı sertçe olmakla beraber sağlam değildir (1). Elastikiyeti az ve yumuşak olduğundan dolayı kolay yırtılır (1,12,14,17).

2.2.2. Karaciğerin Yüzeyleri ve Kenarları

Karaciğerin iki yüzü, iki kenarı vardır. Diafragmaya temas eden üst yüzüne diafragmatik yüz (facies diaphragmatica), karın organları ile komşuluk yapan alt yüzüne de visseral yüz (facies visceralis) denir. Bu iki yüz, aşağı-önde margo inferiora, yukarı-arkada margo superoposteriorda (dorsalis) birleşir. Margo inferior, oldukça keskin olup, üzerinde orta hat hizasında bir çentik (incisura lig.teretis) bulunur (1,12,13,15,16,17).

Facies diaphragmatica: Diafragma ile komşu olan bu geniş yüzey baktığı yönlerle göre bölümlere ayrılır. Pars superior, facies diaphragmatica'nın üst kısmıdır. Bu yüz diafragma kubbesi aracılığı ile sağ tarafta pleura ve akciğerle, sol tarafta pericardium ve kalp ile komşudur. Kalbin oturduğu çukurcuk impressio cardiaca olarak isimlendirilir. Üst yüzün büyük bölümü periton ile kaplıdır. Sadece arka kısmına yakın bölümünde periton bulunmaz. Diafragmaya gevşek bağ dokusu aracılığı ile yapışık olan bu saha, area nuda'nın önde kalan küçük bir bölümüdür. Area nuda, lig.coronarium'un sınırladığı peritonsuz sahadır. Bu sahanın arkadaki büyük kısmı pars posteriora, öndeki küçük kısmı ise pars superiorun arka bölümünde bulunur (1,12). Pars anterior, karaciğerin diafragmatik yüzünün ön bölümüdür. Bu bölüm sağ tarafta 6-10. kaburga ve kıkırdakları ile, sol tarafta ise 7.-8. kıkırdak kaburgalarla komşudur. Ortada ise proc. xiphoideus ve hemen aşağısında ve altındaki karın ön duvarı bölümü ile komşuluk yapar. Pars anterior, lig.falciforme hepatis'in bulunduğu yer hariç, tamamen peritonla kaplıdır (12). Pars posterior, sağ tarafta geniş ve künt, sol tarafta ise dardır. Orta kısmı omur gövdeleri üzerine oturduğu için

konkavdır. Bu konkavlığın biraz sağ tarafında v. cava inferior'un oturduğu sulcus venae cavae denilen oluk bulunur. Bu oluğun da 2-3 cm solunda fissura ligamenti venosi denilen dar bir yarık bulunur. Bu yarıktaki embriyolojik bir yapı olan ductus venosus'un kapanması ile oluşan lig. venosum bulunur. Lobus caudatus, sulcus venae cavae ile fissura ligamenti venosi arasında yer alır. Sulcus venae cavae'in biraz sağında ve kısmen de visseral yüzde, gl.suprarenalis'in oturduğu, impressio suprarenalis denilen çukurluk bulunur. Fissura ligamenti venosi'nin arka ucunun biraz solundaki çukura, özofagusun mideye bağlanan bölümü oturur. Buraya impressio oesophagea denilir. Pars posterior'un büyük kısmı peritonsuzdur. Lig. coronarium'un içinde kalan bu sahaya area nuda denilir. Bu saha gevşek bağ dokusu aracılığı ile diafragmaya tutunur. Area nuda'nın ön taraftaki küçük bir bölümü pars superior'da bulunur. Pars dextra, diafragmatik yüzün peritonla örtülü sağ kısmıdır. Bu bölüm diafragma aracılığı ile kaburgalarla komşudur.

Fascies visceralis: Karaciğerin karın organları ile komşu olan konkav alt yüzüne facies visceralis denilir. Bu yüz arkaya, aşağıya ve biraz da sol tarafa bakar. Tesbit edilerek çıkarılmış karaciğerin visseral yüzünde, komşu olduğu organların izleri bulunur (12). Bu yüzün ortalarında porta hepatis denilen büyük bir geçit vardır. Porta hepatis'ten v. portae hepatis ve etrafındaki sinir ağı ile birlikte a. hepatica propria'nın dalları girer, safra kanalları ile lenf damarları çıkar (12,15). Porta hepatis'in her iki tarafında, arka kenardan ön kenara doğru sagittal yönde uzanan iki oluk bulunur. Sulcus sagittalis dexter'in ön yarısına fossa vesica biliaris, arka yarısına ise sulcus venae cavae denilir. Fossa vesica biliaris'e vesica biliaris (felleae), sulcus venae cavae'ye ise v. cava inferior oturur. Fissura sagittalis sinistra'nın lig. teres hepatis'in oturduğu ön yarısına fissura ligamenti teretis, lig. venosum'un oturduğu arka yarısına ise, fissura ligamenti venosi denilir. Visseral yüzün porta hepatis, fossa vesica biliaris, sulcus venae cavae, fissura ligamenti teretis ve fissura ligamenti venosi hariç, her tarafı peritonla kaplıdır. Bu iki sagittal oluğu ortada porta hepatis birleştirir, böylece H harfi şeklinde bir oluşum ortaya çıkar. Bu oluklar karaciğerin visseral yüzünü dört loba ayırır. Sulcus sagittalis dextra'nın sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinistra'nın solunda kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denir. Bu iki oluk arasında ve porta hepatis'in önünde kalan kısma lobus quadratus denir.

Sağ lobun visseral yüzünde önden arkaya doğru impressio colica, impressio renalis ve impressio suprarenalis'in bölümü (diğer bölümü arka yüzdedir) bulunur. Impressio renalis'in sol tarafında da impressio duodenalis bulunur. Impressio colica'ya flexura coli dextra, impressio renalis'e sağ böbrek, impressio suprarenalis'e sol böbreküstü bezi,

impressio duodenalis'e ise duodenum'un ikinci bölümü oturur. Sol lobun alt yüzünde midenin oturduğu impressio gastrica denilen iz bulunur. Bu yüzün lobus caudatus'a yakın bölümündeki çıkıntılı kısma tuber omentale denir. Tuber omentale, omentum minus'un ön yüzünde curvatura gastrica minor'a oturur. V.cava inferior'un hemen ön tarafındaki lobus caudatus'a ait çıkıntıya proc. caudatus denir (12).

Karaciğerin pozisyonu vücut yapısına, vücudun pozisyonuna ve solunum durumuna göre değişir. İnspirasyonda 3 cm aşağı, ekspirasyonda da 3 cm yukarı çıkar. Arka kenar, facies visceralis ile facies diaphragmatica arasında arka yüzdeki kenardır. Sağ tarafta künt olan bu kenar, sol tarafa doğru gittikçe inceler. Tam bir kenara benzememesi nedeni ile bazı kaynaklarda arka kenardan bahsedilmez. Arka kenar, sağda ve linea axillaris'in biraz arkasında, 11. kaburganın altında alt kenarın devamı şeklinde başlar ve 12. kaburganın alt kenarını takip ederek columna vertebralis'i 12. göğüs omurunun ortası hizasında keser. Daha sonra, konveksliği sola ve aşağı bakan bir kavis çizerek, sola ve yukarı doğru uzanır ve arkada 8. interkostal aralıkta, sol linea medioclavicularis hizasında, karaciğerin sol ucunda alt kenarla birleşir. Alt kenar (margo inferior), facies visceralis ile facies diaphragmatica arasında ön, kısmen de yan tarafta oluşan kenardır. Bu kenarın sağ yanda kalan bölümü biraz küntçedir. Buna karşılık ön taraftaki bölümü ince ve keskindir. Bu keskin bölümde iki çentik bulunur. Bunlardan birisi orta hattın hemen sağ tarafında yer alır ve inc. ligamenti teretis denilir. Bu çentik visseral yüzde görülen fissura ligamenti teretis'in başlangıç yeridir ve buradan lig. teres hepatis geçer. İkinci çentik, orta hattın 4-5cm sağ tarafında bulunur ve sağ m. rectus abdominis'in dış kenarının sağ arcus costarum'u kestiği yere uyar (Murphy noktası) (12).

2.2.3. Karaciğerin Lobları

Karaciğer biri büyük lobus hepatis dexter, diğeri küçük lobus hepatis sinister olmak üzere iki lobdan oluşur. Ön ve üst yüzde bu iki lobu birbirinden lig. falciforme hepatis ayırır. Visseral yüzde lobları birbirinden ayıran yapılar daha belirgindir. Daha önce de anlatıldığı gibi visseral yüzde bulunan H harfi şeklindeki oluklar, karaciğerin visseral yüzünü dört loba ayırır. Sulcus sagittalis dextra'nın sağ tarafında kalan bölüme lobus hepatis dexter, fissura sagittalis sinistra'nın solunda kalan bölüme ise lobus hepatis sinister denir. Bu iki oluk arasında ve porta hepatis'in önünde kalan kısma lobus quadratus, arkasında kalan kısma lobus caudatus adı verilir (1,12,13,14,15,16,17)

Lobus hepatis dexter: Sağ hipokondrium bölgesinde bulunur. Sol lobdan 6 defa daha büyüktür, tüm karaciğerin 5/6'sını oluşturur. Sağ ve sol lobun sınırını diaframatik yüzde lig. falciforme hepatis, visseral yüzde ise fissura sagittalis sinistra belirler (12).

Lobus hepatis sinister: Sağ lobdan daha küçük ve yassıdır. Tüm karaciğerin 1/6'sını oluşturur. Epigastriumda bulunur. Biraz konveks olan üst yüzü diafragma ile, konkav olan alt yüzü ise mide ile komşudur. Sol ucu genellikle linea medioclavicularis'de sonlanır, fakat bazen dalağa kadar uzanır (12). Bu uçta bulunan bağ dokusu yapıya appendix fibrosa hepatis denir (1,12).

Lobus quadratus: Sağ lobun visseral yüzünde ve porta hepatis'in ön tarafında bulunur. Bu lobu önden karaciğerin margo inferior'u, arkadan porta hepatis sağ taraftan fossa vesica biliaris ve sol taraftan da fissura ligamenti teretis sınırlar (12,17).

Lobus caudatus: Sağ lobun visseral yüzünde ve porta hepatis'in arka tarafında, 10.-11. göğüs omurları hizasında bulunur. Bu lobu önden porta hepatis, sağdan sulcus venae cavae ve soldan da fissura ligamenti venosi sınırlar (12). Lobus caudatus'un ön tarafta iki uzantısı vardır. Bunlardan daha kalın olan sol taraftakine proc. papillaris, sağ taraftakine ise proc. caudatus denir (1,12,16,17). Proc. papillaris porta hepatis'in arka kenarının sol yarısını, proc. caudatus ise sağ yarısını oluşturur ve sağ lobla birleşir. Proc. caudatus'u örten periton, for. bursa omentalis'i ön-üst kısımdan sınırlar (12).

2.2.4. Karaciğerin bağları

Karaciğer diafragmanın alt yüzüne ve karın ön duvarına 6 bağ aracılığı ile tutunur. Bunlardan beşi (lig. falciforme hepatis, lig. coronarium, lig. hepatorenale, lig. triangulare dextrum ve lig. triangulare sinistrum) peritonun oluşturduğu bağlardır. Birisi de (lig. teres hepatis) embriyolojik v. umbilicalis'in kapanması ile oluşan bir bağdır. Karaciğer ayrıca peritoneal bir yapı olan omentum minus (lig. hepatogastricum ve lig hepatoduodenale) aracılığı ile mide ve duodenum'a bağlanır (1,12,13,15,17).

2.2.5. Karaciğerin Damar ve Sinirleri

Karaciğer kanı iki kaynaktan alır. Biri oksijenden fakir besinden zengin kanı taşıyan portal ven, diğeri oksijeni bol kanı taşıyan hepatik arterdir (1,2,12,15,17,18,19).

A. hepatica propria karaciğerin besleyici damarıdır, truncus coeliacus'dan çıkar. Lig. hepatoduodenale içinde v. portae hepatis ve ductus choledochus ile birlikte uzanan bu arter, porta hepatis'e gelince sağ ve sol iki dala ayrılır (1,12,15,17), daha sonra seyrine karaciğer içinde devam ederek interlober ve interlobuler arterleri oluşturur (18). İnterlobüler arterler portal alandaki bağ doku elemanlarını kanlandırdıktan sonra sinüzoidler içine açılırlar. Sinüzoidler de vena sentralise açılır. A.hepatica propria'nın dalları arasında anastomoz yoktur (12).

Karaciğerin, v. portae hepatis ve vv.hepaticae olmak üzere iki grup veni vardır. V. portae hepatis, v. mesenterica superior ile v. lienalis'in birleşmesiyle oluşur (12,16),

a. hepatica propria ile birlikte lig. hepatoduodenale içinde uzanarak porta hepatis'e gelir. Karaciğerde a. hepatica propria'nın dalları ile birlikte uzanır ve sonunda, interlobuler arter gibi bu da sinüzodlere açılır. Işınsal seyirli sinüzoidler lobülün merkezinde santral veni oluşturmak üzere birbirlerine yaklaşırlar. V. centralis'ler birleşerek lobüllerin dışında postlobuler venleri, onlar da birleşerek v. hepatica'ları oluşturur. Bu venler porta hepatis'ten gelen kanı v. cava inferior'a taşırlar (1,12). V. hepatica'lar karaciğer segmentasyonuna uymazlar (12).

Karaciğerde bulunan lenf, diğer lenf sıvılarından daha fazla protein içerir ve albümin globülin oranı plazmadan daha yüksektir. Lobül içinde lenfatik damar yoktur. Disse mesafesi lenfin oluşmaya başladığı aralıktır. Buradan az miktarda plazma, lobülün periferindeki Mall aralığına akar. Buradan da portal alandaki lenfatik damarlara boşalır (20). Epitel ile döşeli olmayan Disse aralığı lenfatik bir kanal değildir. İntersellüler boşluktaki gibi retiküler ve kollajenöz fibriller bulunur, sıvı bunlar arasında serbestçe dolaşır (11).

Karaciğerin lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e gelerek buradaki nodi lymphatici hepatici'ye açılırlar. Bunların bir kısmı da safra kesesi boynunun etrafındaki nodus cysticus ile for. bursa omentalis çevresindeki lenf nodüllerine (nodus foraminalis) açılır. Nodi lymphatici hepatici'den çıkan lenf damarları da nodi lymphatici coeliaci'den geçerek ductus thoracicus'a açılırlar. Derin lenf damarlarının bir kısmı v. hepatica'ları takip ederek diafragmadaki for. venae cavae'ye gelirler. Bu lenf damarları nodi lymphatici phrenici superiores'e, buradan da nodi lymphatici parasternales'e açılırlar (12). Karaciğerin yüzeysel lenf damarlarının çoğu porta hepatis'e giden derin lenf damarları ile birleşerek nodi lymphatici hepatici'ye, daha sonrada nodi lymphatici coeliaci'ye açılırlar. Area nuda'dan kaynaklanan lenf damarları diafragmaya geçer. Önde, sternumun hemen yanından, arkada ise for. venae cavae'den göğüs boşluğuna geçerek nodi lymphatici phrenici superiores, nodi lymphatici mediastinales anteriores ve posteriores'e açılırlar (12,15). Buradan çıkan lenf damarları da truncus lymphaticus dexter ve ductus thoracicus'a açılırlar (12).

Karaciğerin innervasyonu: Sempatikleri nn. splanchnici'den, parasempatikleri ise sağ ve sol n. vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus'u oluştururlar. Buradan çıkan lifler a. hepatica propria ve v. portae hepatis etrafında plexus hepaticus adı altında karaciğere gider (1, 12,15,16,17). Hepatik damarlarda sadece simpatik liflerin bulunduğu, buna karşılık safra kanalları ve safra kesesinde ise her ikisinin de bulunduğu belirtilmektedir (12). Sensitif lifler, simpatik liflerle birlikte uzanır ve 8.-11. torakal

medulla spinalis segmentlerine gider. Bu nedenle karaciğerin ağrıları 10. interkostal sinirin dağılma alanı ve karnın yukarı bölümünde hissedilir (akseden ağrı). Karaciğeri örten peritonda sağ n. phrenicus'un dalları dağılır. Bu nedenle karaciğer peritonundan kaynaklanan ağrılar, sağ omuzda hissedilir (1,12,16).

2.3. Karaciğerin Histolojisi

2.3.1. Genel Histolojik Yapı

Karın boşluğunda diyaframa altında, sağ üst kadranda yer alan karaciğer vücudun en büyük bezi olarak kabul edilir (yaklaşık 1.5 kg) (18,19,21,22). Diğer organlar gibi stroma ve parankima adı verilen iki kısımdan oluşmuştur (21). Ürettiği safra nedeniyle ekzokrin bez, sentezlediği maddeleri doğrudan kana vermesi nedeniyle de endokrin bir bez niteliği taşımaktadır (20,23). Karaciğer barsaklar ile genel dolaşım arasına yerleşmiştir. Barsaklar, dalak ve pankreastan gelen venöz kan karaciğerin fonksiyonel damarı olan vena portaya akarak karaciğere gelen total kanın %75'ini sağlar. Vena porta ile gelen kanın miktarı 15 ml/dk'dır (18). Arteria hepatica ise oksijenden zengindir ve karaciğere gelen kanın %25'ini sağlar (19,23). Karaciğer sindirim sistemine bağlı bir eklenti bezi gibi çalışır ve safra üretir. Safra intestinal diyetdeki yağın alt unsurlarına parçalanmasını ve intestinal epitelden absorpsiyonunu kolaylaştırır. Karaciğerin sindirimdeki bu rolü dışında daha birçok fonksiyonu vardır. Karbonhidratları glikojen olarak depolayıp enerji gereksinimi için düzenli olarak kana glukoz olarak verilmesi, kan plazma proteinlerinin sentezlenip kana direkt olarak verilmesi, kanla gelen ilaçların ve potansiyel toksik maddelerin oksidasyon yoluyla detoksifikasyonu veya zararsız konjugatlara çevrilerek safra ile ince barsaklara atılması bunlardan bazılarıdır (18). Karaciğerin altında transfer fissürde yer alan portal ven ve hepatik arterin organa girdiği ve hepatik safra kanalının organdan çıktığı bölge porta hepatis olarak adlandırılır (11).

2.3.2. Karaciğerin Stroması

Karaciğer dıştan visseral peritonun devamı olan ince ve orta yoğunlukta bir bağ dokusu kapsülü ile örtülüdür. Yüzeyi tek katlı yassı epitelle döşenmiş bu kapsüle Glisson kapsülü adı verilir (3,21). Diafragma ve arka yüzünde abdomen duvarıyla temas eden kısımları dışında karaciğer çepeçevre bu örtüyle sarılmıştır (20). Organa damar ve kanalların girip çıktığı hilum bölgesinde biraz daha kalın olan, elastik liflerden zengin Glisson kapsülü, incelerek organı lobüllere ayırır (2,3). İnsanlarda bu bağ dokusu çok az geliştiğinden lobül sınırları kolayca seçilemez (11,19,20).

Lobüllerin birbirleriyle komşulukta bulunduğu bölgelerde bağ dokusu artarak enine kesitlerde üçgen biçiminde gözlenen alanlar oluşturur. Bu alanlara Portal alan, Glisson

üçgeni yada Kiernan aralığı denir. Portal alanlarda arteriol, venül, safra kanalı, lenf damarı ve sinir lifi kesitleri bulunur. Buradaki arterioller kalın duvarlı ve küçük çaplı, venüller ise geniş çaplı ve duvarında az sayıda düz kas bulunduğu için ince duvarlıdır. Safra kanalları tek sıra kübik epitelle döşelidir (2,11,18,19,20,24). Portal alanlardaki bu bağ dokusundan ayrılan ince bir retiküler lif ağı lobül içerisinde sinüzoidal kan damarları endoteli ile hepatositler arasında yayılarak destek sağlar (2,20).

Portal alanlarda otonom sinir sistemine ait birkaç ince myelinsiz sinir lifi izlenebilir. Sempatik (postganglionik) sinir lifleri celiac ganglionundan, parasempatik (preganglionik) sinir lifleri vagusdan kaynaklanır. Her iki sistem de portal triaddaki arteriyel kasların innervasyonunu sağlar. Ek olarak parasempatik sistem hepatosit ve sinüzoidlere yakın plexuslar yapar (11).

2.3.3. Karaciğerin Parenkiması

2.3.3.1. Karaciğer Lobülleri

Karaciğerin parankimasını, hem yapısal hemde fonksiyonel birim olarak kabul edilen, karaciğer lobülleri oluşturur. Bunlar, yaklaşık 0.7x2 mm boyutlarında, köşelerinde portal alanlar, merkezinde ise vena sentralis bulunan, hegzagonal şekilli yapılardır. Merkezden perifer doğru radyer dizilim gösteren geniş sinüzoidler ve hepatositlerden oluşmuşlardır (2,3).

Histofizyolojik özelliklerine göz önüne alınarak başlıca 3 tip karaciğer lobülü tanımlanmıştır:

1. Klasik karaciğer lobülü: Köşelerinde portal alanlar, ortada ise vena sentralisin yer aldığı hegzagonal şekilli yapılardır. Hepatositler, kordonlar (Remak kordonları) oluşturacak şekilde merkezden perifer doğru uzanırlar. Kordonlar arasında kalan bölgede ise sinüzoidler yer almaktadır. Kan akımı periferden merkeze, safra akımı merkezden perifer doğrudur. Yetişkin karaciğerinde ortalama 1 milyon adet klasik karaciğer lobülü bulunmaktadır (19,20,21,23).
2. Portal lobül: Safra salgılanışı dikkate alınmıştır. Portal alan içerisindeki bir safra kanalına safra veren komşu karaciğer hücreleri (farklı klasik lobüllere aittirler) portal lobül olarak gruplanırlar. Üç klasik karaciğer lobülünün vena sentralislerinin birleştirilmesi ile portal lobülün sınırları çizilir. Enine kesitte üçgen şekilli olarak izlenir (2,20,23).
3. Hepatik asinus: İki komşu klasik lobül içinde aynı interlobüler venden kanlanan hücre grupları hepatik asinus olarak tanımlanır. Lobüller arasında ilerleyen interlobüler ven komşu iki lobüle dağılmaktadır. Sınırları iki vena sentralis ve iki portal aralığın birleştirilmesi ile çizilir ve enine kesitte baklava dilimi biçimindedir. İki portal alanı

birleştiren çizgiye olan mesafelerine göre 3 zona ayrılır. Vena sentralise yakın olan zon 3. zon olarak adlandırılır. Birinci zon portal alana en yakın seyreden kısımda yer alır (2,18,20,22,23,24). Hepatik asinüs tanımlaması; dejenerasyon, rejenerasyon, vasküler perfüzyon ve bazı maddelerin spesifik toksik etkilerini açıklayabilmek açısından önemlidir (23).

Çok fonksiyonlu organlarda değişik görevleri olan hücreler arasında sitolojik farklılıklar bulunur. Karaciğerde ise hepatosit olarak isimlendirilen karaciğer hücresi pek çok görevi üstlenmiştir. Ancak hepatositlerin kanlanmasıdaki özellik dikkate alınınca fonksiyonel açıdan hepatositleri 3 zona ayırmak mümkündür (20,23). Bu şekilde tanımlanan zonal düzenlenme ile hepatositlerin çeşitli toksik maddelere karşı ya da değişik hastalıklarda farklı derecelerde hasar görmelerinin nedenini açıklamaya yardımcı olabilir (11,18).

I. Zon (Periferik zon, kenar bölgesi): Kan damarları lobülün periferinden merkezine doğru ilerlediğinden, glikojen, oksijen ve diğer maddelerden en zengin kanla karşılaşan periferik hücreler sürekli aktivite gösterirler. Dolayısıyla kandaki zararlı maddelerden de ilk etkilenen bu hücrelerdir (23). Beslenme sonrası glikojen depolanmasında ilk olarak bu zonda izlenir (11). Açlık durumunda glikojenin yeniden kana verilmesi söz konusu olduğunda ilk önce periferik hücreler glikojeni boşaltmaktadır (18,20,23). Bu hücreler dolaşım bozulduğu sırada en geç ölen ve rejenerasyonun ilk izlendiği hücrelerdir.

II. Zon (orta bölge): Birinci ve üçüncü zon arasında kalan ve kana ikinci derecede cevap veren hücrelerdir. Bu zon hücreleri ise I. ve III. zondaki hücrelerin ortak morfolojik özelliklerine sahiptir. Bu zonun sınırlarını kesin olarak ayırmak mümkün değildir (23).

III. Zon (sentral zon): Vena sentralis çevresinde yer alan bölgedir. Bu zondaki hücreler perfüzyon azaldığı zaman ilk iskemik nekroza uğrayan ve yağın birikiminin ilk olarak izlendiği hücrelerdir (11,18,23). Lipid depolanması ile ilgili olarak sentral zona yakın hücrelerin içerdiği düz endoplazmik retikulumların yüzey alanı periferik zondaki hücrelerden daha fazladır. Glikojen depolayan hücrelerde mitokondriler küçük ve yuvarlak, lipid depolayan sentral zondaki hücrelerde ise ince ve uzundur (11).

2.3.3.2. Hepatositler

Karaciğer lobülünde hepatositler merkezden perifere doğru ilerleyen hücre sıraları şeklinde dizilirler. Bu hücre dizileri arasında sinüzoidler yer alır. Karaciğer hücre popülasyonunun yaklaşık %80'ini meydana getiren hepatositler, büyük poligonal, 20-35 mikrometre çapında hücrelerdir (11,23).

Hepatositlerin çekirdekleri büyük, yuvarlak veya oval şekilli ve merkezi konumdadır. Tek çekirdekli bazı hücrelerin çekirdek volümü ve DNA içeriğinin artması sonucu endomitosis yoluyla iki çekirdekli hücreler meydana gelir. Erişkin karaciğerinde hücrelerin yaklaşık %25 kadarı (3,11) iki çekirdekli (binükleer)'dir (11,20,23). Yaşla beraber hücre poliploidi gösteren hücrelerde artış izlenir (11). Hatta birçok erişkinde 4n sayıda DNA içeren hücreler vardır (tetraploidi). Her bir hücrede iki veya daha fazla sayıda nükleolus (çekirdekçik) izlenir (2,11,23). Hepatositler diğer sindirim sistemi hücrelerine nazaran daha uzun ömürlüdürler (ortalama yaşam süreleri 5 aydır) (23).

Sitoplazmanın çok sayıda mitokondri ve granülsüz endoplazma retikulumu (ER) bulunan kısımları asidofilik, serbest ribozom ve granüllü ER'un yoğun bulunduğu bölgeleri ise bazofilik olarak izlenir (20,23).

Hepatositler bol miktarda hem granüllü hem de granülsüz endoplazma retikulumuna sahiptir. Hepatositte granüllü ER sitoplazma içine saçılmış bazofilik kümeler oluşturur. Bu yapılardaki poliribozomlarda birkaç tip protein (ör: kan albumini, fibrinojen) sentezi yapılır. Sitoplazma içinde diffüz olarak yayılmış granülsüz ER'da değişik bir takım önemli olaylar meydana gelir. Bu organel çeşitli maddelerin vücuttan atılmasından önce inaktivasyonu ya da detoksifikasyonu için gerekli olan oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon olaylarından sorumludur. Hepatositler ER çevredeki değişimlere hemen reaksiyon veren labil bir sistemdir (2,20). Hepatositler oldukça bol glikojen içerirler. Bu polisakkarit, elektron mikroskopunda, 20-30 nanometre büyüklükte kaba ve elektron yoğun granüller halinde (ki bunlar beta partikülleri olarak bilinir) gözlenir (2,19). Hepatositler kandan glukoz fazlasını alarak glikojen şeklinde sitoplazmalarında depolar, böylece kan glukoz düzeyini dengeler. Glikojen Best Karmin ve PAS gibi özel yöntemlerle boyanır. (20). Hepatositlerde depolanan diğer bir madde de lipiddir. Uygun fiksasyon sonrası yapılacak olan Sudan boyama metodu ile lipid damlacıklarını göstermek mümkündür (23).

Hepatositlerde Golgi kompleksi çok sayıdadır (her hücrede yaklaşık 50 adet), spesifik boyamalar yapıldıktan sonra safra kanaliküllerine ve çekirdeğe yakın yerleşimli olarak izlenirler (2,20,23). Her bir Golgi kompleksi yassılaştırmış sisternalar, küçük veziküller ve safra kanalikülü yakınında yer alan daha büyük vakuollerden oluşmuştur. Bu organelin fonksiyonları arasında lizozomların oluşturulması ve plazma proteinlerinin (ör: albumin), glikoproteinlerin (ör:transferrin) ve lipoproteinlerin (ör: çok düşük dansiteli lipoproteinler-VLDL) salgılanması bulunur (2).

Hepatosit lizozomları heterojen özellik gösterirler, hücre içi organellerin yıkımı ve dönüşümü için önemlidir. Hepatosit lizozomları demirin ferritin kompleksleri şeklinde normal olarak depolandığı organellerdir (20).

Herbir hepatosit ortalama 200-300 adet peroksizom içerir. Bunların çapları 0.2-1.0 mikrometre arasında değişir. Glukoneogenezis, purin, alkol ve lipid metabolizmasında görev alan spesifik oksidatif enzimler içerir (katalaz, D-amino acid oxidase, alcohol dehydrogenase gibi) (23). Hücreyi hidrojen peroksitin yıkıcı etkilerinden korur (20).

Hepatositlerde bol bulunan yuvarlak veya oval biçimli mitokondrilerin kristalleri çok sayıdadır. Vital boyama veya enzim boyamaları ile her hepatositin 800-1000 adet mitokondri içerdiği gösterilmiştir (23). Mitokondriden zengin oluşu hücrenin yüksek metabolik aktivitesine işaret eder (20). Yüksek enerji gereksinimi olan hepatositlerde ise ortalama 2000 adet mitokondri bulunduğu bildirilmiştir (19).

Hepatositlerin hücre membranları (plazmalemma) üstlendiği çeşitli görevlere uygun olarak bazı farklılıklara sahiptir. Perisinüzoidal aralığa bakan yüzleri çok sayıda, düzensiz şekil ve büyüklükte uzun mikrovilluslar içerir. Böylece bu yüz yaklaşık 6 kat genişletilerek sekresyon ve absorpsiyon için uygun duruma getirilir. Komşu hepatositlerin hücre membranları içe doğru kıvrılarak tubuler bir aralık olan safra kanalikülülerini oluştururlar. Bu yüzde de kısa mikrovilluslar bulunur. Safra salgısı olmadığı zaman mikrovillusların boyu artar ve lümeni kapatır. Komşu hepatositlerin birbirlerine temas eden yüzeyleri ise zonula okludens ve gap junctionlarla sıkıca birbirine tutunurlar (2,20).

2.3.3.3. Safra Kanalcıkları

İki hepatositin bitişik olduğu her yerde, hücrelerin arasında yer alan tübüler, dar aralık safra kanalikülü olarak isimlendirilir (2). Safra kanal sisteminin ilk kısımları olan kanaliküller 1-2 mikrometre çapında boşluklardır. Işık mikroskopik olarak seçmek zordur. EM'da kanalikül lümenine hepatositin bir çok mikrovillus gönderdiği izlenir. Safra kanalikülü iki hepatosit arasında biraz genişlemiş intersellüler aralık olarak düşünülebilir. Dış tarafta zonula okludens ve gap junction şeklinde sıkı bağlantıların bulunuşu safra kanalikülü lümeni ile intersellüler aralığın bağlantısını keser. Çapı salgılanma sırasında genişler, duvar gerilince mikrovilluslar azalır (2,20).

Hepatositlerde yapılan safranin akım yönü lobülün merkezinden periferine doğrudur (kan akımı ile ters yönde) (20). Safra kanalikülleri bazen hepatositlerin komşu bulundukları alanda rutin H&E boyama metodu ile izlenebilir. Fakat daha iyi olarak özel boyama yöntemleri ile (örn.Gomori boyama metodu veya gümüş impregnasyonu metodu) gözlenebilir (11).

Lobülün periferinde safra kanaliküllerinin duvarını oluşturan hepatositler, sitoplazması soluk boyanan, koyu nükleuslu, organelce fakir kübik hücrelere dönüşür. Bu hücreler belirgin bir bazal membrana oturmaktadır. Bu bölgeye Hering kanalları adı verilir. Hering kanalları portal aralıkta yer alan safra kanallarına açılır. Safra kanalları kübik ya da silindirik epitelle döşeli, dallanmalar yapan daha geniş lümenli tubuler yapılardır (2,20,23). Gittikçe büyüyen safra kanalları birleşerek en son sağ ve sol hepatik kanalları meydana getirirler. İnterlobüler safra kanalların epiteli kübik iken porta hepatise yaklaştıkça prizmatik hale dönüşür. Kanal prizmatik epitellerinde iyi gelişmiş mikrovilluslar izlenir. Safra kanalları çapları arttıkça elastik liflerden zengin sıkı bağ dokusu ile çevrelenir. Kanalin porta hepatise yakın kısımda düz kas hücreleri de izlenir. Sağ ve sol loblardan gelen lobar safra kanalları hilus civarında birleşir ve ortak safra kanalını oluştururlar (19,23).

2.3.3.4. Karaciğer Sinüzoidleri

Portal alanların çevresinde, hepatositler periportal bağ dokusuna dayanmış bir tabaka şeklinde bulunur (sınırlayıcı plak). Bu plak hücreleri a. hepatika, v. porta ve safra kanalının dallarıyla delinmiştir. Portal aralıkta bulunan v. portanın, a. hepatikanın dalları, kanlarını hepatosit kordonları arasında bulunan düzensiz şekilli kapillerlere (sinüzoidlere) boşaltırlar. Sinüzoidal kapillerlerin ortalama çapları 9-12 mikrometre arasında değişir (11,20). İstirahat halinde, sinüzoidlerin yalnızca 1/5'inde aktif kan akımı vardır (25).

Sinüzoid içerisinde hem arteriyel hem de venöz kan bulunur (20,25). Sinüzoidler birbirleriyle anastomozlaşarak hepatosit kordonlarını birbirinden ayıran bir kan labirenti oluşturduktan sonra klasik karaciğer lobülünün merkezinde yer alan v. sentralise açılırlar. V. sentralislerin kanı v. interkalarislere dökülür. V. interkalarislerin birleşmesi ile toplayıcı ven (postlobuler vena) oluşur. Bunlarda v. hepatikayı yaparak v. kava inferiora açılırlar.

Sinüzoidlerin yapısal özellikleri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- a. Kapillerlerden daha geniş çaplıdırlar.
- b. Lümen seyri boyunca genişleme ve daralmalar gösterirler.
- c. Duvarında fagositoz yapan hücreler bulunur (Kupffer hücreleri).
- d. Karaciğer hücreleri ile sinüzoid duvarı arasında dar bir aralık bulunur (Disse aralığı = perisinüzoidal aralık = subendotelyal aralık).
- e. Sinüzoid bazal membranı yer yer kesintilidir. Bu yerlerde sinüzoid duvarı ile hepatosit arasında morfolojik bir engel yoktur (20).

Sinüzoid duvarında endotel ve Kupffer hücreleri olmak üzere başlıca iki tip hücre bulunur.

Endotel hücreleri: Endotel hücreleri aralıklı olarak yerleşirler. Sitoplazma ve organelleri azdır. Sitoplazmalarında küçük mikropinositik veziküller bulunur (11,20). Endotel hücrelerinin küçük, yassı ve koyu boyalı çekirdekleri vardır (11). Endotel hücrelerin kendileri, alışılmışın dışında fenestrasyonludur ve hepatositlerle sinüzoidler arasında süzgeç tabaka oluşturur. Endotelial tabakanın diğer kapillerden farklı olarak, kesikli ve belirli olmayan bazal membranı vardır. Bütün bunlar, karaciğer sinüzoidlerinin geçirgen özelliğine işaret eder. Bu sinüzoid duvar yapısı, hepatositleri intravasküler basınçtan korur ve hepatositlerin yüzeyinde bozulmayan (korunmuş) tabaka oluşturarak karaciğer hücresi ile sinüzoid arasında kan değişimini mümkün kılar (3,25).

Kupffer hücreleri (Fagositik hücreler): Hepatik sinüzoidler içerdikleri sinüzoidal makrofajlar nedeniyle diğer sinüzoidlerden ayrılır. Mononukleer fagositik sisteme dahil olan bu hücreler endotel hücrelerinden daha büyüktür. Nükleusu oval ve büyük, nükleolusu belirgindir. Nükleusun soluk boyanması ve biçimi endotel hücresinden kolayca ayırt edilmesini sağlar. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzüne komşu olan bu hücrelerin düzensiz sitoplazmik uzantıları yıldız biçimini kazandırır. Kupffer hücrelerinin birbirleriyle ve endotelle sitoplazmik bağlantısı yoktur. Sitoplazmik uzantıları endotel hücreleri arasındaki pencerelere doğru uzanır (3,11,19,20). Sıklıkla dejenere eritrosit artıkları, pigmentli granüller ve demir içeren granüller içerir (11,19). Bu fagositöz özelliği intravital boya enjeksiyonları (tripan blue) ile gösterilebilir (11).

Eritrosit metabolizmasını düzenleme yeteneği nedeniyle splenektomi sonrası karaciğerin görevi artmaktadır (23). Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında fagositik özelliklerinden dolayı bol lizozom ve fagositik ürünler bulunur (20). Peroksidaz reaksiyonu pozitifdir, böylece endotel hücrelerinden kolayca ayrılabilirler (endotelde negatif). Boya partiküllerini içeren enjeksiyonlar sonrası fagositik olan bu hücrelerin belirgin duruma geçmesi mümkündür. Kupffer hücreleri komşu hücrelerle intersellüler bağlar yapmadıklarından dolayı göç edebilme (migrasyon) yetenekleri vardır (19).

2.3.3.5. Disse Aralığı (perisinüzoidal aralık)

Sinüzoid endoteli ile hepatosit plakları arasında kalan boşluğa Disse aralığı denir. Disse aralığı kan ve hepatosit arasındaki madde alışverişinin gerçekleştiği bölgedir (3,19,23). Elektron mikroskobunda hepatosit ile endotel hücreleri arasında seçilen aralıktır. Hepatositlerin bu yüze komşu alanında bol mikrovillus bulunmaktadır (20). Bu mikrovilluslar sayesinde madde alışverişi 6 kat artmaktadır (19,23). Hepatositler sentezledikleri maddeleri (protein, lipoprotein yapıda) bu bölgeden kana transfer ederler. Bu yol karaciğerin endokrin özelliğini açıklar (23). Disse aralığında retiküler lifler (18),

nadir kollajen lifler bulunur, gerçek ara madde (ground substans) bulunmaz. Kan plazması Disse aralığında rahatça hareket eder. Buradaki sıvı, plazma niteliğinde olmasına rağmen Disse lenfatik değil interstisyel aralıktır. Gerçek lenfatik aralık endotelle döşelidir. Bununla birlikte Disse aralığı karaciğerde çok miktarda üretilen lenf yapımında önemli rol oynar (20).

Disse aralığı sinüzoidlere desteklik görevi yapan tip 3 kollajen (retiküler fibriller) lifler içerir, bazal lamina içermez. Bu aralıkta myelinsiz sinir lifleri ve Ito hücrelerinin varlığı bildirilmiştir (19). Disse aralığı içinde bunlara ek olarak, kısa psödopodları ve sitoplazmik granülleri olan pit hücrelerinin varlığı da fare ve sıçanlarda bildirilmiştir (19). Pit hücreleri elektron mikroskopik olarak tanınabilir. Bu hücrelerin içinde nöroendokrin granüller mevcuttur (25). Bu hücrelerin insanlardaki natural killer hücreleri olduğu varsayılmaktadır (19).

Disse aralığı lobülün periferinde Mall aralığı ile devam eder. Mall aralığı portal aralıktaki safra duktusu ve damarların çevresinde bulunur. Bu aralıktan kör uçlar halinde karaciğer lenf damarları başlar (20,23). Hepatik lenf damarları son olarak duktus torasikusa drene olurlar (23).

Disse içinde hem endotel hücresinden hem de Kupffer hücresinden türeyebilen ve ilk kez 1876 da Von Kupffer tarafından tanımlanan, az sayıda perisinüzoidal hücreler (yağ depolayan hücre, Ito hücresi, karaciğer yıldızsı hücresi, intermedier hücreler, ekstra vasküler hücre) bulunur (21,25,26,27). Bu hücre Disse aralığında tipik fibroblast bulunmadığından, retiküler ve kollajen lif sentezinden sorumlu tutulmuştur. Perisinüzoidal hücreler en çok intermedier ve periferik zon civarında bulunur, santral zonda az sayıdadır. Bu hücrelerin sitoplazmalarında yağ damlaları bulunur. Fagositoz yapmazlar. Fötal karaciğerde bu hücreler olasılıkla hemopoiezisi sağlayan stem sell olarak görev yapar. A vitamini depoladığı bilinmektedir (20). Nükleusları heterokromatiktir, sitoplazmaları lipid damlacıkları ile doludur. Ito hücreleri organelden zengindir. Sitoplazmadaki yağ damlaları sıklıkla nükleusu kenara iter. Sitoplazmada granüler ER, az sayıda mitokondri bulunur (27). Perisinüzoidal hücreler zayıf endositotik aktivite gösterir, fakat fagozomlara sahip değildir (21). İlk defa A vitamini depolama özellikleri ile dikkati çekmişlerdir. Bu vitamin karaciğerden retinaya taşınarak görme ile ilgili pigmentlerin sentezinde kullanılmaktadır (23). Yağ damlacıkları zengin A vitamini içerirler. Mitoz hızları yavaştır. Ito hücreleri rutin yöntemler ile (hemotoksilen-eozin) boyanmış kesitlerde tanımlamak kolay değildir. Toluidin mavisi, bazik fuksin, Oil red O gibi özel boyalar kullanarak gözlemek mümkündür (27). Hücrelerin ışık mikroskobik düzeyde gösterilmesinde yararlanılan

yöntemlerden birisi de, altın impregnasyonudur. Bu yöntem ile A vitamini içeren lipid damlacıkları, intrasitoplazmik küçük, siyah granüller şeklinde görülürler (26).

Ito hücreleri ve bunlardan türeyen myofibroblast benzeri hücrelerin değişik işlevleri vardır. Bu hücreler fizyolojik koşullarda vücuttaki total retinoidlerin (A vitamini ve metabolitleri) yaklaşık %80'ini sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarında, retinil palmitat şeklinde depolarlar (25,26,27). Özellikle myofibroblast benzeri hücreler, ekstrasellüler matriks proteinlerini (kollajen, fibronektin, laminin, tenaskin, undulin, hyaluron ve proteoglikanlar) sentezler ve salgılar. Ito hücreleri ve myofibroblast benzeri hücreler özel olarak düşük metalloproteinazı olan ekstrasellüler matriksi ve metalloproteinaz-1'in doku inhibitörlerini sentezler ve salgırlar. Ito hücrelerine "karaciğer özel perisitleri" de denmektedir. Çünkü bunlar astrositlerdeki ara filamentlerin ana bileşeni olan Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) ve nöral hücre adhezyon molekülü (N-CAM) hücre işaretleyicilerine sahip olması ile diğer organlardaki damarsal düz kas hücre benzeri perisitler ile çarpıcı benzerlikler gösterirler. GFAP pozitif Ito hücreleri lobülde homojen dağılmış iken, desmin pozitif ito hücreler peri-portal alanlarda yer alırlar. Normal insan karaciğerinde peri-portal alanlardaki hücrelerde N-CAM baskındır (27). Depoladığı lipidi boşaltmış olanlar fibroblastlara benzemektedir (23). Ito hücreleri karaciğer fibroenezinde önemli role sahiptir (25,27).

2.4. Karaciğerin fonksiyonları

Karaciğer yaşam için hayati bir organdır, çünkü sindirim sistemi ile venöz drenaj arasında bir köprü görevi yapmaktadır (11). Karaciğerin başlıca fonksiyonları şunlardır:

1. Metabolik yolda üretilen artıkların detoksifikasyonu (örnek olarak; aminoasitlerin deaminasyonu sonucu üre oluşumu). Çeşitli ilaçlar ve zararlı maddeleri detoksifiye ve inaktive eder. Bu olaya katılan başlıca enzimler granülsüz ER'da bulunur (20,23). Hepatositler lipidleri ve aminoasitleri glukoneogenez adı verilen kompleks bir enzimatik olayla glukoz haline dönüştürür. Ayrıca ürenin meydana gelmesiyle sonuçlanan aminoasit deaminasyonunda gerçekleştiği başlıca organdır. Bu bileşik kan yoluyla böbreklere taşınır ve bu organ yoluyla vücuttan dışarı atılır (2).

2. Dalakla birlikte, hasarlı eritrositlerin kandan uzaklaştırılması.

3. Safra sentezi ve sekresyonu: Safra yeşilimsi bir sıvıdır. İçerisinde kolesterol, nötral yağlar, fosfolipidler, lesitin ve safra tuzları vardır. Safra ile beraber Kupffer hücrelerinde hasarlı eritrositlerin parçalanması ile elde edilen hemoglobin katabolizması ürünü yeşilimsi pigment bilirubin de atılır. Birçok hastalıkta karaciğerin bu fonksiyonu engellenince müköz membranlar ve deride sarımsı renk ortaya çıkar (18). Safranin %90'ını safra tuzları

oluşturur. Safra tuzları hepatositler tarafından salgılanır ve barsaktan emilerek portal sistemle karaciğere geri taşınır (20,23). Safra tuzları daha sonra hepatositler tarafından safra içine salgılanır. Safra tuzları ile beraber safra içerisinde su, elektrolitler (Na, K, Cl, Mg) (23), fosfolipitler, kolesterol, lesitin ve bilirubinde bulunur. Bu maddelerin yaklaşık %90'ı intestinal epitelden absorpsiyon yoluyla alınır ve hepatositler aracılığı ile kandan safra kanaliküllerine taşınır (20).

Safra üretilmesi hepatositlerin ekzokrin fonksiyondur. Safra, su ve elektrolitlere ek olarak birkaç ana komponente daha sahiptir. Bunlar safra asitleri, fosfolipidler, kolesterol ve bilirubindir. Bu maddelerin yaklaşık %90'ı distal intestinal epitelden emilim yoluyla alınır ve hepatositler aracılığı ile kandan safra kanaliküllerine taşınır (enterohepatik resirkülasyon). Bu bileşiklerin %10'u hepatositin düz endoplazmik retikulumunda kolik asidin (karaciğerde kolesterolden sentezlenir) glisin ya da taurin aminoasitleri ile konjugasyonu yoluyla sentezlenir ve sonuçta glidikolik ya da taurokolik asit meydana gelir. Safra asitleri sindirim sisteminde lipidlerin emülsiyon haline getirilmesinde önemli bir fonksiyon görerek bunların lipaz ile sindirilmesini ve ardından emilmesini sağlar (2).

Erişkin bir insan karaciğeri günde ortalama 1 litre safra üretir. Safra akışı bazı hormonlar tarafından düzenlenir (sekretin, kolesistokinin, gastrin gibi) (23). Büyük bir bölümü hemoglobinin parçalanması sonucu meydana gelen bilirubin, mononükleer fagosit sisteminde oluşur ve hepatositlere taşınır. Hepatositlerin düz ER'da, hidrofobik bilirubin, glukronik asitle konjuge edilir ve suda çözünebilen bilirubin glukuronid oluşur. Daha ileri aşamada bilirubin glukuronid safra kanalikülleri içine salgılanır (2).

4. Albumin ve pıhtılaşma faktörleri gibi plazma proteinlerinin sentezi. Karaciğerde kan pıhtılaşma faktörleri olarak bilinen faktör 3, fibrinojen, trombin ve plazma proteini olan albumin sentezlenir (18). Bu proteinler granüler ER'a bağlı poliribozomlarda yapılır. Ancak bunlar depolanmaz, sürekli olarak kan dolaşımına verilir. Böylece endokrin bir bez olarak fonksiyon görür (20,23).

Hepatositler kendileri için gerekli proteinlere ek olarak salgılamak üzere çeşitli plazma proteinlerini de (albumin, protrombin, fibrinojen ve lipoproteinler) sentezler. Bu proteinlerin sentezi granüler ER'a bağlı poliribozomlarda yapılır. Diğer bez hücrelerinin aksine hepatositler proteinleri sekonder granüller halinde sitoplazmasında depolamaz, sürekli olarak kan dolaşımına verir. Böylece endokrin bir bez fonksiyonu görür. Karaciğer tarafından dışarıya verilen proteinin yaklaşık %5'i makrofaj sisteminin tarafından üretilir, geri kalan bölüm hepatositlerde sentezlenir (2). Safra kesesi içerisindeki safrayı 10 kez konsantre edebilme yeteneğine sahiptir.

5. Plazma lipoproteinlerinin sentezi (23).

6. Metabolik fonksiyonu. Glikojen sentezi, glukoneogenezis, glikojen, lipid ve bazı vitaminlerin depolanması. Kandan glikozu alıp, polimerize ederek glikojene çevirir. Lipid ve aminoasitlerden glikoz üretir. Aminoasitleri deamine ederek üre oluşturur ve kan yoluyla böbreklere götürür.

7. Birçok ilaç ve toksinin detoksifikasyonu. (örn. alkolün detoksifikasyonu) (24). Çeşitli ilaçlar ve maddeler oksidasyon, metilasyon ve konjugasyonla inaktive edilir. Bu olaylara katılan enzimler başlıca granüler ER'da bulunur. Glukronik asidi bilirubine konjuge eden bir enzim olan glukronil transferaz, steroidler, barbitüratlar, antihistaminikler ve antikonvülzan gibi başka bileşiklerinde konjugasyonunu sağlar (2,11,23).

Labaratuvar hayvanlarına barbitüratların verilmesi sonucunda hepatositlerde düz ER hızla gelişir. Yapılan ileri çalışmalar ile barbitüratların ayrıca glukronil transferaz sentezini de artırabildiği görülmüş ve glukronil transferaz neonatal hiperbilirubinemi olarak adlandırılan glukronil transferaz enziminin yetmezliğinin izlendiği hastalıkların tedavisinde barbitüratlar kullanılmaya başlanmıştır (2,11).

8. Metabolit birikimi. Lipitler ve karbonhidratlar, karaciğerde trigliseritler ve glikojen şeklinde depolanır. Metabolitleri depolama kapasitesi, vücudun öğünler arasındaki enerji gereksinimini karşıladığı için önemlidir. Karaciğer vitaminler özellikle A vitamini için de en büyük depo yeridir (2,23).

9. Hepatositler sekretuar komponent olan immünglobülin reseptörlerini sürekli olarak sentezler ve kendi hücre membranlarındaki sinüzoidal alanlara verir. Ig A reseptör bağımlı endositozla kandan alınır ve hepatositler tarafından safra kesesi kanaliküline transfer edilir ve gastrointestinal lümene salınır böylece bakteriyal flora karşı defans sağlanır (18,19).

Golgi kompleksi vitamin A, vitamin B ve heparini (mast hücre orjinli) depolar. Safra tuzlarını safra sistemine, fibrinojen (antianemik bir faktör) ve plazma albüminlerini ise kana salgılamaktadır (11). Karaciğer esas olarak A, B 12 ve D vitamini depolar. Karaciğerin içerdiği A vitamini 10 ay, D vitamini 4 ay, B 12 vitamini ise 12 ay yetecek miktardadır (19).

2.5. Karaciğerde Rejenerasyon

Erişkin karaciğerinde hepatositlerde mitoz nadirdir (her 15.000 hücrede bir mitoz), fakat hasar sonrası, tamir döneminde birçok mitoz figürüne rastlanabilir. Karaciğerin rejenerasyon özelliği yüksektir. Karaciğerin bir bölümünün cerrahi olarak çıkarılmasından ya da hepatotoksik maddelerin verilmesinden (karbontetraklorür, kloroform gibi) kısa bir zaman sonra organ normal ağırlığını yeniden kazanır. Sıçanlarda karaciğerin %75'i

çıkarılırsa bir ay içerisinde kaybedilen dokunun yerine konduğu görülür. İnsanlarda bu özellik biraz daha sınırlıdır (2,20). Bunun 50-75 günde olduğu tahmin edilmektedir. Yeni oluşan karaciğer hücresi yaşlı hücreye göre enzimatik olarak daha az olgundur ve karaciğerin birçok fonksiyonunu yeterince gerçekleştiremez (25).

Rejenerasyon geride kalan hepatositlerin mitozu ve büyümeleri ile sağlanır. Rejenere olan karaciğerde parankimal hücrelerin normalden büyük olduğu ve binükleer hücrelerin çoğaldığı görülür (2,20). Rejenerasyon portal kanın ulaştığı alanlarda olur (25).

Hepatositlerdeki mitoz kanda dolaşan ve şalon (Chalon) olarak adlandırılan mitoz inhibitörü kimyasal haberci maddelerle kontrol edilir (11,20). Doku hasarı ya da kısmen çıkarılmasında üretilen şalon miktarı düşer, mitoz baskısı kalktığından hızlı bir mitoz görülür. Rejenerasyon ilerledikçe, yapılan şalon miktarı artar, mitoz giderek azalır (2,11,20). Yenilenen karaciğer dokusu genellikle kaybedilen dokuya benzer. Karaciğer harabiyetinin tüm formlarında, safra kanalları ve büyük kan damarları diğer elemanlara göre daha dayanıklı görünmektedir. Mezenkimal elemanlar bazı harabiyet durumlarında ön planda gelişir (25). Eğer organa gelen hasar sürekli olur ya da tekrarlanırsa karaciğer hücre yenilenmesi ile aşırı bağ dokusu artışı aynı zamanda gelişir. Bu aşırı bağ dokusu artışı sonucu karaciğer yapısında bir organizasyon bozukluğu oluşur ve bu durum siroz olarak adlandırılır. Bu durumda karaciğer fonksiyonu bozulur, çünkü sikatris dokusu sadece fonksiyonel hepatositlerin yerini almakla kalmaz ayrıca karaciğerin vasküler ve safra kanal sistemlerinin organizasyonunu da bozar (2). Hepatik fibrozis gibi kronik karaciğer hastalıkları için destek dokusunun artışı histolojik olarak hepatik fibrozisi önceden haber veren bir göstergedir (11).

Karaciğer hastalığında regenerasyonun zayıf olduğuna dair kanıt yoktur. Artmış nekrozu kompanse etmek için artmış regenerasyon örneği vardır. Diyetle bağlı herhangi bir yetersizlik halinde, özellikle de folik asit, B₁₂ ve protein yetersizliğinde rejenerasyon sınırlanır. Humoral faktörler, muhtemelen arginin, pituiter hormonlar, insülin, glukagon karaciğerde mitozu stimüle eder. Gençlerde rejenerasyon yaşlılara göre daha göze çarpıcıdır (25).

2.6. Karbon tetraklorür (CCl₄)

Tetraklorometan olarak da adlandırılan CCl₄ yapısında bir karbon(C) dört klor(Cl) bulundurur. Moleküler ağırlığı 153,8' dir. Berrak, renksiz kloroform benzeri kokusu olan CCl₄ suda çözünmez. Buharı ve sıvısı zehirlidir.

2.6.1. CCl₄ toksositesi ve yan etkileri

CCl₄ ile karşılaşma sonrası görülen yan etkiler değişkenlik göstermektedir. Birkaç ml CCl₄ inhale edilmesi ya da ağızdan alınması ölümle sonuçlanabilir. İnhalasyon ile alınması daha çabuk etki eder.

İrritan bir madde olan CCl₄ deride dermatide, aspirasyonu sonrasında pulmoner ödeme yol açar. Akut maruz kalmadan sonra görülen sık belirtiler arasında bulantı, kusma, karın ağrısı gibi sindirim sistemine ait bulgular ve baş ağrısı , baş dönmesi, uykuya meyil gibi sinir sistemine ait bulgular ön plandadır. Daha ileri aşamalarda konvülziyonlar, koma, solunum ve dolaşım baskılanması sonucu ölümler sonuçlanabilir. Ölüm ayrıca ventriküler aritmiler sonucu da olabilir. Karaciğer ve renal hücre nekrozları bir iki gün içerisinde çıkabilir. Bu hasardan çoğunlukla serbest radikal üretimi sorumludur. Böbrek hasarı oligüri, proteinüri, anüri, kilo kaybı ve ödeme kadar gidebilir. Karaciğer hasarı sonucunda anorexia, sarılık, hepatomegali belirgin bulgular arasındadır. Eğer hepatorenal nekroz fatal olmaz ise iyileşme tam olabilir.

Kronik zehirlenmede de akut zehirlenmelere benzer bulgular yanında, paraestazi, göz bozuklukları, anemi ve aplastik anemi ortaya çıkabilir (28). CCl₄ endüstride değişik alanlarda, kuru temizlemede sıkça kullanılmaktadır. Geçmişte antihelmintik ilaç olarak ta kullanılmıştır. Günümüzde toksik etkilerinden dolayı kullanılmamaktadır (5,28).

2.6.2. Hepatotoksik etkisi

CCl₄ en önemli toksik etkisi karaciğer üzerinedir. Ayrıca CCl₄ yağlı karaciğer modeli uygulanmasında deneysel model olarak kullanılmaktadır.

Hepatositler üzerine olan CCl₄'ün etkisi doz ve zamana bağlıdır. En belirgin histolojik bulgular arasında hepatik steatoz, sentrilobüler nekroz ve daha ileri olarak siroz yer alır (29). Karaciğer'in hepatik steatozu multifaktöryel bir olaydır. Lipoprotein salınımının blokajı fosfolipitlerin peroksidasyonu yada sentezinin bozulması hücre membranı üzerine alkil radikallerinin toksik etkileri ve metilasyon reaksiyonunda bozulma hepatik steatozun oluşmasında rol alırlar (4).

CCl₄ hücre membranlarını etkilemektedir. Mitokondrial membranda geçirgenlik artacağından mitokondrial fonksiyonlarda da bozulma meydana gelir. Mitokondrial enzimlerin fonksiyon görememesi krebs siklusunun bozulmasına yol açar (30). Ayrıca yapılan çalışmalar mitokondri membranında oksidatif fosforilasyonunda bozulduğunu göstermiştir (31). İntoksikasyonun erken evrelerinde özellikle Ca⁺⁺ iyonu yer değiştirdirir (32). ER'nun da etkilenen organeller arasında olduğu yapılan çalışmalar göstermiştir. EM

alışmalar ER sisternasının dilate olduğunu ve bu yapı ile bağımlı protein sentezinin inhibe olduğunu göstermektedir (30).

CCl₄ mikrozomlarının lipit yapılarını bozmakta ve intoksikasyonun erken evrelerinde peroksidatif değişlikler meydana gelmektedir. Fosfolipit sentezi bozulmakta ve toksik aldehytler ortaya çıkmaktadır (30,32). Lizozomlarında etkilendiği ve sonuçta lizozomal enzimlerin açığa çıktığı bir diğer görünüm bulgusudur (30).

Plazmada yer alan aminotransferaz (ALT), laktikasit dehidrogenaz (LDH) gibi enzimlerin aktivitelerinde artışa yol açar. Bu enzimler karaciğer hasarının önemli indikatrleridir (30).

CCl₄ en önemli etkisi karaciğer’de yağ birikimini artırmasıdır (30,32,33). Triglicerid birikimi sentez hızıyla trigliceridlerin dolaşıma verilmesi arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Karaciğer’de üretilen trigliceridin plazmaya verilememesi altta yatan majör mekanizma olduğu yıllardır yapılan çalışmalar sonucu bilinmektedir (30,32). Karaciğer’ de trigliceridlerin birikmesi, plazma lipit ve lipoproteinlerindeki azalmayla paralel gider. Bu olaylar CCl₄ uygulamasından 30 dk sonra başlar. Karaciğer trigliceridleri plazmaya verildiği zaman normalde lipoproteinlerle birleşir. CCl₄ ve etiyonin dolaşımdaki lipoproteinleri azaltacaktır. VLDL’nin en önemli görevi hepatik dokudan ekstrehepatik dokulara trigliceridleri taşımasıdır. CCl₄ lipoprotein oluşumunda özellikle protein sentezi kısmını etkilemektedir. Böylece VLDL sentezi bozulmaktadır (30). Recknagel’in (32) belirttiğine göre triglicerit sekresyonu ile meydana gelecek çiftlenme fazının muhtemelen etkilendiği ve böylelikle VLDL ile birleşme olmadığını söyleyebilir (32). EM alışmalar triglicerit birikmesi sonucu ER’da damlacıklar olduğunu göstermiştir. Bunlara daha sonra lipozom adı verilmiştir. Son zamanlarda mikrotübüllerde VLDL sentezinde rol aldığına yönelik çalışmalar olmuştur. Yağlı karaciğer oluşmasında bunlarında yer alabileceği düşünülmektedir. EM incelemeler CCl₄ uygulanmasından sonra sitoplazmada vakuollerin meydana geldiğini göstermiştir (30).

CCl₄’n bir diğer önemli hasar mekanizma yolu serbest radikaller üzerindedir (30, 32,33). Yüksek doz CCl₄ diğer klorlu organik çözücüler gibi fulminant hepatik nekroza yol açtığı hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir (30,34,35).

Birçok toksik madde toksisitesini reaktif toksik metabolitler yoluyla gösterir. Karaciğerdeki granülsüz ER’da yer alan P-450 fonksiyonlu oksidazlar bu işte görev alır. Serbest radikal oluşumu ile hücre hasarı meydana gelir CCl₄ toksik serbest radikali peroksidasyonu ile ER hızla yıkıma uçlar.

CCl₄'ün hepatik mikrozomal sitokrom P₄₅₀ üzerinden etki etmesi sonrası radikale dönüşerek hücre hasara yol açmasıdır. Burada meydana gelen radikal triklor metil peroksil radikalidir (CCl₃O₂). Bu madde membranlarda lipid peroksidasyonunu başlatarak hepatotoksisitede rol alır (33). 30 dk dan daha az bir sürede hem enzim hemde plazma proteinlerinin karaciğerdeki sentezi azalır. 2 saat içinde granülsüz ER şişer ve ribozomlar granüllü ER'dan ayrılır. Apoprotein sentezindeki yetersizlik lipoprotein sekresyonunu engeller ve trigliseridlerin karaciğerde atılımı bloklanmış olur. Sonuç karaciğerde trigliseridlerin birikmesidir (4). Bunu takiben meydana gelen mitokondrial hasar ATP üretimini bloklar, iyon taşınmasını bozar ve hücrenin şişmesine neden olur. Düz ER da lipid peroksidasyonu sonucu oluşan zararlı aldehytler hücre membranında daha fazla hasara yol açar. Membran bütünlüğünün bozulması hücre içine Ca⁺⁺ girişini arttırarak hücrenin ölümüne yol açabilir (4,31,32,34,35).

Uzun süreli CCl₄ maruz kalmalar sonucu meydana gelen hasarlar arasında karaciğer sirozu, deneysel model olarak kullanılmaya başlanmıştır. CCl₄ uygulanmasından 8-10 hafta sonra sıçanlarda deneysel olarak mikronodüler siroz, splenomegali, portal hiper tansiyon ve asit gözlenmiştir (34).

2.6.3. CCl₄ toksisitesine karşı kullanılan tedavi seçenekleri

Karaciğerde CCl₄ toksisitesine karşı uzun yıllardır birçok tedavi seçeneği denenmiştir. Bunlar arasında E vitamini (33) ve E vitamini ile birlikte selenyum (36) kullanılmış ve hepatosellüler dejenerasyonun CCl₄ uygulanan gruba göre daha hafif olduğunu göstermişlerdir. Polienilfosfatidil kolin CCl₄'ün yol açtığı sıçanlarda oksidatif stresi ve ilişkili fibroz ve sirozu engellemede ve geri dönüştürmede başarılı olmuştur (37).

Junnilla ve arkadaşları (29) ise yaptıkları çalışmada betaini başarı ile CCl₄ toksisitesine karşı kullanmışlardır. Yararlı etkileri görülen glukagon ve insülün tedavisi Masaki ve arkadaşları (38) tarafından CCl₄ toksisitesine karşı kullanılmış ve hepatotoksisiteyi artırdığı görülmüştür. Sitokrom P₄₅₀ bağımlı monooksijenaz sisteminin aktive olmasını bu olaydan sorumlu tutmuşlardır.

Farmakolojik dozlarda uygulanan melatonin de CCl₄'ün yol açtığı akut karaciğer hasarını engellemede başarılı olduğu bildirilmiştir (39). Hepatosit growth promot edici faktörü CCl₄ karaciğer toksisitesine karşı kullanılmış ve Ito hücrelerindeki farklılaşmanın ve santral venler etrafındaki fibroz gelişiminin engellediği gösterilmiştir (40).

Etanolamin CCl₄ toksisitesine karşı kullanılan bir diğer ajan olmuştur. Etanolamin fosfatidiletanolamin ve fosfatidilkolin sentezinde yer alır. Fosfatidiletanolamin ve fosfatidilkolin membran fosfolipitlerinin oluşumunda görev alarak membran yapısına

katılır. CCl_4 toksositesi triklorometil radikali ile (CCl_3) membranlarında lipit peroksidasyonuna yol açar. Fare karaciğerinde yapılan bir çalışmada (41) etanolamin uygulanarak CCl_4 intoksikasyonu sonrası tamir sürecini uyarmışlardır. Fare karaciğerinde yaptıkları bu çalışmayla etanolamini bir karaciğer prolifer edici faktör olarak değerlendirmişlerdir .

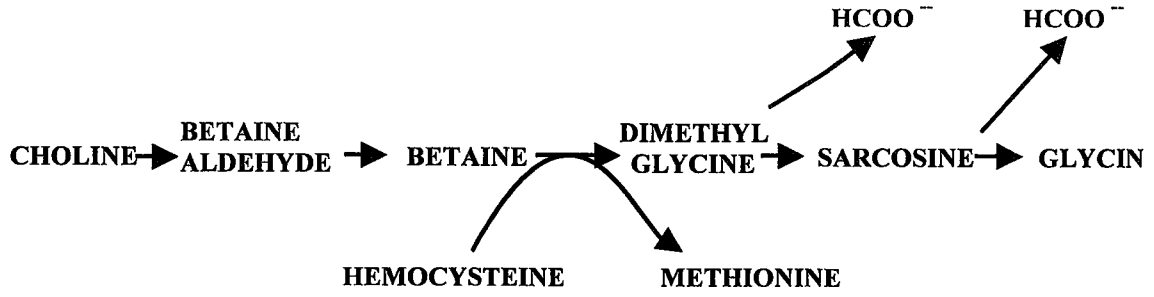
2.7. Betain ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$)

Betaine (1-karboksi-N,N,N-trimetil methanaminium), ilk kez şeker pancarı (beta vulgaris) ekstraktından ayrıştırılan ve yüzyıl önce Almanya'da Griess tarafından sentezlenen bir kimyasaldır (42,43).

Moleküler ağırlığı 117, 15 dir. Çözünürlüğü suda yüksek, metanol ve etanolda ise düşüktür (43). Betain, kolinin bir metabolitidir. Betainin iki kaynağı vardır. Bir tanesi kolinin metilasyonu, diğeri ise diyetle alınımıdır. Bitkiler yüksek miktarda betain içerirler (42). Mitokondride, kolinden betain iki basamakta meydana gelir. Birinci basamakta, kolin betain aldehyde dönüşür, ikinci basamakta ise betain aldehyd betaine okside olur ve kısmen sitoplazmaya diffüze olur (29,44).

Kolin vücutta 3 temel fonksiyon vardır. Birincisi, fosfatidilkolinin biyosentezine katılarak membran yapısında yer almasıdır (45). İkinci ve üçüncü metabolik fonksiyonları da asetil kolin sentezinde (46) yer alması ve betain yoluyla hareketli metil gruplarına kaynak olmasıdır. Kolinin, metil donorü olarak davranabilmesi için karaciğer mitokondrisinde betaine okside olması gerekir. Kolinin oksidasyonun sıçanlarda karaciğer ve böbrek mitokondrisinde gerçekleştiği gösterilmiştir (44). Kolinin betaine oksidasyonu, insanlarda sıçanlara göre daha azdır (29).

Daha sonra mitokondriden sitoplazmaya geçen betain, bir metil donörü olarak görev yapar. Karaciğerdeki transmetilasyon reaksiyonlarında betain böylelikle yer alır (44). Transmetilasyon reaksiyonları fosfatidilkolin sentezine sebep olur. Bu sentez hücre membranlarının bütünlüğü için hayati önem taşır (29). Betainin sağladığı serbest metil grubu karaciğerde homosisteinin metiyonine dönüştüğü transmetilasyon reaksiyonunda yer alır. Bu metilasyon reaksiyonu sıçan karaciğerinde iki mekanizma ile gerçekleşir. Sonuçta betaindeki bir metil grubu homosisteine verilir. Metiyoninin dokudaki folik asit kaynaklı olmayan diğer temin yolu budur. Yani betain kaynaklı homosisteinin metilasyonu tek alternatif kaynaktır (44). Betain şekilde gösterildiği gibi devam eden reaksiyonlar sonucu sarkozin ve glisine dönüşür



Şekil 1:(44) nolu kaynaktan değiştirilmeden alınmıştır.

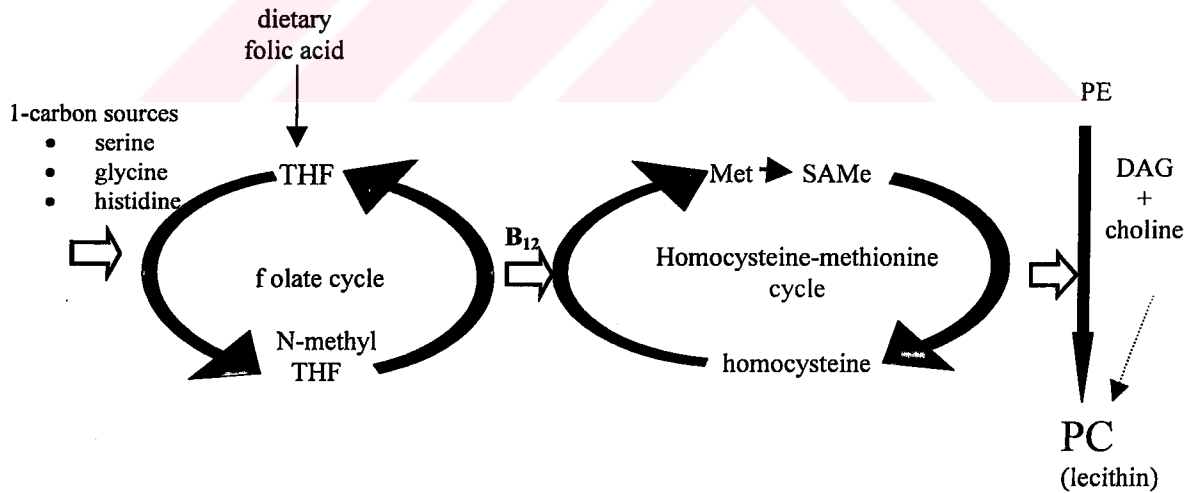
Metiyonin homosisteinden üretildikten sonra S-Adenozilmetyonin (SAM)'e metabolize olur (47). SAM vücutta anahtar fizyolojik metilleyici ajandır (29). Güçlü bir metil donörü olan SAM hücre membranının biyosentezinde görev alır. Fosfatidiletanolaminin fosfatidilkoline dönüştüğü reaksiyonda SAM görev almaktadır. Vücut fonksiyonları için transmetilasyon reaksiyonları önemlidir. Herhangi bir bozukluk birçok karaciğer hastalığına yol açabilir (47). SAM'ın sıçan karaciğerinde CCl₄'ün neden olduğu DNA hipometilizasyonunu önlediği açık bir şekilde gösterilmiştir. DNA hipometilizasyonu siroza neden olan mekanizmalardan biridir (29).

2.7.1.Betainin Lipotropik Etkisi ve Transmetilasyon

Betain, kolin ve metiyonin'in her üçünün de, karaciğer yağlanmasına karşı koruyucu etkiye sahip oldukları ve transmetilasyon reaksiyonlarında yer aldıkları gösterilmiştir (47). Betain lipotroplardan bir tanesidir ve transmetilasyon yoluna, SAM oluşumuna ve fosfolipit biyosentezine belirgin bir şekilde katkıda bulunur. Kolin eksikliği hepatik yağlanmaya sebep olur. Hepatik yağlanmadan intravenöz kolin desteği ile korunulabilir. İnsanlarda kolinin betaine oksidasyonunun ratlardan daha az etkilidir. Bu da insanlarda CCl₄ indüklediği karaciğer hasarının tıbbi tedavisinde kolinin daha az efektif olduğu manasına gelir (29).

Kolinin diyetteki eksikliği sıçan karaciğerinde de sentrilobüler yağlanmaya yol açar (47). Kolin hücre membranında fosfolipitlerin meydana gelmesinde önemli rol oynar. Kolin eksikliği ile hücre membran yapısı bozulur ve lipit oksidasyonu artar. Yapılan çalışmalar hepatosit kültüründe kolin eksikliğinden dolayı meydana gelen çok düşük moleküler ağırlıklı lipoprotein (VLDL) sekresyonundaki bozulmanın 0.2mµol betaine ile düzeltildiğini göstermiştir. Böylece betainin metil grubu fosfatidilkolin oluşmasında fosfatidiletanolamin metilasyonu ile yer almıştır (48). Sıçan karaciğerinde yüksek betain

seviyesi diyetteki kolin miktarının artırılmasıyla sağlanabilir (44). Yapılan çalışmalar kolinin aktif etkisini betain yoluyla yaptığını göstermiştir. İlk kez 1942 ve daha sonra 1969 yılında yapılan çalışmalar ile diyetteki betainin deneysel sirozu engellediği gösterilmiştir. Hayvanlarda yapılan çalışmalar betainin metil donörü olarak diyetle metionin eksikliği durumunda önemli yer aldığını işaret etmektedir. Betain karaciğerdeki yağ birikimini engellemektedir, yani lipotropik bir ajandır. Kolinin metil donörü olarak esansiyel olduğu anlaşılması ve diyetle kolin eksikliğinin yağlı karaciğer yol açtığı görülmesi betainin lipotropik özelliğini ispat edici diğer bir bulgudur. Gerçekte uzun süre total parenteral nitrasyon (TNP) ile beslenme yağlı karaciğer yol açarken bu olayda kolin eksikliği önemli yer tutar. Kolinin paranteral formülalara katılması ile hastalarda yağlı karaciğer oluşumunu engellemektedir. Kolinin majör fonksiyonlarından biri diaçil gliserol ile kombine olarak fosfatidilkolin (lesitin)'i meydana getirmektir. Fosfatidilkolin hücre membranının oluşmasında görev alır ve çok düşük moleküler ağırlıklı lipoprotein (VLDL)'in içeriğine katılır. VLDL sentezi yağlı karaciğerde yağı uzaklaştırır ve yetersiz fosfatidilkolin varlığında VLDL üretimi engellenir. Sonuç olarak fazla miktarda trigliserid karaciğer'de birikir (49). Betain genel metilasyon yollarında yer alır ve bu reaksiyonlar içerisinde fosfatidilkolinin fosfatidiletanolaminden meydana geldiği basamak en önemli metilasyon reaksiyonlarından biridir.



Şekil 2:(42) nolu kaynaktan değiştirilmeden alınmıştır.

Betain, homosisteinin metiyonine dönüştüğü metilasyon reaksiyonunda alternatif metil donörü olarak fonksiyon görür. Folat ya da Vit B₁₂'deki eksiklik sonucu meydana gelecek metilasyon reaksiyonundaki defekt betain ile kapatılabilir(44). Bu metabolik yoldaki tek alternatif metil grubu sağlayıcısı betaindir. Folat eksikliğinin olduğu durumlarda betainin

homosisteini metiyonine dönüştürmesi hayati önem taşır. Aynı zamanda betain SAM yerine fosfatidiletanolaminin direkt metilasyonu için metil donörü olabilir. Bu yol fosfatidil kolin formasyonu için alternatif bir yoldur. Bu iki fonksiyon ile betain metabolik olaylarda faydalı bir görev yapmış olur (42).

2.7.2. Osmoregülasyon ve Betain

Hücre için osmotik regülasyon hayati önem taşır. Normal koşullar altında hücre içi ve hücre dışı iyon dengesi hücrenin homeostazını sağlar ve hücrenin su kaybetmesini ve aşırı su almasını engeller. Hücrenin membran yapısında meydana gelen bozukluklar bu homeostazı bozan faktörlerdendir (50).

Osmotik regülasyon intrasellüler makromoleküllerinin optimal fonksiyonları için önemlidir. Örneğin; böbrek, karaciğer ve barsak hücreleri volüm artışı ve azalışının regülasyonunda osmotik olaylar ile karşı karşıya kalır. Bu regülasyon sırasında iyonların ve suyun taşınmaları gerçekleşir (51). İnorganik iyonlar düşük moleküler ağırlıklı organik solitler yanında bazı aminoasitler ve metil aminlerde osmotik aktivitede görev alırlar. Betain değişik yaşam formlarında organik osmolit olarak görev yapar. Vertebralılarda betain birikimi renal hücrelerde (52) ve makrofajlarda (53,54) eksternal hiperosmolarite ile uyarılır. Betainin ayrıca organik osmolit olarak sıçan karaciğer sinüzoidal epitel hücrelerinde (55,56) karaciğer hepatik stellat hücrelerinde (57) görev yaptığı gösterilmiştir. Betain intrasellüler proteinleri hipertonisitenin indüklediği denatürasyondan koruyabilir. Betain organik uyumlu osmolit olarak görev alır. Konsantrasyon gradiyentine karşı transport edilir ve hamster intestinal dokusunda birikir. Böylece indirekt olarak betain sodyum (Na^+) bağımlı olarak alınır. Betain iki tane taşıyıcı sisteme bağlıdır. Birincisi; aminoasit taşıyıcı sistem A, diğeri betain gaba transport edicidir. Kettunen ve arkadaşları (52) yaptıkları çalışmalarda diyetle kullanılan betainin ile intestinal dokulardan hiperosmotik ortama su kaybının azaltıldığını göstermişlerdir (52). Hiperosmotik ortama maruz bırakılan hücre kültüründe elde edilen Kupffer hücrelerinin fonksiyonu betain uygulanması ile korunmuştur (47).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 6 aylık, Sprague Dawley cinsi, 20 adet dişi (150-240 g) sıçan kullanıldı. Sıçanlar 10 gün süresince, havalandırması olan, mevsimsel gün ışığı ritmindeki odalarda, özel kafesler içinde, standart sıçan pellet yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Gün aşırı içme suları değiştirildi ve kafes temizliği yapıldı. Rastgele seçilen deneklerden aşağıdaki gruplar oluşturuldu.

Denekler 22 ± 3 oda sıcaklığında, $50 \pm 10\%$ nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ayarlanmış odaya yerleştirildi. Hayvanlar birbirini görecektir şekilde şeffaf olan ayrı kafeslere alındı. Bütün hayvanlar deneye başlamadan önce, adaptasyonlarının sağlanması açısından, bir hafta süre ile aşağıdaki işlemlere tabi tutuldular.

Kontrol grubu (K) (n:5): Özefagial entübasyon ile 0.7 ml/gün çeşme suyu verildi ve 1 ml/kg/gün zeytin yağı subkutan (SC) olarak uygulandı.

Betain grubu (B) (n:5): Özefagial entübasyon ile 830 mg/kg/gün betain 0.7 ml çeşme suyunda çözülerek, konsantre betain solüsyonu verildi ve 1 ml/kg/gün zeytin yağı SC olarak uygulandı.

Karbon Tetraklorür grubu (C) (n:5): Özefagial entübasyon ile 0.7 ml/gün çeşme suyu verildi ve 1 ml/kg/gün zeytin yağı SC olarak uygulandı.

Betain + Karbon Tetraklorür grubu (BC) (n:5): Özefagial entübasyon ile 830 mg/kg/gün betain 0.7 ml çeşme suyunda çözülerek, konsantre betain solüsyonu verildi ve 1 ml/kg/gün zeytin yağı SC olarak uygulandı.

Deneye 7. gün sonunda başlandı. Hayvanların ağırlıkları kaydedildikten sonra, 4 günlük deney süresince gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı:

Kontrol grubu (K) (n:5): Özefagial entübasyon ile 0.7ml/gün çeşme suyu verildi ve 1 ml/kg/gün zeytin yağı SC olarak uygulandı.

Betain grubu (B) (n:5): Özefagial entübasyon ile 830 mg/kg/gün betain 0.7 ml çeşme suyunda çözülerek, konsantre betain solüsyonu verildi ve 1ml/kg/gün zeytin yağı SC olarak uygulandı.

Karbon Tetraklorür grubu (C) (n:5): Özefagial entübasyon ile 0.7ml/gün çeşme suyu verildi ve 1 ml/kg/gün CCl_4 SC olarak uygulandı.

Betain + Karbon Tetraklorür grubu (BC) (n:5): Özefagial entübasyon ile 830 mg/kg/gün betain 0.7 ml çeşme suyunda çözülerek, konsantre betain solüsyonu verildi. 1 ml/kg/gün CCl_4 SC olarak uygulandı.

Gruplardaki tüm sıçanlar deneyin 4.günü, ağırlıkları kaydedildikten sonra, dekapite edildi. Sıçanların karaciğerleri zedelenmeden çıkarıldı. Karaciğerler makroskopik incelenmeden sonra, tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Bütün deneklerde karaciğerin aynı bölgesinden olacak şekilde alınan doku parçaları küçük parçalara ayrılarak %10'luk nötral tamponlu formalin (NTF), bouin ve formol- alkol tespitlerine konuldu. Ayrıca bir parça dokudanda frozen kesitler alındı. Dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden sonra dokular parafine gömüldü. Mikrotomla 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı, deparafinizasyon ve rehidrasyon aşamalarından sonra dokulara Hematoksilen-Eozin (58), Crossman'ın üçlü boyası (58), Best's carmine (58), Toluidin blue (58), Humason'un gümüşleme boyası (59) ve Verhoeff (60) boyama metodları uygulandı. 8-10 µm kalınlığındaki frozen kesitlere Oil Red O (58) boyama metodu uygulandı.

Boyanan preparatlar Olympus BH2, geniş sahalı araştırma mikroskobu ile incelenerek fotoğrafları çekildi.

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Yöntemler

Deneyde kullanılan sıçanların total vücut ağırlıkları ile karaciğer ağırlıklarına ilişkin istatistiki bilgiler Tablo 1 'de verilmiştir.

Tablo 1. Kontrol, Betain, CCl₄ ve CCl₄ + Betain gruplarının vücut ve karaciğer ağırlıkları (aritmetik ortalama $\pm$ ortalama standart hata)

	Kontrol	Betain	CCl ₄	CCl ₄ + Betain
Vücut Ağırlıkları	212 $\pm$ 10.67	192 $\pm$ 11.02	189 $\pm$ 10.41	194 $\pm$ 9.27
karaciğer Ağırlıkları	7.76 $\pm$ 0.68	7.04 $\pm$ 0.34	8.15 $\pm$ 0.37	8.32 $\pm$ 0.31

P > 0.05, Kruskal – Wallis Test

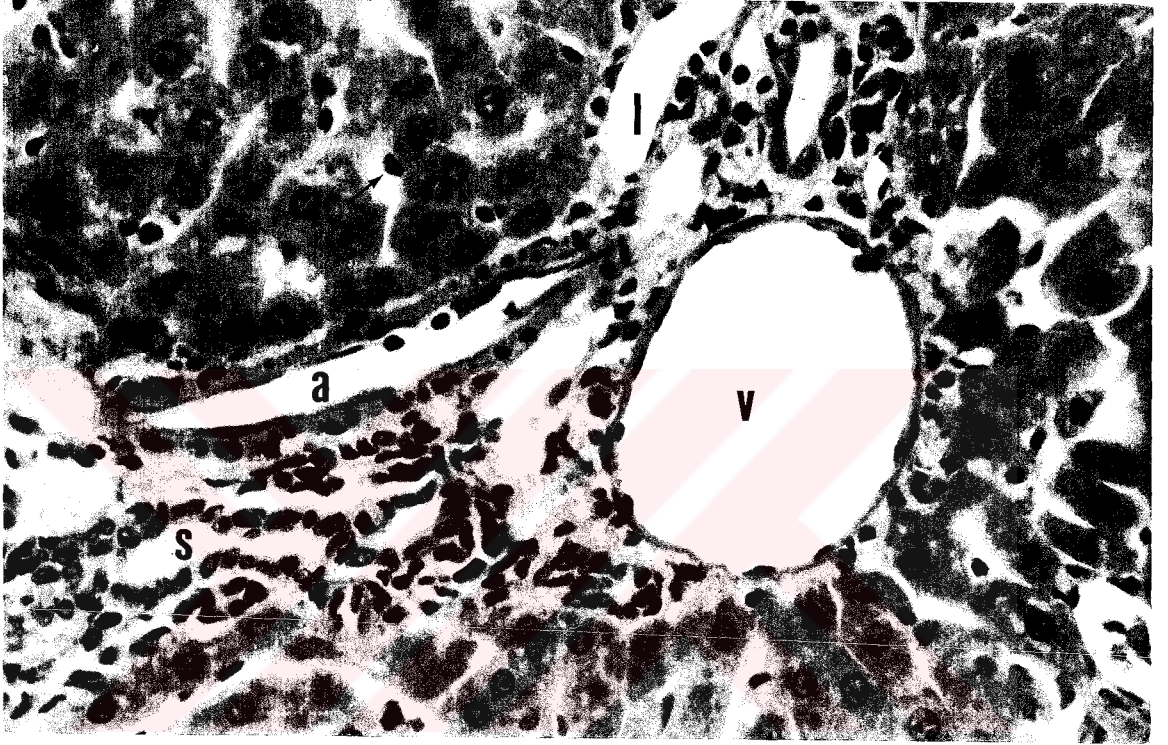
Dört grubun vücut ve karaciğer ağırlıkları aritmetik ortalama $\pm$ ortalama standart hata olarak hesaplandı. İstatiksel inceleme Kruskal – Wallis Test ile yapıldı. Gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (p > 0.05).

4.2. Histolojik Bulgular

Kontrol Grubu:

Kontrol grubunda sıçanların karaciğer dokusu beklenen histolojik görünümü arz ediyordu. Klasik lobül sınırları birbirlerinden kolaylıkla ayırt edilemeyecek şekilde, oldukça ince bağ dokusu ile ayrılmıştı. Bağ dokusu sadece portal alanlarda belirgindi. Bu alanda; hepatik arter, portal ven, safra kanalları ve lenf damarları normal görünümünde izlendiler (Resim 1,2). Crossman'ın üçlü boyama yöntemi ile portal alanın kollagen lifleri mavi renkte boyandı. Parankimanın hepatositlerinin bazıları homojen ve koyu pembe boyandı. Bazı hepatositlerin sitoplazmalarında pembe renkte boyanan granüller izlendi (Resim 2).

Portal alanların bağ dokusu, bağ dokusu hücrelerini, kollagen lifleri ve az miktarda elastik lifleri içeriyordu. Özel boyama yöntemleri ile kollagen, elastik ve retikulum lifleri boyanarak incelendi (Resim 2,3). Gümüşleme yöntemi ile kollagen lifler mavi, elastik lifler kırmızı, retikulum lifleri ise siyah renkte boyandılar (Resim 3).



Resim 1. Kontrol grubu. Portal alanda; hepatik arter (a), portal ven (v), safra kanalı (s), lenf damarı (l) kesiti izleniyor. Sinuzoid duvarında Kupffer hücreleri (oklar) görülüyor. H&E, X132

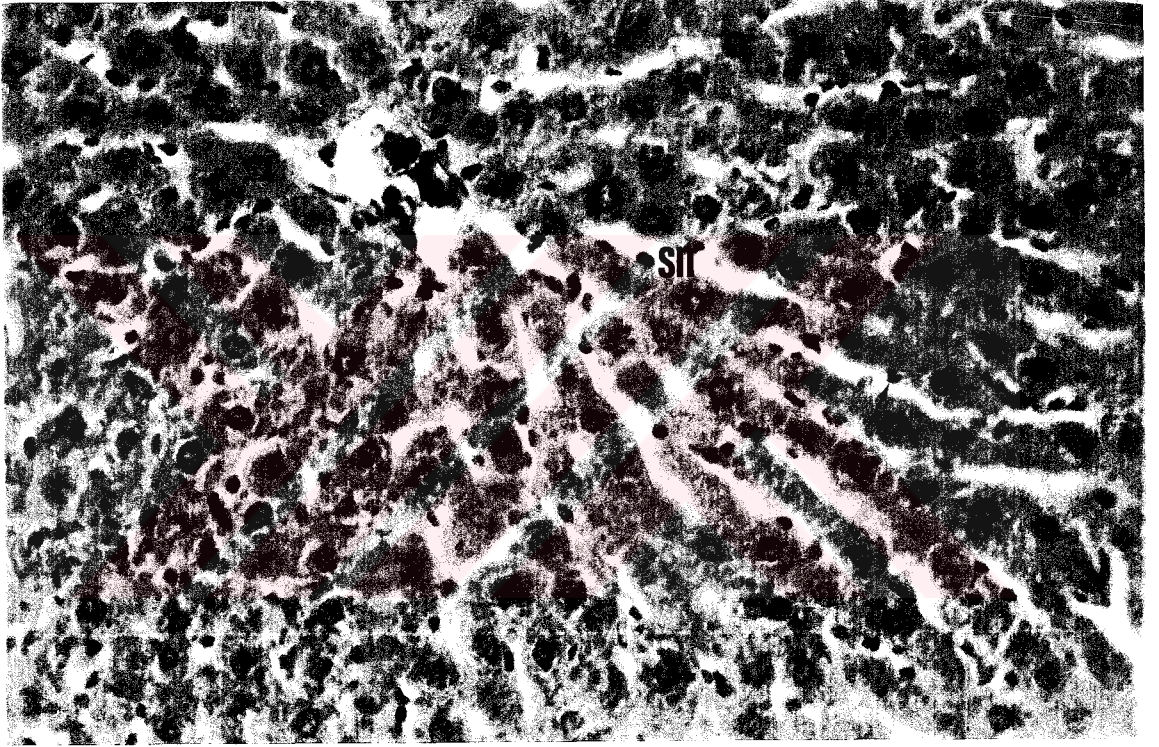


Resim 2. Kontrol grubu. Portal alanda; hepatik arter (a), portal vena (v), safra kanalı (s) görülüyor. Sitoplazması koyu pembe boyanan hücreler (ok), sitoplazmalarında pembe granüller izlenen hücreler (*) gözleniyor. Portal alanın kollagen lifleri mavi renkte görülüyor. Crossman'ın üçlü boyası, X132



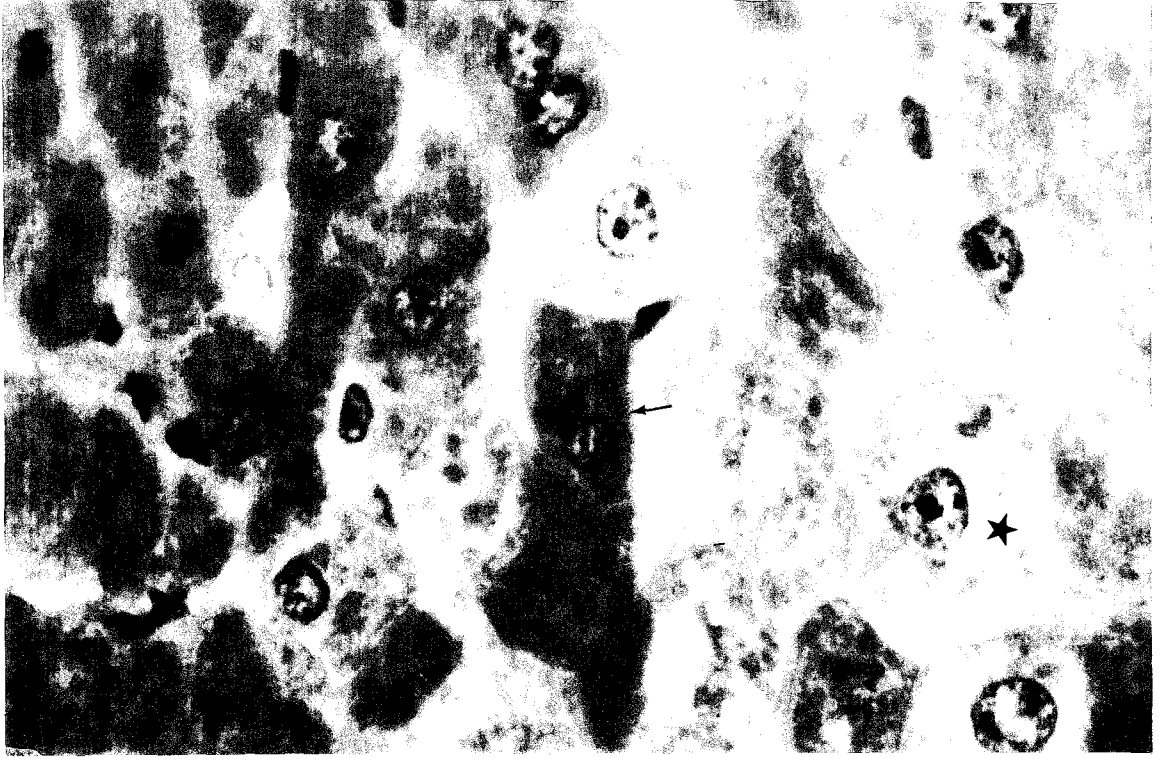
Resim 3. Kontrol grubu. Portal alanın mavi boyanmış kollagen, kırmızı boyanmış elastik ve siyah boyanmış retikulum liflerinden oluşan bağ dokusu içinde hepatik arter (a), portal ven (v), safra kanalı (s) görülüyor. Sinüzoid duvarında ince, retikulum lifleri izleniyor. Humason'un Gümüşleme boyası, X132

Klasik karaciğer lobüllerini vena sentralisten perifere doğru ışınsal şekilde ilerleyen bir veya iki hücre genişliğinde hepatosit dizileri (Remark kordonları) ve bu diziler arasında uzanan sinüzoidler oluşturmuştu (Resim 4). Sinüzoid duvarlarında Kupffer hücreleri izlendi (Resim 1,4). Hematoksilen eozin boyama yöntemi ile asidofil boyanan poligonal şekilli hepatositler, hemen hemen eşit büyüklükteydi. Bu hücrelerin bazıları çift çekirdekliydi (Resim 4).



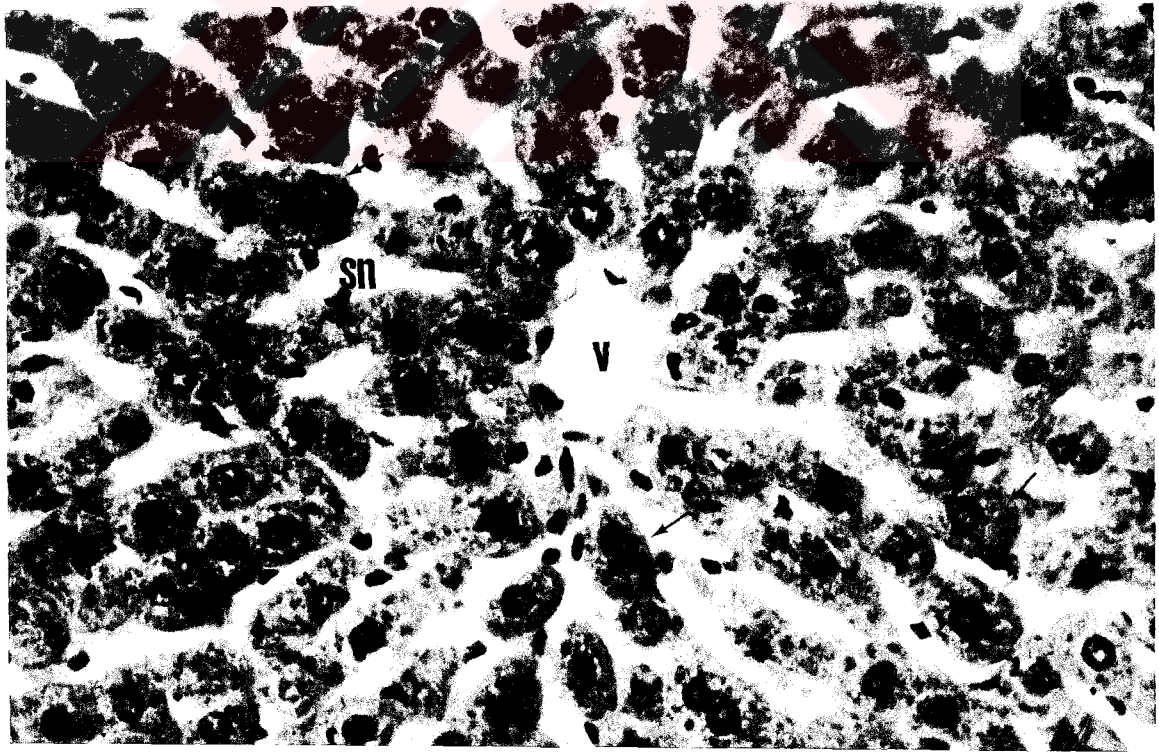
Resim 4. Kontrol grubu. Vena sentralisten (v) perifere ışınsal tarzda ilerleyen hepatosit kordonları ve sinüzoidler (sn) ve sinüzoid duvarında Kupffer hücreleri (oklar) izleniyor. H&E, X100

Crossman'ın üçlü boyama yöntemiyle sitoplazmaları daha koyu ve daha açık pembe boyanan ve granüler sitoplazmaya sahip hepatositler vardı (Resim 2, 5).



Resim 5. Kontrol grubu. Sitoplazması koyu pembe hücreler (ok), açık pembe hücreler (*) izleniyor. Crossman'ın üçlü boyası, X330

Best Carmen boyama yöntemi ile hepatositlerin glikojen içeriği kırmızı renkte boyandı. Ancak yine bazı hücrelerin daha koyu renkte boyandığı izlendi (Resim 6).



Resim 6. Kontrol grubu. Vena sentralis (v), sinuzoidler (sn), glikojen içeren hücreler (oklar) izleniyor. Best carmen boyası, X132

Toluidin blue boyama yöntemi ile bağ dokusu içinde çok nadir mast hücresi gözlemlendi.

Oil red O boyama yöntemi ile hepatositlerde nadiren küçük yağ damlalarına rastlandı.

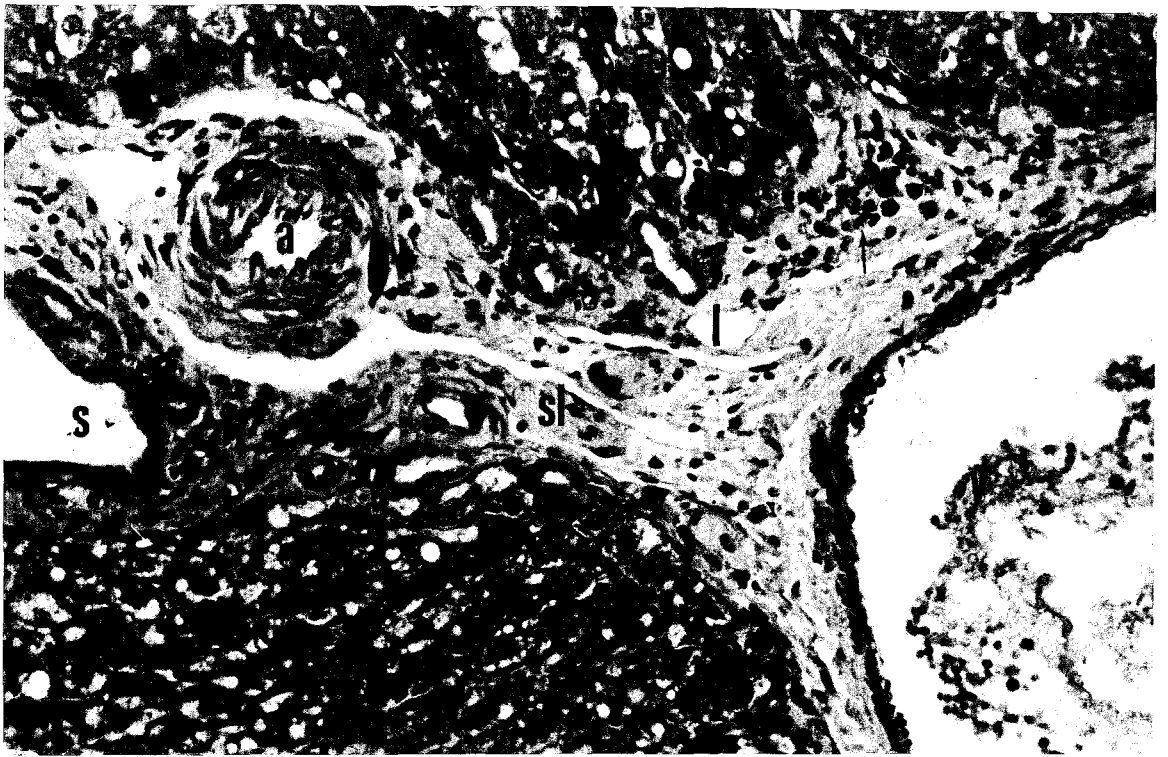
CCl₄ Grubu

CCl₄ uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda ışık mikroskopik düzeyde tesbit ettiğimiz histolojik bulgular başlıca aşağıdaki gibiydi.

CCl₄ grubunda göze çarpan ilk değişiklik bağ dokusu artışı ve hücre infiltrasyonuydu. Portal alanlar bağ doku artışı nedeniyle ileri derecede genişlemiş, yer yer lobüler görünüm kazanmıştı. Portal alanlardaki bağ dokusu artışı nedeni ile klasik karaciğer lobülleri bozulmuştu. Portal alanların bağ dokusu içinden çok sayıda değişik büyüklüklerde safra kanalı kesiti izlendi (Resim 7,8). Portal ven kontrol grubundan daha geniş izlendi (Resim 8).

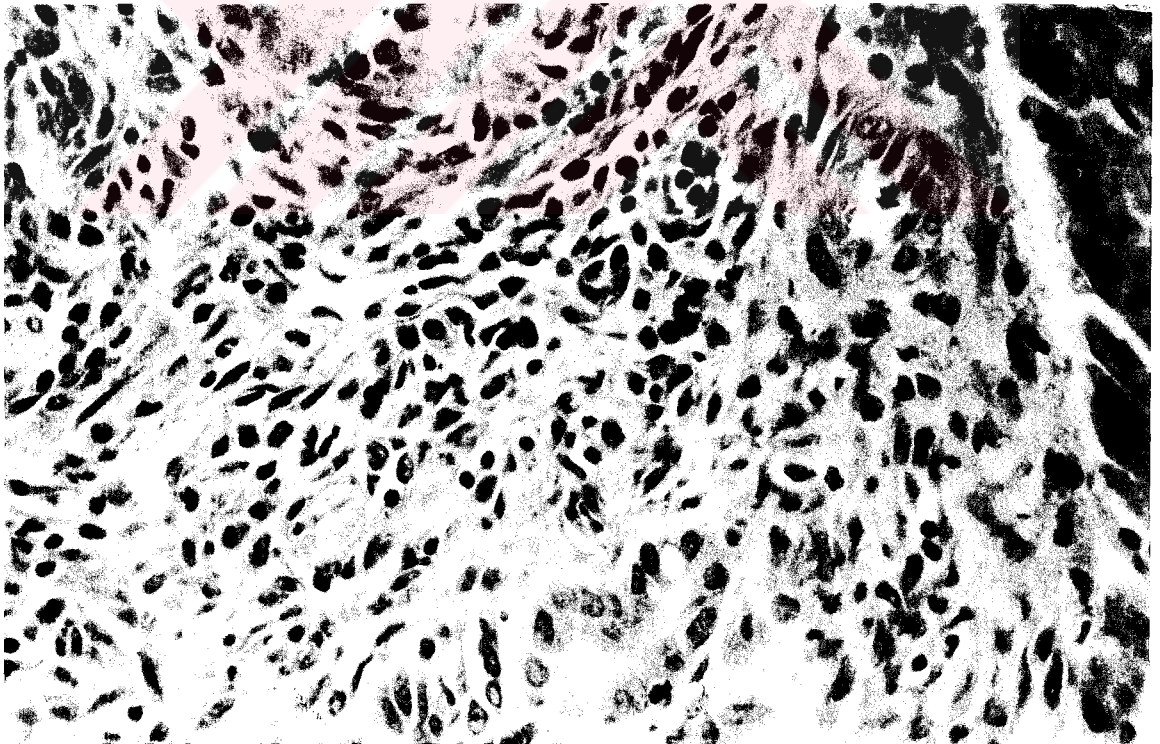


Resim 7. CCl₄ grubu. Portal alanlarda bağ dokusu artışı nedeni ile genişleme; klasik lobül yapısında bozulma izleniyor. Hücre infiltrasyonu izlenen bağ dokusu içinde çok sayıda hepatik arter (a), safra kanalı (s), vena porta (v) ve lenf damarı (l) kesiti görülüyor. H&E, X66



Resim 8. CCl₄ grubu. Portal alanda bağ doku artışı izleniyor. Portal alan bağ dokusu içinde genişlemiş portal ven (v), hepatik arter (a), safra kanalı (s), lenf damarı (l), sinir lifi kesitleri (sl) ve hücre infiltrasyonu (ok) gözlemlendi. Crossman'ın üçlü boyası, X66

Portal alanların artmış bağ dokusu içinde mononükleer ve eozonofilik hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 9).



Resim 9. CCl₄ grubu. Portal alan bağ dokusunda artış ve mononükleer ve eozonofilik hücre infiltrasyonu izleniyor. Bağ dokusu içinde hepatik arter, safra kanalı, lenf damarı görülüyor. H&E, X132

Portal alan bağ dokusundaki kollagen lif artışı belirgindi (Resim 7-11). Hepatik arter duvarında oldukça güçlü bir lamina elastika interna ve portal venanın mediası içinde 2-3 sıralı elastik membranlar dikkati çekti (Resim 10,11). Ayrıca portal ven genişlemesi dikkat çekiciydi (Resim 8,10).

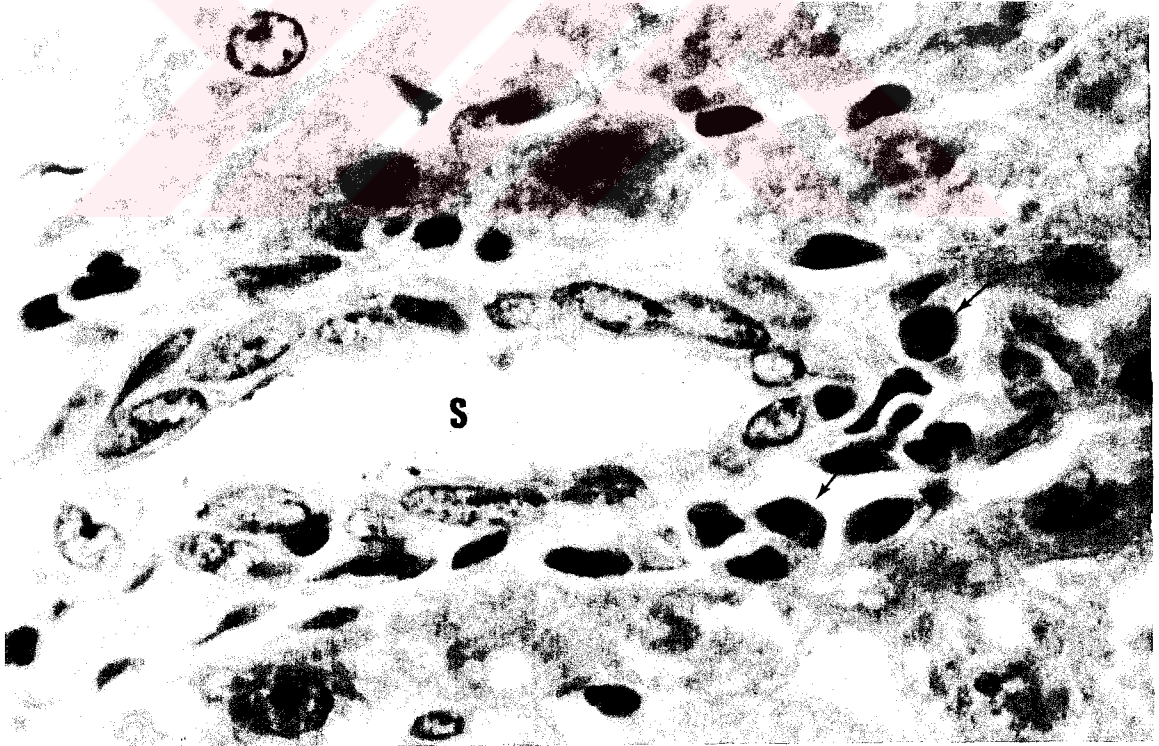


Resim 10. CCl₄ grubu. Portal alanda artmış kollagen lifler mavi renkte izleniyor. Hepatik arter duvarında kırmızı boyanan membrana elastika interna ve portal venin mediasında kırmızı boyanan 2-3 sıralı elastik membranlar gözleniyor. Portal ven geniş gözleniyor. Humason'un Gümüşleme boyası, X132



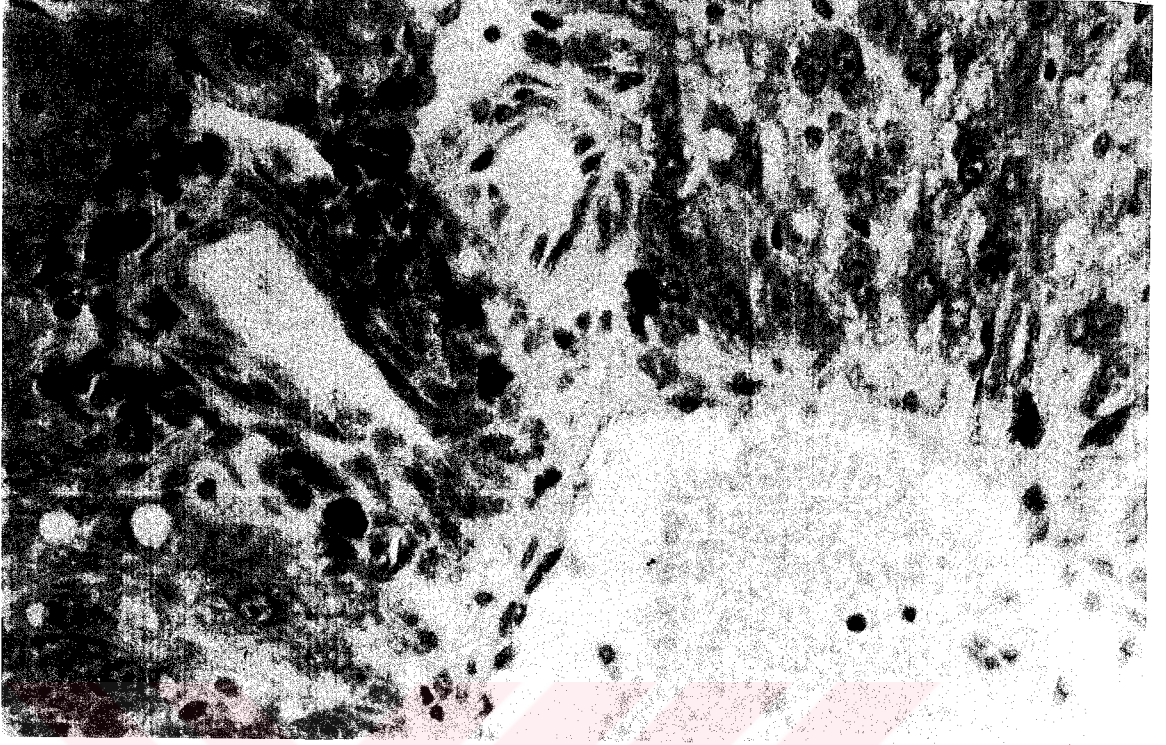
Resim 11. CCl₄ grubu. Portal alanın bağ dokusunun kollagen lifleri kırmızı renkte izleniyor. Bağ dokusu içinde hepatik arter (a), portal ven (v), safra kanalı (s), lenf damarı (l) izleniyor. Verhoeff boyası, X132

Portal alanlarda yer alan safra kanallarının epitelinde yer yer yassılaşıma izlendi. Portal alanların bağ dokusu içinde asidofil sitoplazmalı, oval veya poligonal şekilli hücre gruplarına rastlandı (Resim 12).

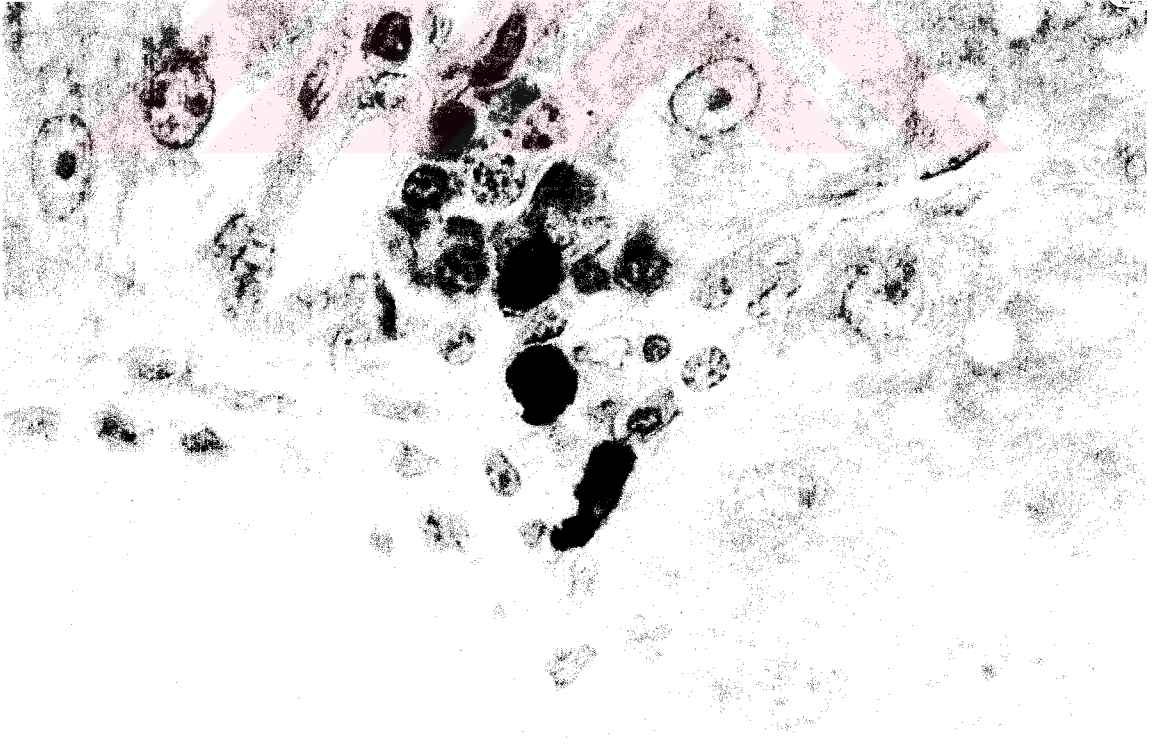


Resim 12. CCl₄ grubu. Kanal (s) epitelinde yassılaşıma görülüyor. Safra kanalı çevresinde bağ dokusu içinde asidofil sitoplazmalı, oval veya poligonal şekilli hücre grupları gözleniyor (oklar). H&E, X330

Kontrol grubunda nadiren izlediğimiz mast hücrelerini CCl₄ grubunda portal alanlarda sıkca izledik (Resim 13,14).

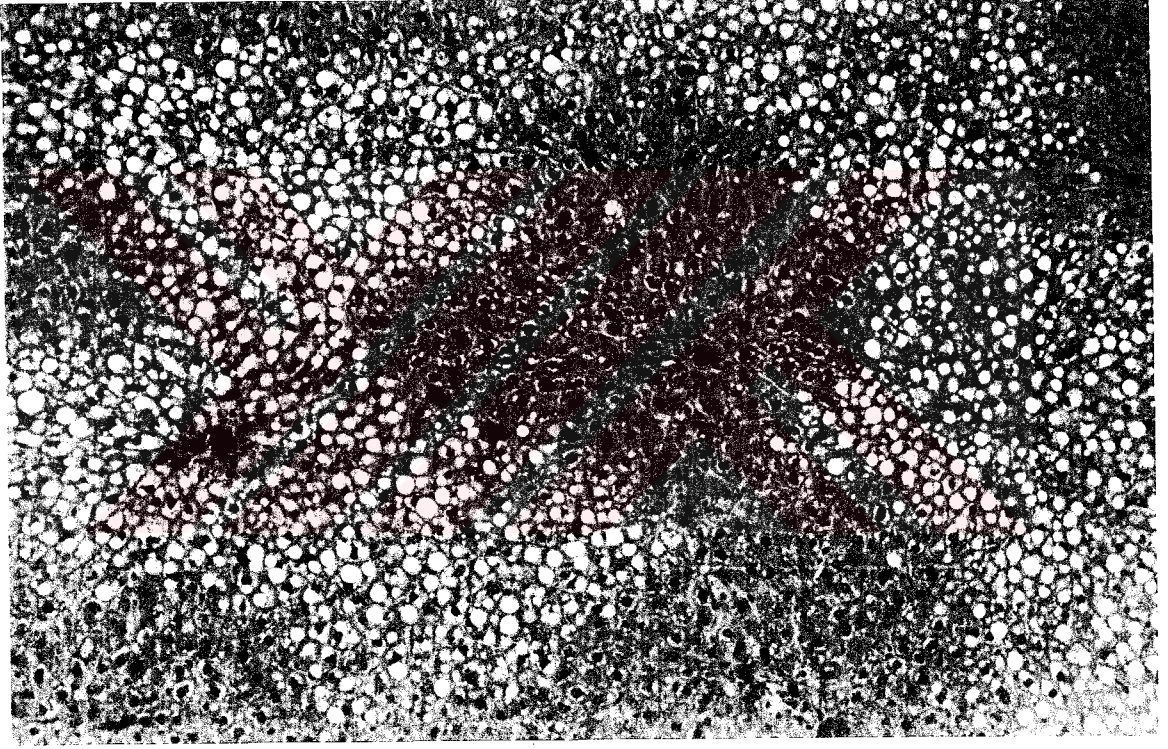


Resim 13. CCl₄ grubu. Mast hücre sayısında artış izleniyor. Toluidin mavisi, X132

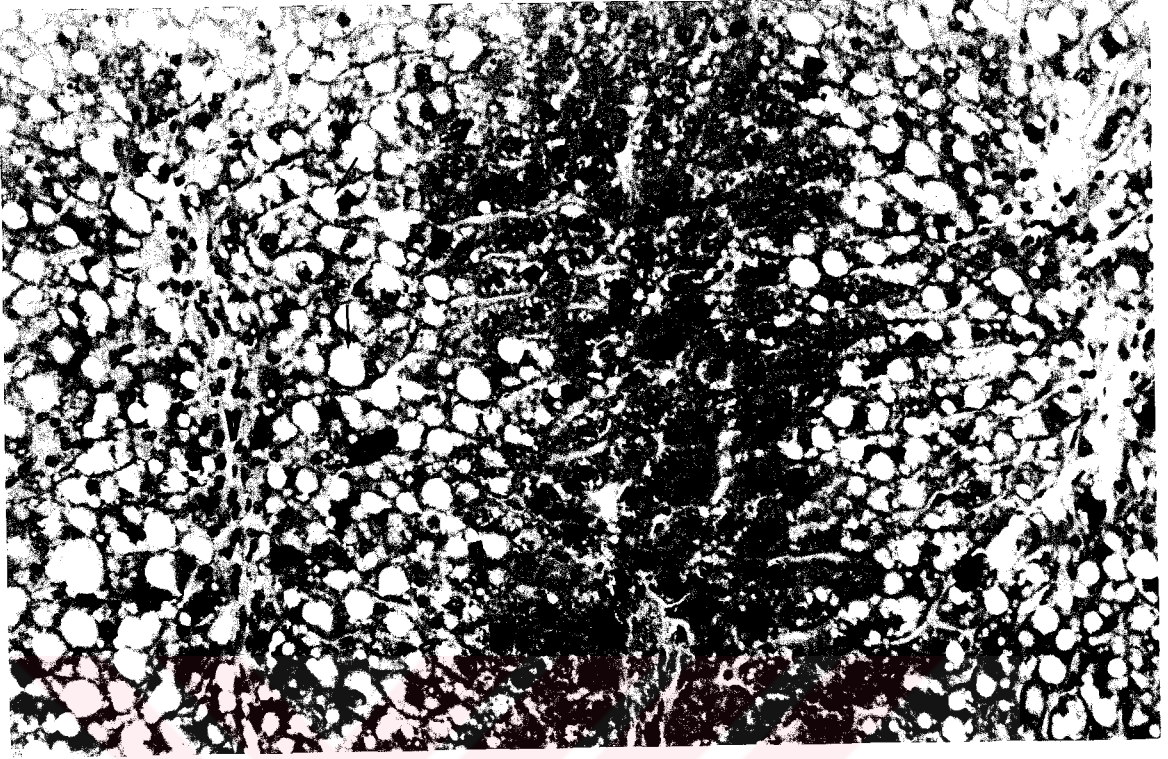


Resim 14. CCl₄ grubu. Portal alanda metakromatik granüllü mast hücreleri görülüyor. Toluidin mavisi, X330

CCl_4 grubunda saptadığımız en belirgin değişikliklerden biri hepatosit vakuolizasyonuydu. Hepatositlerin sitoplazmalarında çok sayıda değişik büyüklükte vakuoller bulunmaktaydı. H&E boyama yöntemiyle şeffaf izlenen bu vakuollerin yer yer sitoplazmayı tamamen dolduracak büyüklüğe ulaştığı gözlemlendi. Vakuolizasyon özellikle santral ven çevresindeki hepatositlerde belirgindi. Portal alanların çevresindeki hepatositler nadiren küçük vakuoller içeriordu (Resim 15,16). Bu vakuoler yapıların lipid damlaları olabileceği düşünüldü.

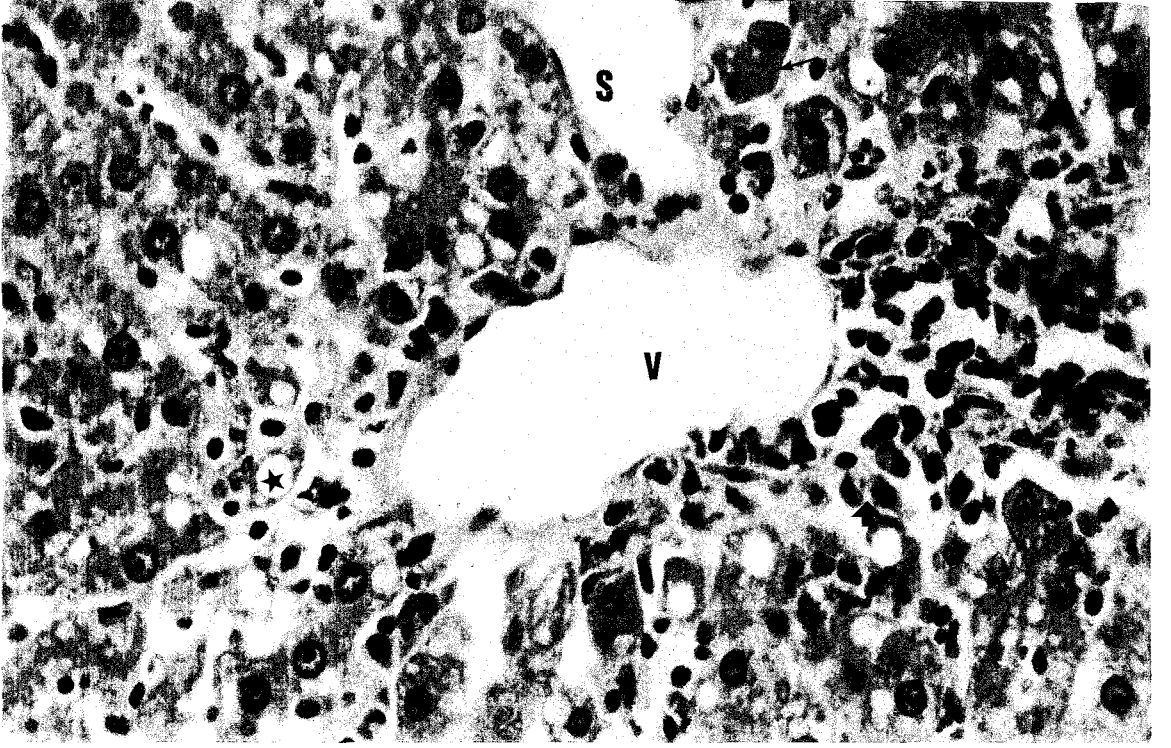


Resim 15. CCl_4 grubu. Vena sentralis (V), çevresindeki hepatositlerde değişik büyüklüklerde vakuoller izleniyor. Lobulün periferindeki hepatositlerde nadir, küçük vakuoller görülüyor. H&E, X33

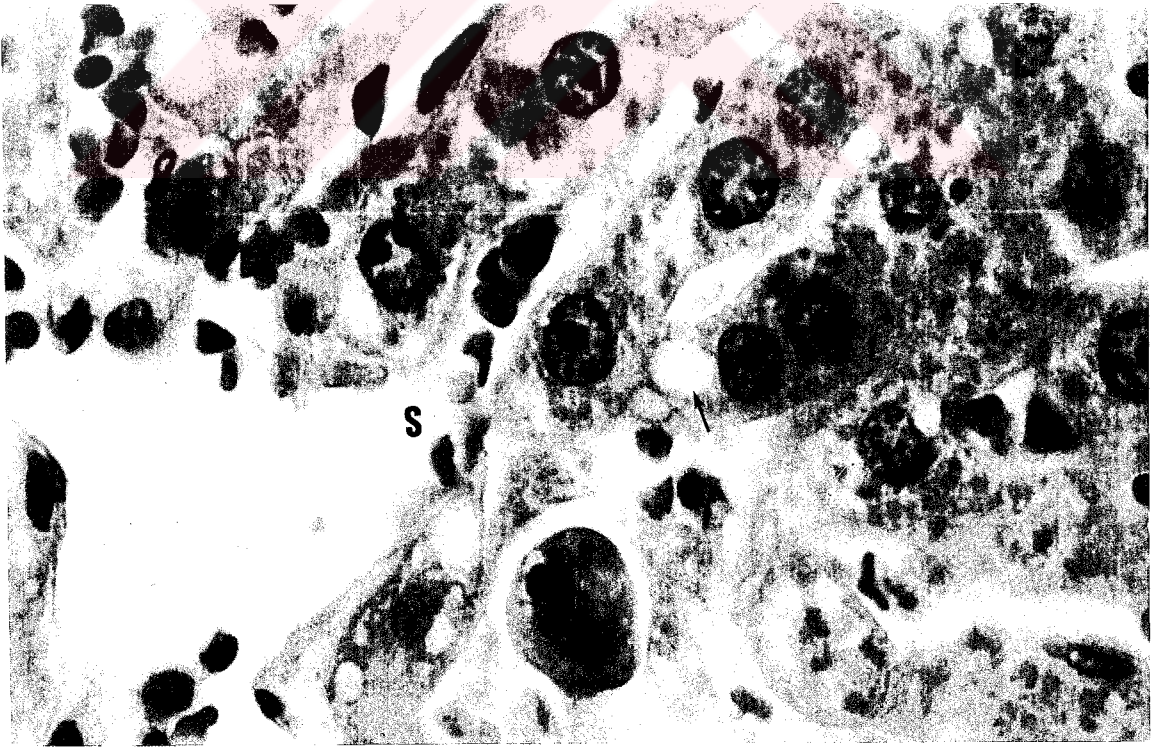


Resim 16. CCl_4 grubu. Vena sentralis (V) çevresinde hepatositlerde belirgin vakuolizasyon görülüyor (oklar). Crossman'ın üçlü boyası, X66

Bu grupta vena sentraliste ve sinüzoidlerde dilatasyon belirgindi. Hücre dejenerasyonu, apopitoz ve hücre infiltrasyonu nedeni ile hepatosit kordonları düzensizleşmişti. Yer yer santral venden periferi doğru olması gereken ışınal dizilim izlenmiyordu (Resim 17,18). Santral ven çevresinde daha önce portal alanda izlediğimiz hücrelere benzer, asidofil sitoplazmalı, oval veya poligonal hücre grupları gözlendi (Resim 17).

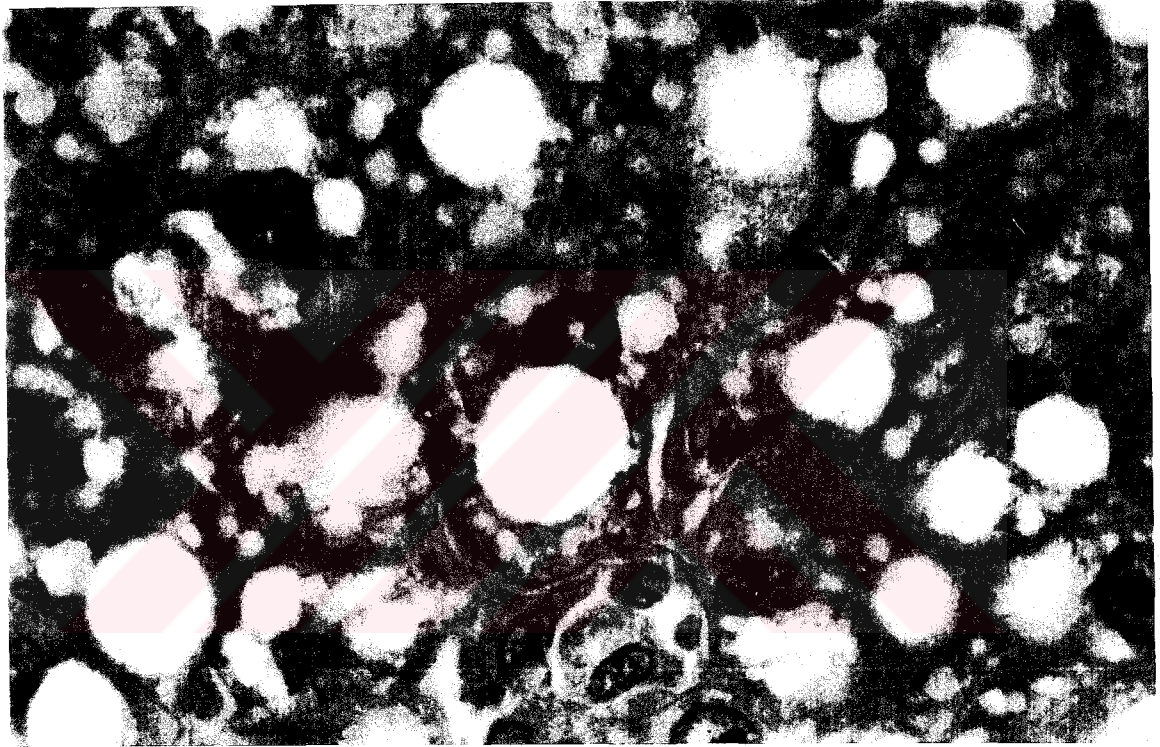


Resim 17. CCl_4 grubu. Vena sentralis (V) ve sinuzoidlerde (s) genişleme, hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon (*), apoptoz (ok), hücre infiltrasyonu (kalın ok) izleniyor. H&E, X132

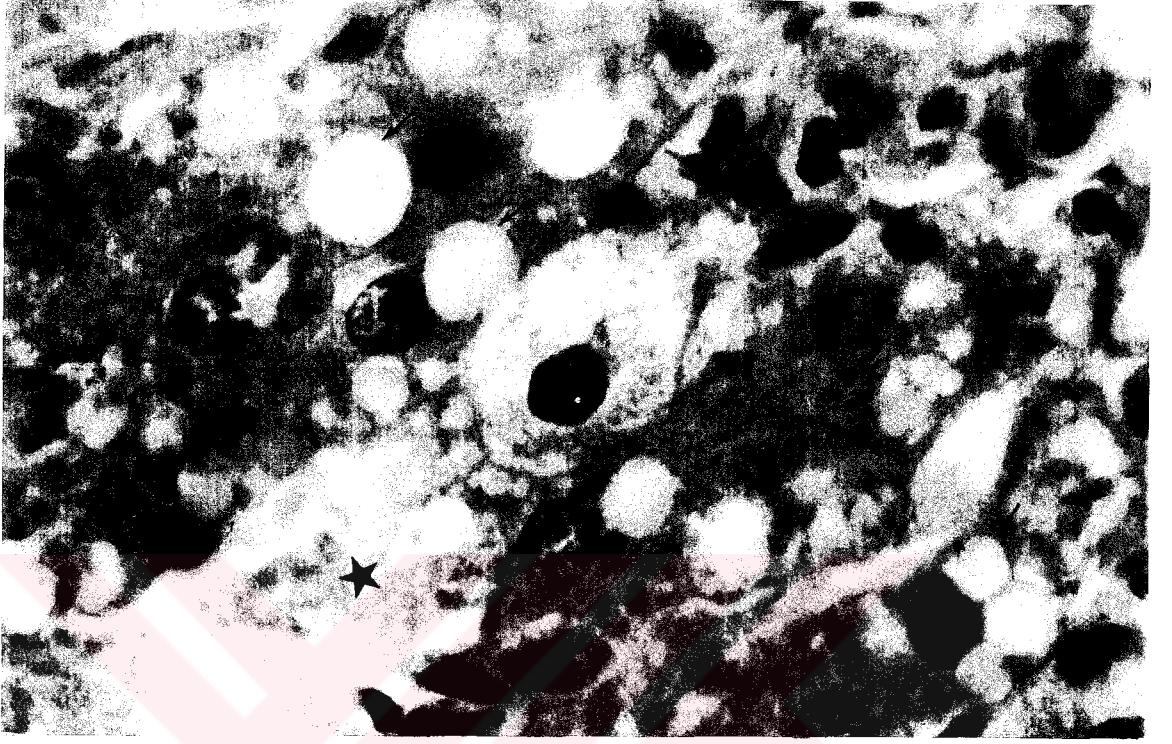


Resim 18. CCl_4 grubu. Genişlemiş sinuzoidler (s), hepatositlerde vakuolizasyon (ok) ve apoptotik cisimcikler (*) izleniyor. H&E, X330

Hepatosit sitoplazmasında yer alan vakuoller değişik büyüklükteydi. Bazı vakuollerin hücreyi hemen hemen tamamen dolduracak büyüklüğe ulaştığı ve yer yer nükleusun şeklini değiştirerek hücrenin bir kenarına itmiş olduğu gözlemlendi. Sitoplazmada biriken vakuollerin sayı ve büyüklüğüne bağlı olarak hücre büyüklükleri de birbirinden farklıydı (Resim 19,20). Vakuolizasyon gösteren hepatositlerin yanısıra nekroz alanları izlendi (Resim 20).

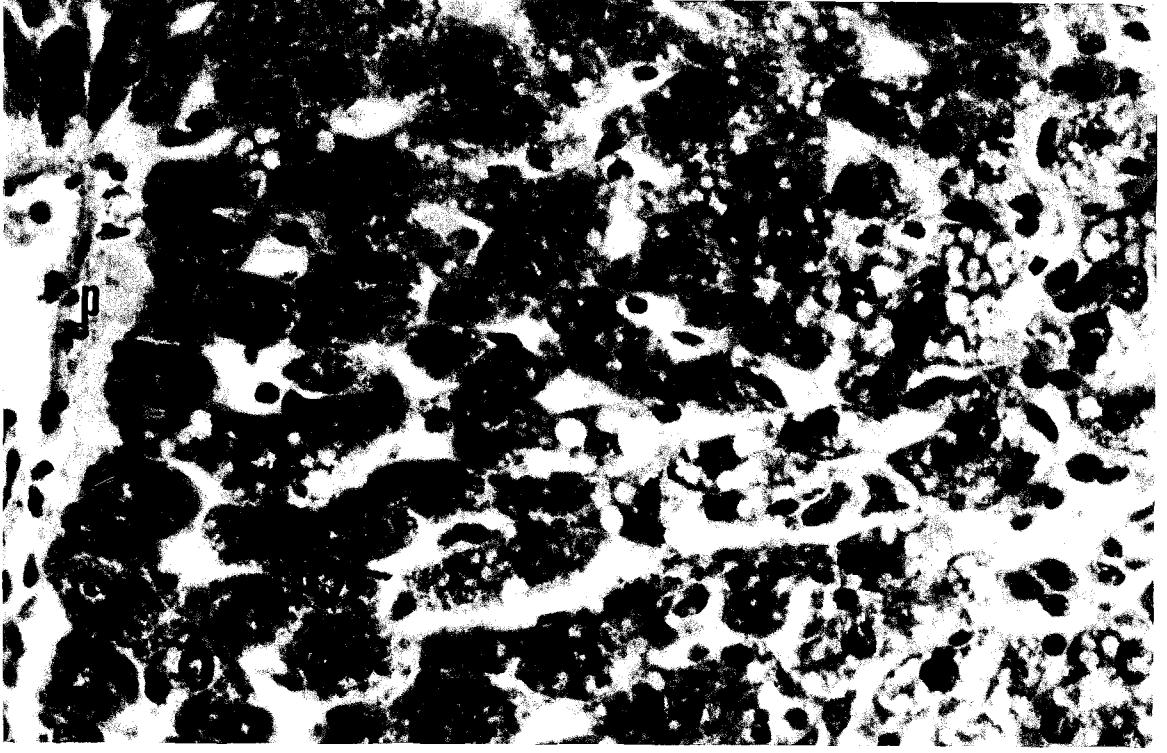


Resim 19. CCl₄ grubu. Hepatosit sitoplazmalarında değişik büyüklük ve sayıda vakuoller izleniyor. Hücrenin hemen hemen tamamını dolduran büyük vakuollerin nükleus şeklini bozarak hücrenin bir kenarına ittiği gözleniyor (ok). H&E, X330

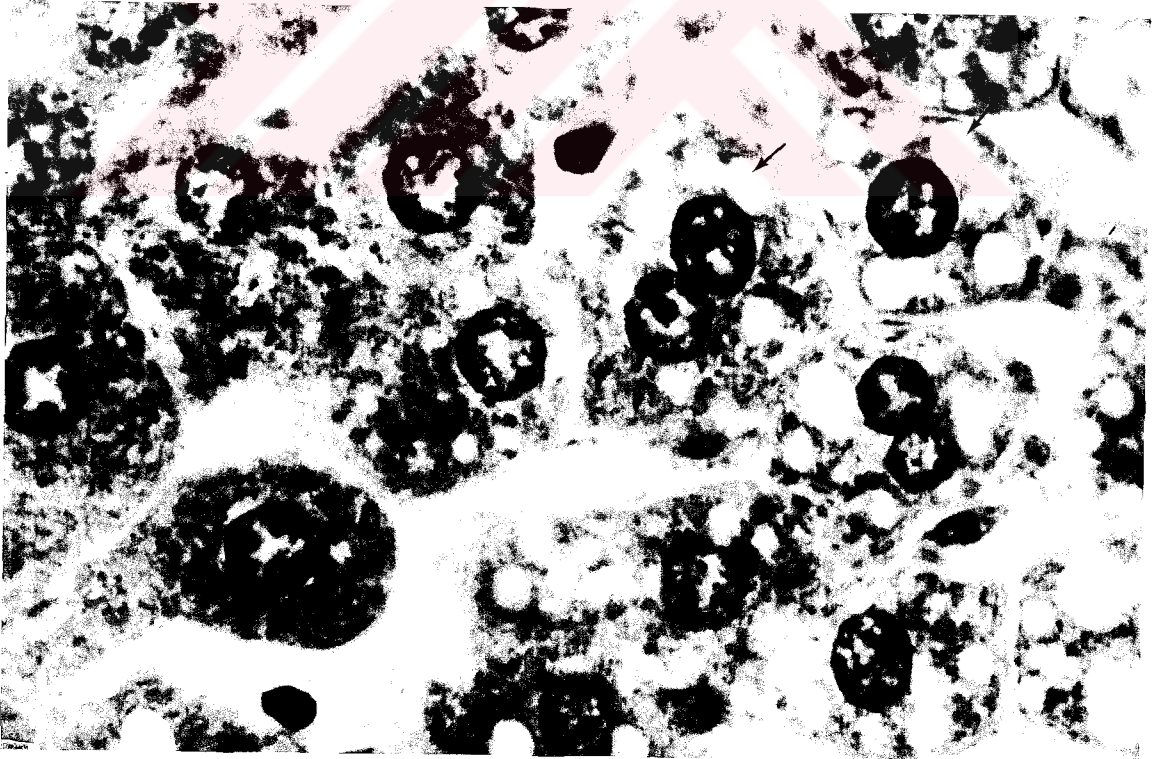


Resim 20. CCl_4 grubu. Hepatositlerde değişik büyüklükte vakuoller (oklar) ve nekroz alanları (*) izleniyor. H&E, X330

Best carmen boyama yöntemiyle vena sentralise yakın yerleşimli, vakuolizasyon gösteren hepatositlerde glikojen içeriğinde belirgin azalma veya tamamen kaybolma gözlemlendi. Portal alanlara yakın hepatositlerde yer alan glikojen kırmızı renkte boyanarak belirlendi (Resim 21,22). Lobülün 1/3 orta bölümlerinde bazı hücrelerin glikojen içermeyip vakuolle dolu olduğu, bazı hücrelerin ise tersine vakuol içermeyip, glikojenle dolu olduğu gözlemlendi. Bazı hücrelerde ise şeffaf boyanan vakuoller ve kırmızı granüller şeklinde gözlenen glikojen birlikte saptandı (Resim 22).

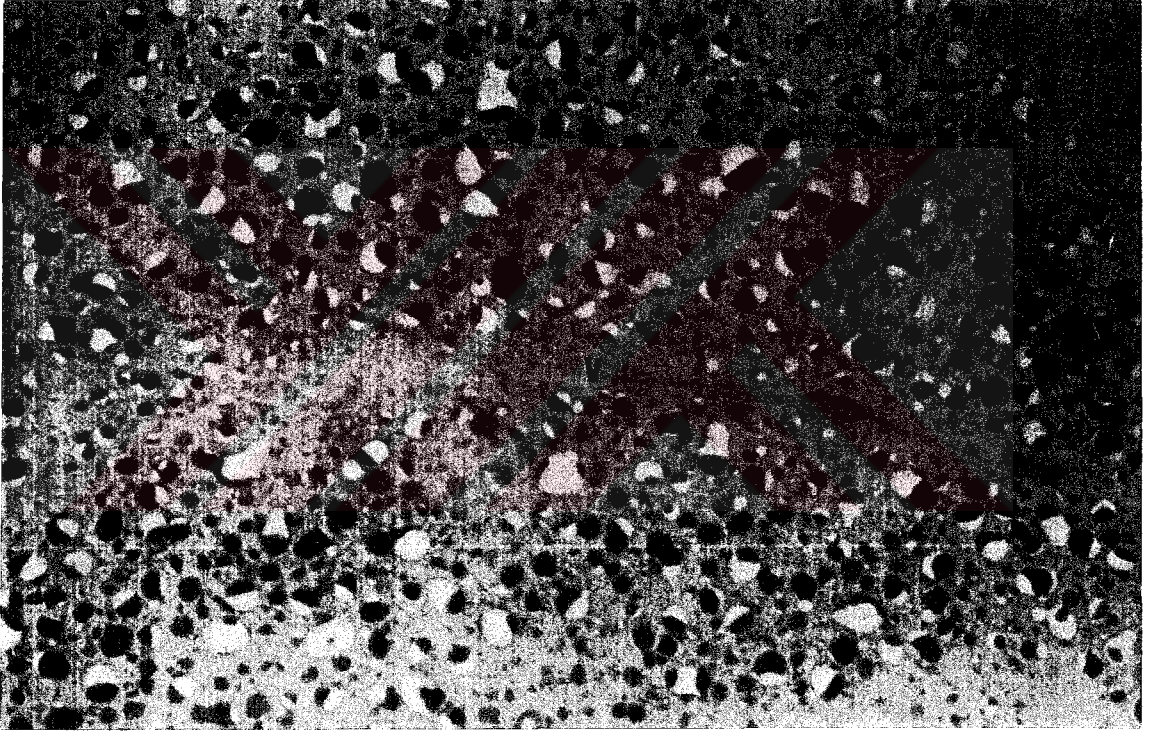


Resim 21. CCl_4 grubu. Lobulün vena sentralise yakın vakuol içeren hepatositler ve portal alana (p) yakın glikojen içeren hepatositleri izleniyor. Best carmen boyası, X132

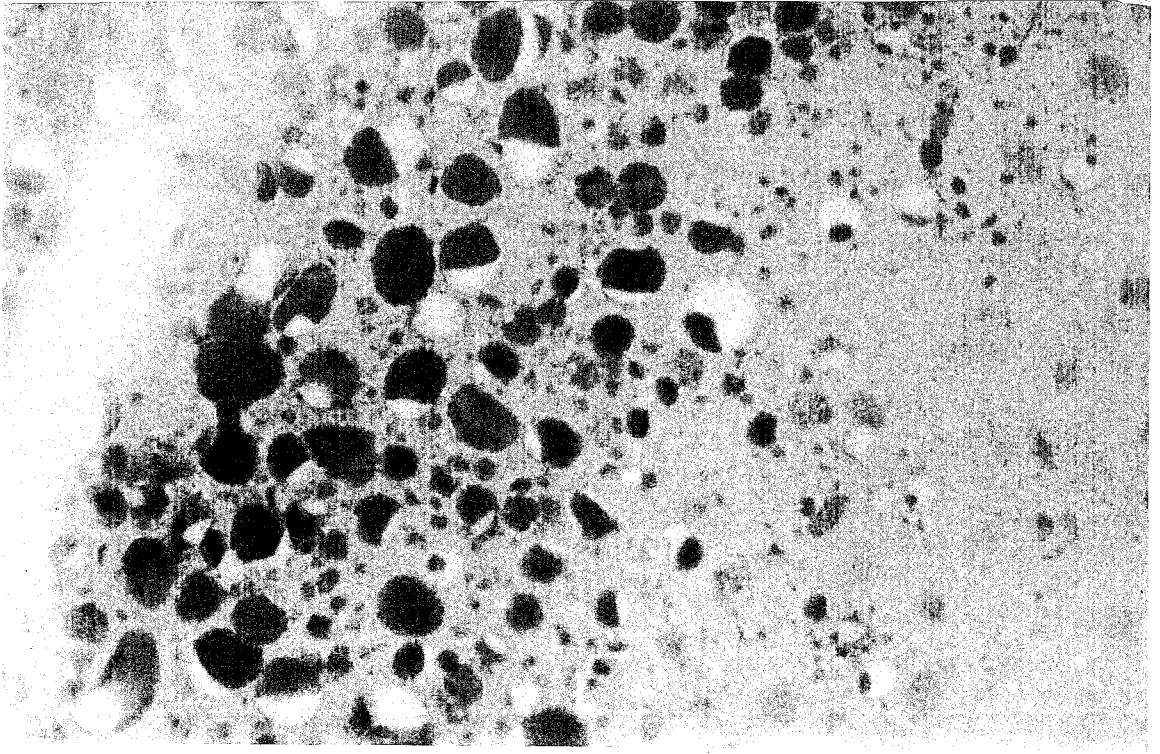


Resim 22. CCl_4 grubu. Glikojen (*) ve vakuol (ok) içerikleri farklı düzeylerdeki hepatositler izleniyor. Best carmen boyası, X330

Bu grupta hepatosit sitoplazmasında yoğun olarak izlediğimiz vakuoler yapıların lipid damlacığı olduğunu düşündük. Bu nedenle yağ boyası olan Oil red O boyama yöntemini uyguladık. Beklediğimiz şekilde vakuoller yapıların lipid damlaları olduğunu saptadık. Bu yöntemle kırmızı boyanan lipid damlalarının, vakuollerin özelliklerini ve dağılım örneğini sergilediğini gördük. Vena sentralis çevresindeki hepatositlerde çok miktarda ve büyük boyutlarda izlenirken, portal alana yakın hepatositlerde nadir ve küçük damlalar şeklinde gözlemlendi (Resim 23,24).



Resim 23. CCl_4 grubu. Vena sentalis (V) çevresinde sitoplazmalarında kırmızı boyanan lipid damlaları içeren hepatositler izleniyor. Oil red O boyası, X50

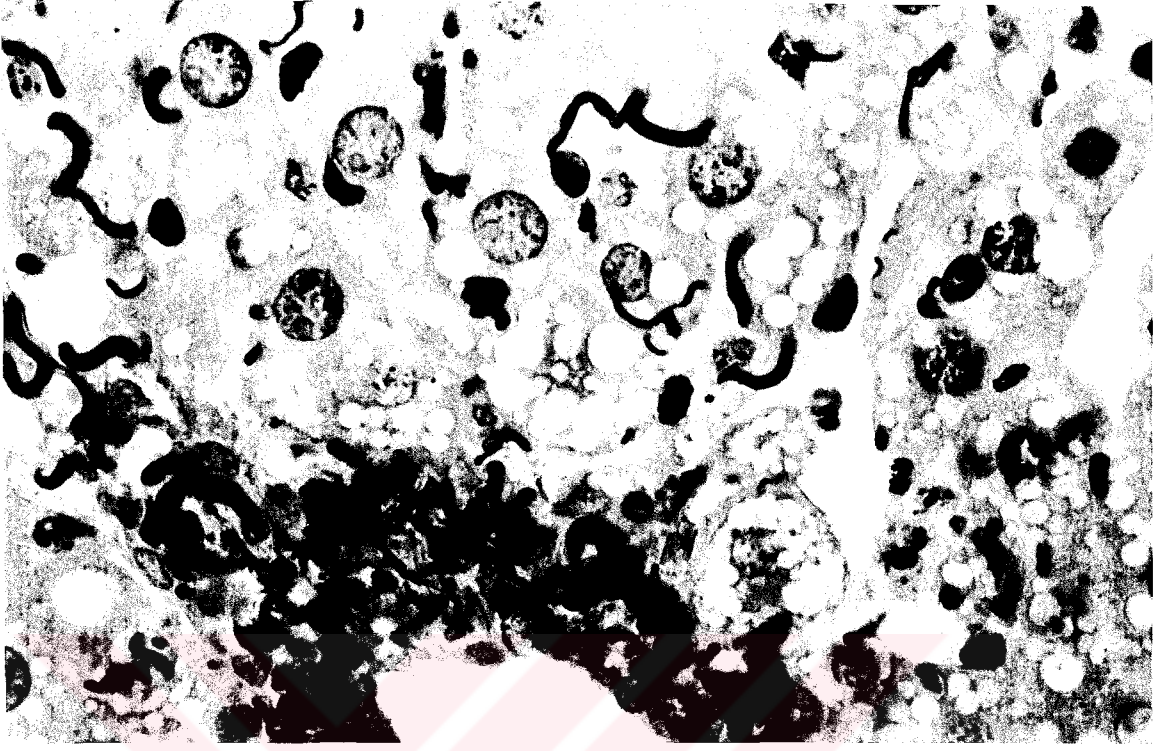


Resim 24. CCl_4 grubu. Vena sentralis çevresinde büyük lipid damlaları içeren hepatositler ve periferde nadir küçük yağ damlaları içeren hepatositler izleniyor. Oil red O boyası, X132

Gümüşleme yöntemiyle CCl_4 grubunda santral ven çevresindeki kollagen ve retikulum liflerinde, sinüzoid duvarındaki retikulum liflerinde artış ve kalınlaşma izlendi (Resim 25,26).

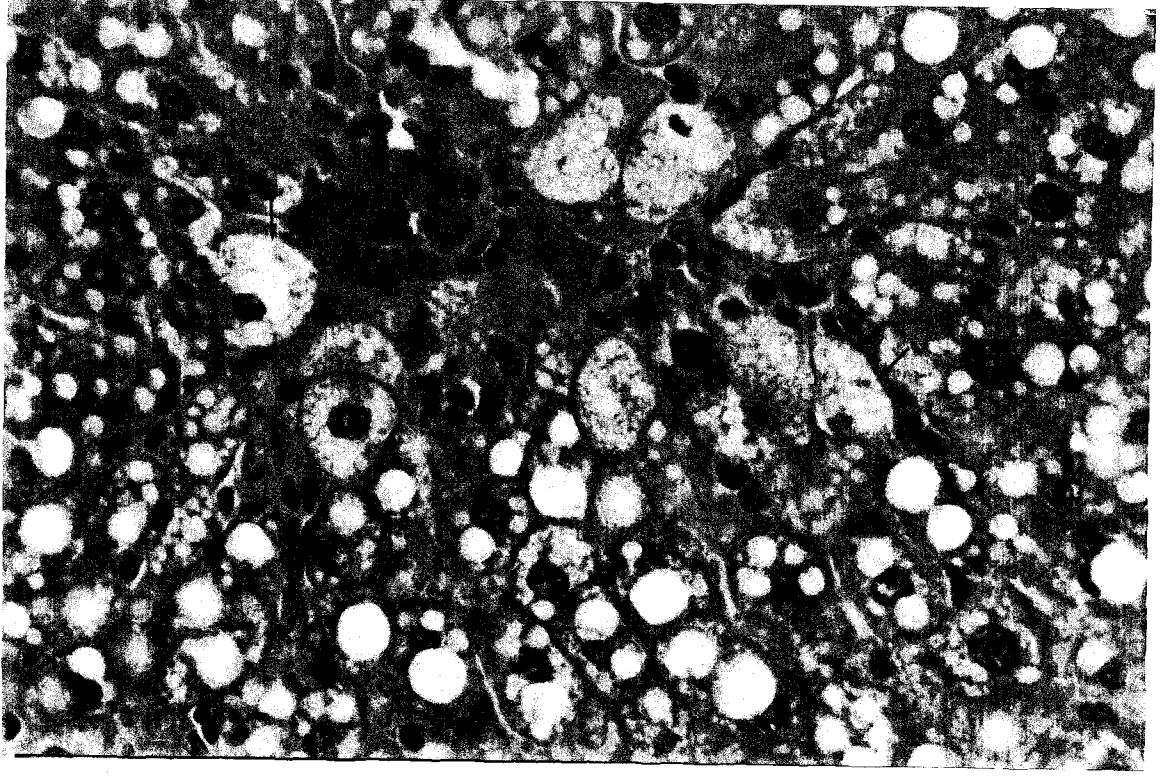


Resim 25. CCl_4 grubu. Vena sentralis çevresinde ve sinüzoid duvarında, siyah boyanan retikulum liflerinde artma izleniyor. Humason'un Gümüşleme boyası, X132

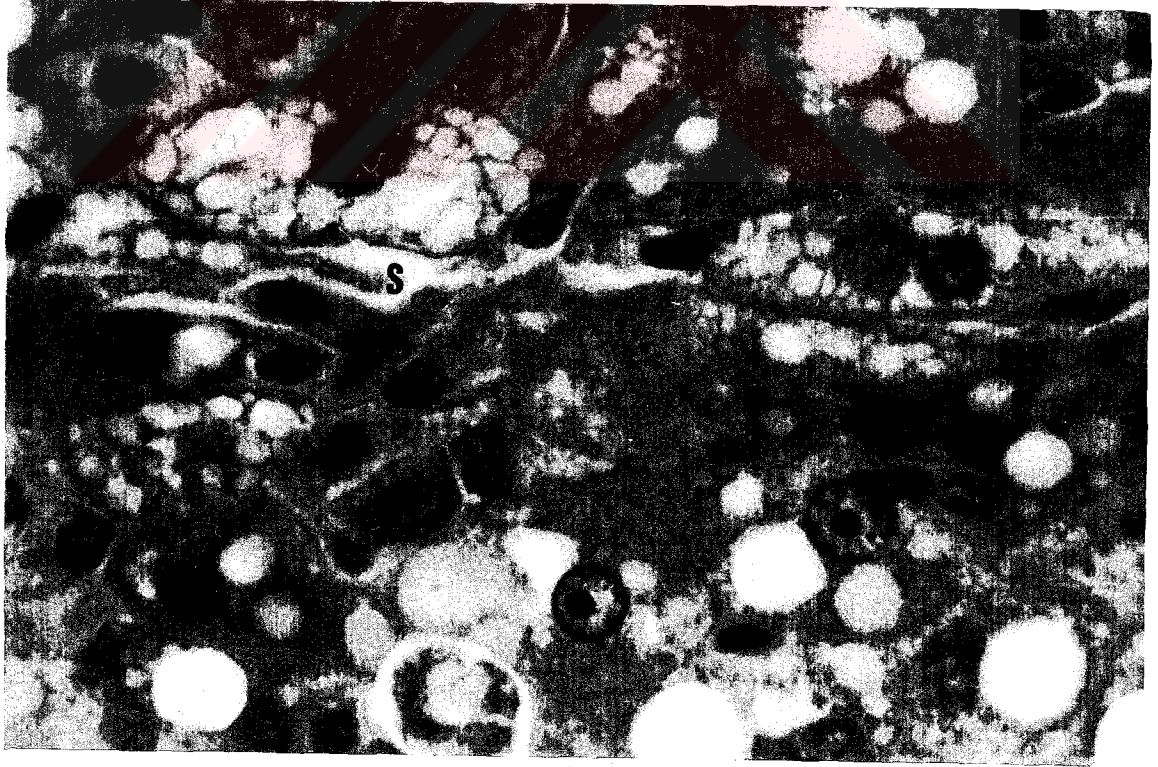


Resim 26. CCl_4 grubu. Vena sentralis çevresinde mavi boyanmış kollagen ve siyah boyanmış retikulum liflerinde, sinuzoid duvarında siyah boyanmış retikulum liflerinde kalınlaşma ve artış izleniyor. Hepatosit sitoplazmasında vakuolizasyon belirgin olarak gözleniyor. Humason'un Gümüşleme boyası, X250

Bu grupta çok sayıda perisinüzoidal yerleşimli oval şekilli, vakuoler veya şeffaf sitoplazmalı, yer yer yassı veya dejenere olmuş nükleuslu hücreler izlendi. Bu hücreler derinin yağ bezlerinin hücrelerine benzerlik gösteriyordu (Resim 27,28). Bu hücrelerin perisinüzoidal yerleşimli Ito hücreleri olabileceği düşünüldü.

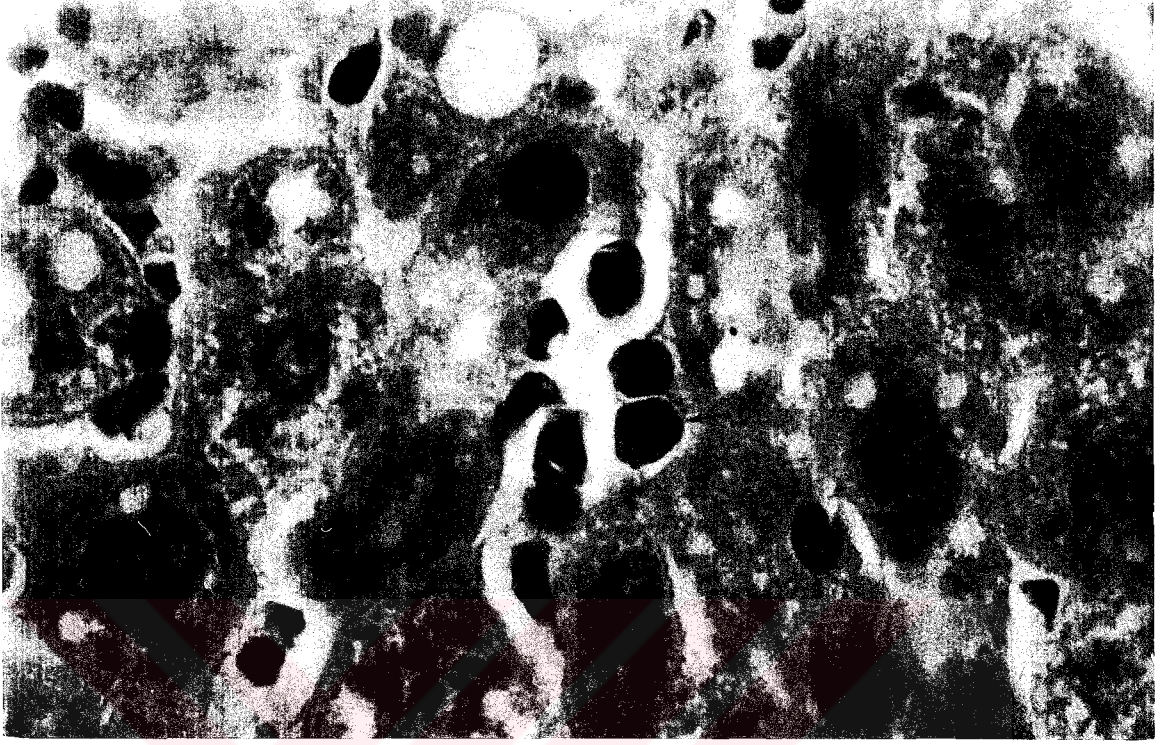


Resim 27. CCl_4 grubu. Oval şekilli, vakuoler veya şeffaf sitoplazmalı, yer yer yassılaştırmış veya dejenere olmuş nükleuslu çok sayıda hücre izleniyor (oklar). H&E, X132

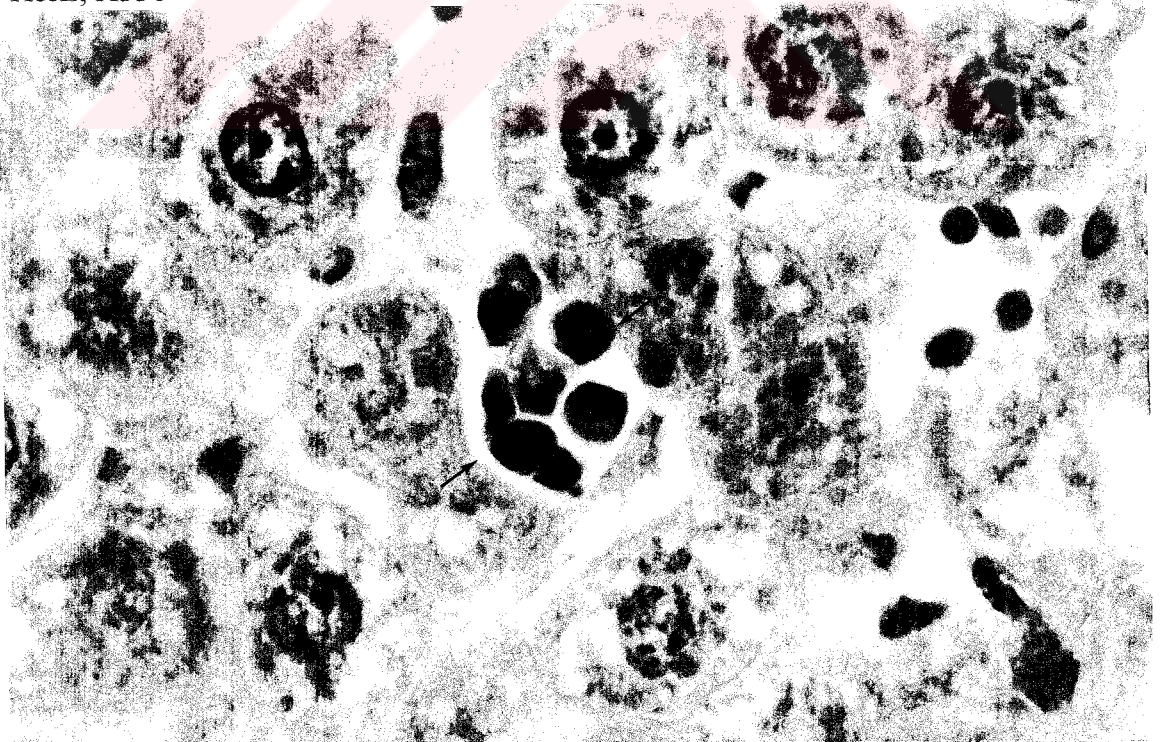


Resim 28. CCl_4 grubu. Sinüzoide (s) komşu uzunca oval şekilli küçük vakuoler sitoplazmalı hücreler izleniyor (oklar). H&E, X330

Sinüzoid duvarında veya hepatositler arasında çok miktarda oval veya poligonal şekilli asidofil sitoplazmalı, belirgin nükleoluslu, nükleus kromatini periferde yoğunlaşmış hücre grupları izlendi (Resim 29, 30).

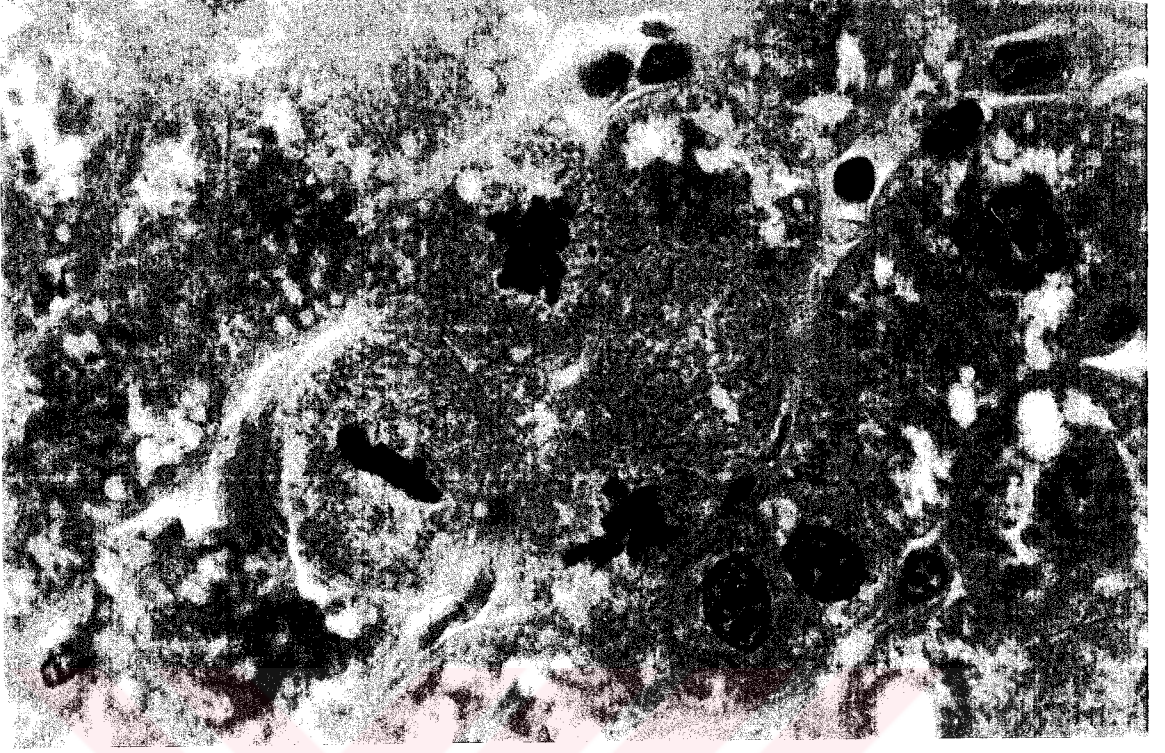


Resim 29. CCl₄ grubu. Sinüzoid duvarında asidofil sitoplazmalı (ok) hücreler izleniyor. H&E, X330

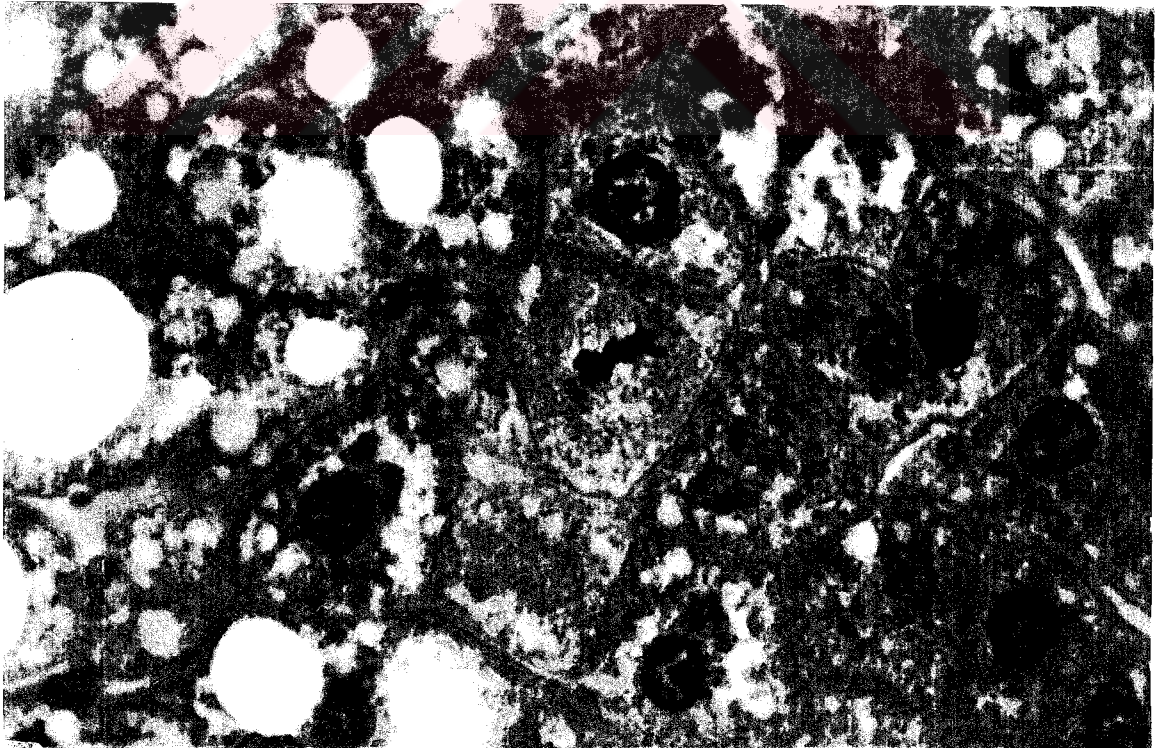


Resim 30. CCl₄ grubu. Hepatositler arasında asidofil sitoplazmalı hücreler izleniyor (oklar). H&E, X330

CCL4 grubu sıçanların hepatositlerinde çok sayıda mitoz figürüne rastlandı (Resim 31,32).



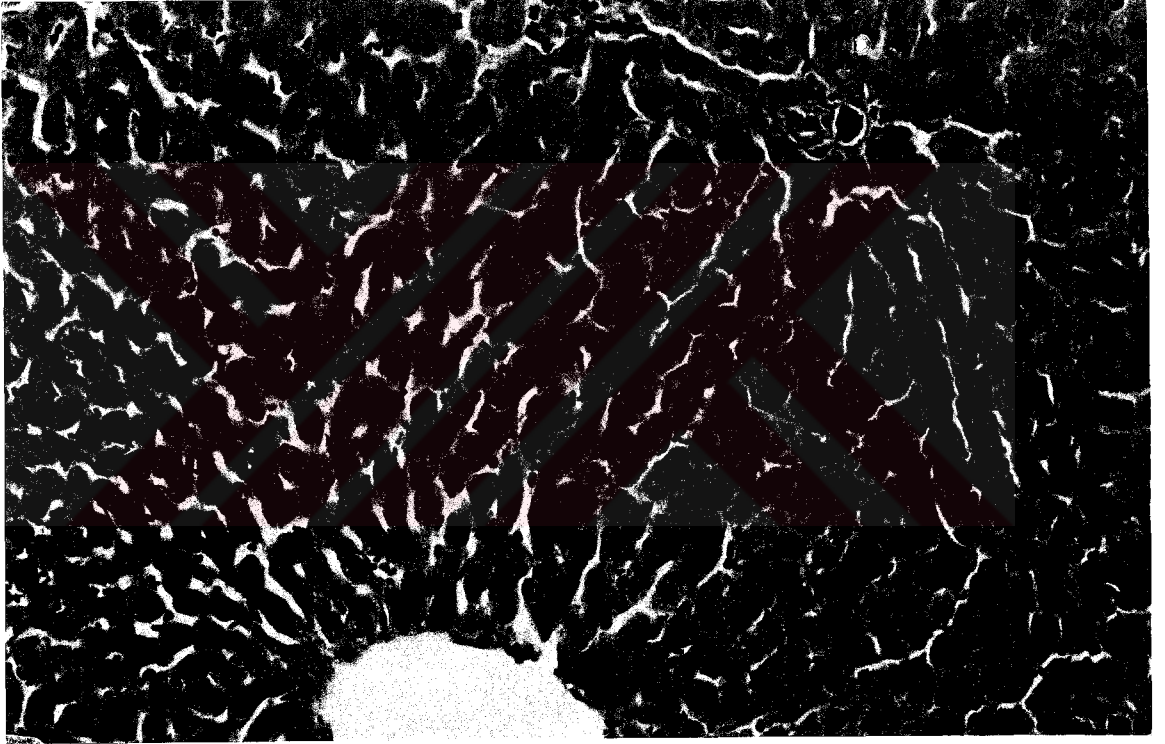
Resim 31. CCl₄ grubu. Geç profaz ve metafaz döneminde mitoz figürleri izleniyor. H&E, X132



Resim 32. CCl₄ grubu. Metafaz döneminde mitoz figürü izleniyor. Sitoplazmik vakuolizasyon belirgin olarak görülüyor. H&E, X330

Betain grubu

Betain uyguladığımız sıçanların karaciğerlerinin histolojik özellikleri kontrol grubundaki sıçanların karaciğerlerinin özelliklerinden farklı değildi. Stroma ve parankima normal görünüm sergilemekteydi (Resim 33,34).



Resim 33. Betain grubu. Vena sentralis çevresinde ışınal tarzda ilerleyen normal görümlü hepatosit kordonları ve sinüzoidler izleniyor. H&E, X66



Resim 34. Betain grubu. Vena sentralis çevresinde ışınal tarzda ilerleyen normal görünümlü hepatosit kordonları ve sinüzoidler izleniyor. H&E, X100

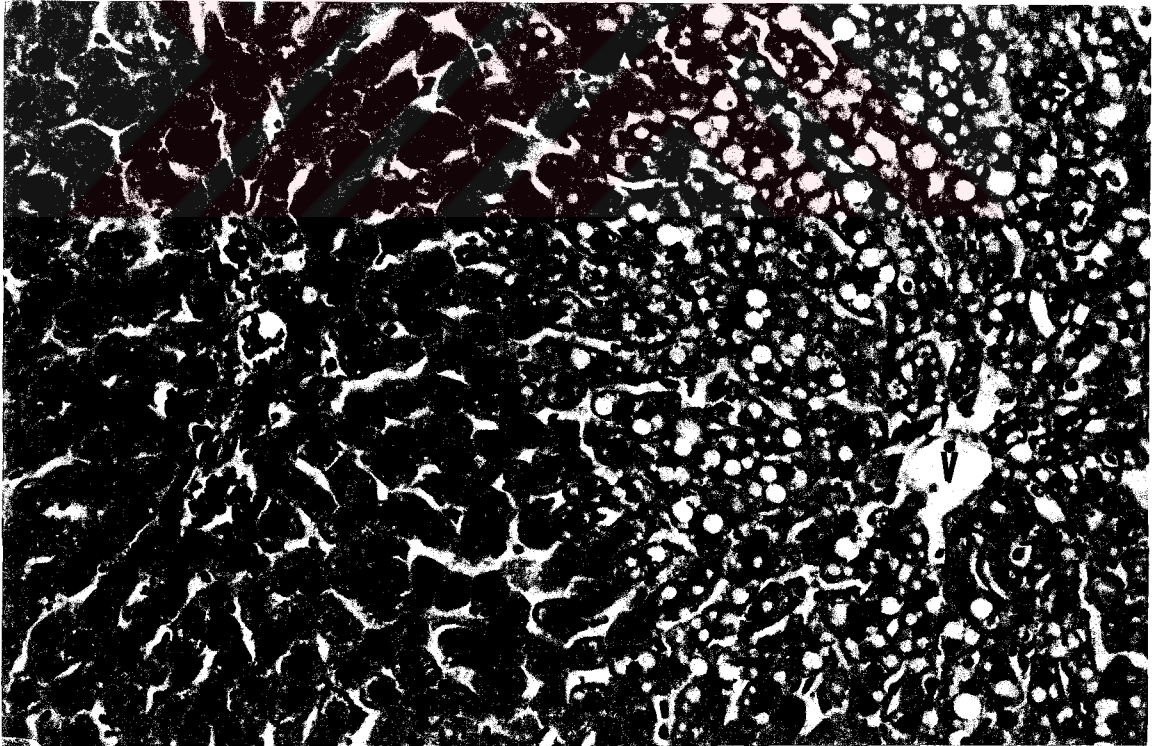
CCl₄ + Betain Grubu:

CCl₄+betain uyguladığımız sıçanların karaciğer lobüllerinde vena sentralis çevresindeki vakuollü hepatositlerden oluşan alanın, CCl₄ grubuna oranla daraldığı gözlemlendi (Resim 35).



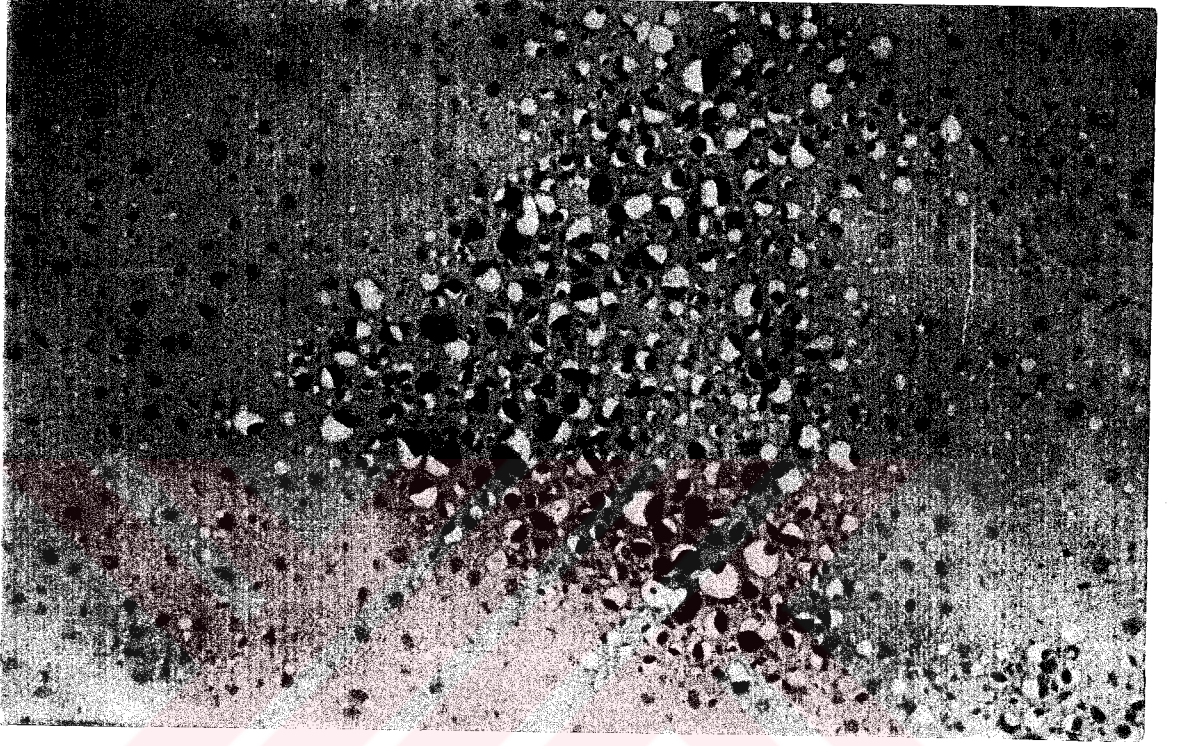
Resim 35. CCl_4 +betain grubu. Vena sentralis (V) çevresinde, CCl_4 grubuna oranla dar izlenen vakuoler hepatositlerin bulunduğu alan görülüyor. H&E, X33

Vena sentralis çevresindeki hepatositlerin sitoplazmalarındaki vakouller, CCl_4 grubuna oranla daha küçük ve az sayıda idi (Resim 36).



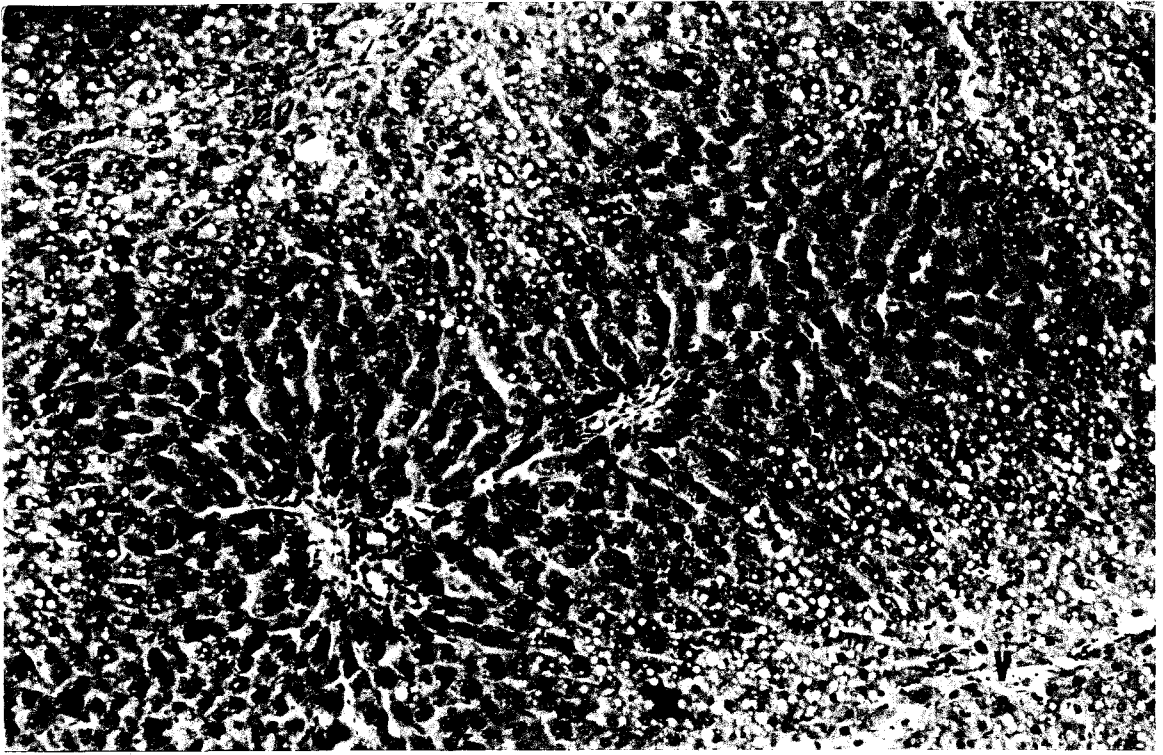
Resim 36. CCl_4 +betain grubu. Vena sentralis (V) çevresindeki hepatositlerin sitoplazmasında nisbeten az sayıda ve küçük vakuoller izleniyor. Portal alana yakın periferik bölümlerdeki hepatositler normal görünüyor. H&E, X66

Oil red O boyama yöntemiyle H&E ile şeffaf vakuoller olarak gördüğümüz yapıların lipid damlaları olduğu tesbit edildi. Lipidden zengin alanın daraldığı, lipid damlalarının küçüldüğü ve seyrekleştiği gözlemlendi (Resim 37).

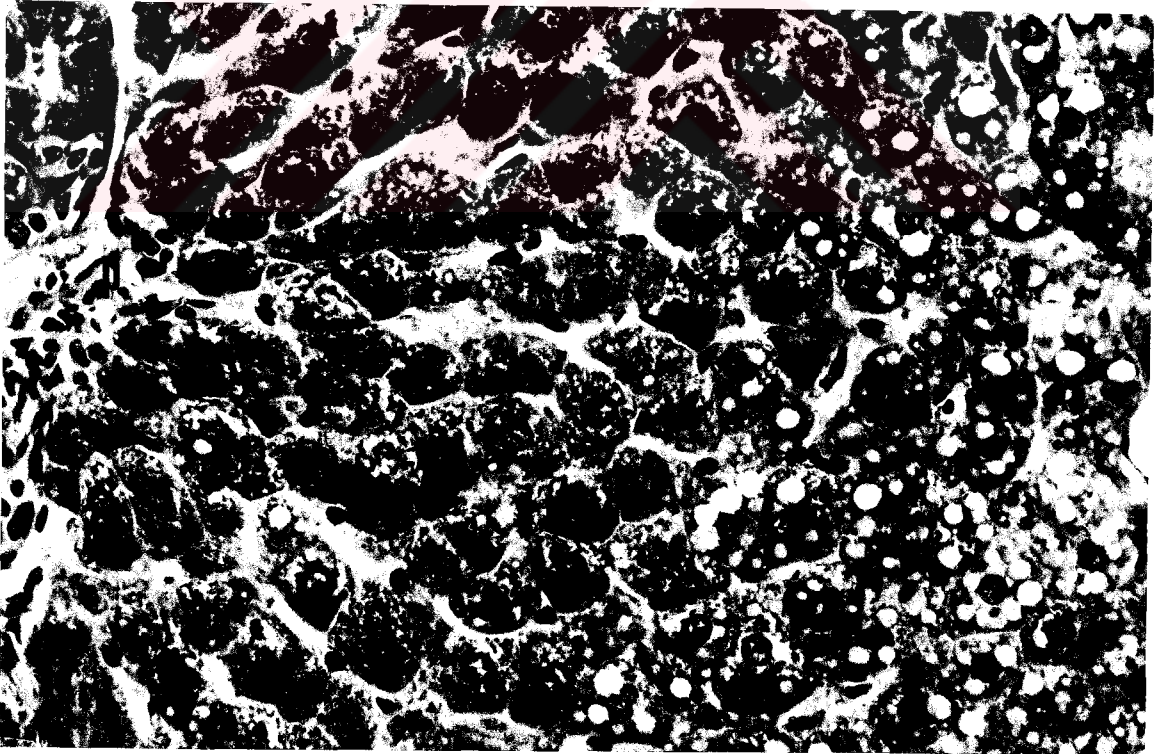


Resim 37. CCl_4 +betain grubu. CCl_4 grubuna göre daha az sayıda ve küçük lipid damlaları içeren alanın daraldığı izleniyor. Oil Red O boyası, X50

Best. carmen boyama yöntemiyle, lipidden zengin hücreler içeren alanın daralmasıyla ters orantılı olarak glikojenden zengin hücrelerden oluşan alanın genişlediği gözlemlendi. Portal alanlara yakın geniş bir bölümdeki hücreler glikojenden zengindi. Vena sentralis çevresindeki dar bir alan başlıca lipid damlaları, az glikojen içermekteydi (Resim 38,39).

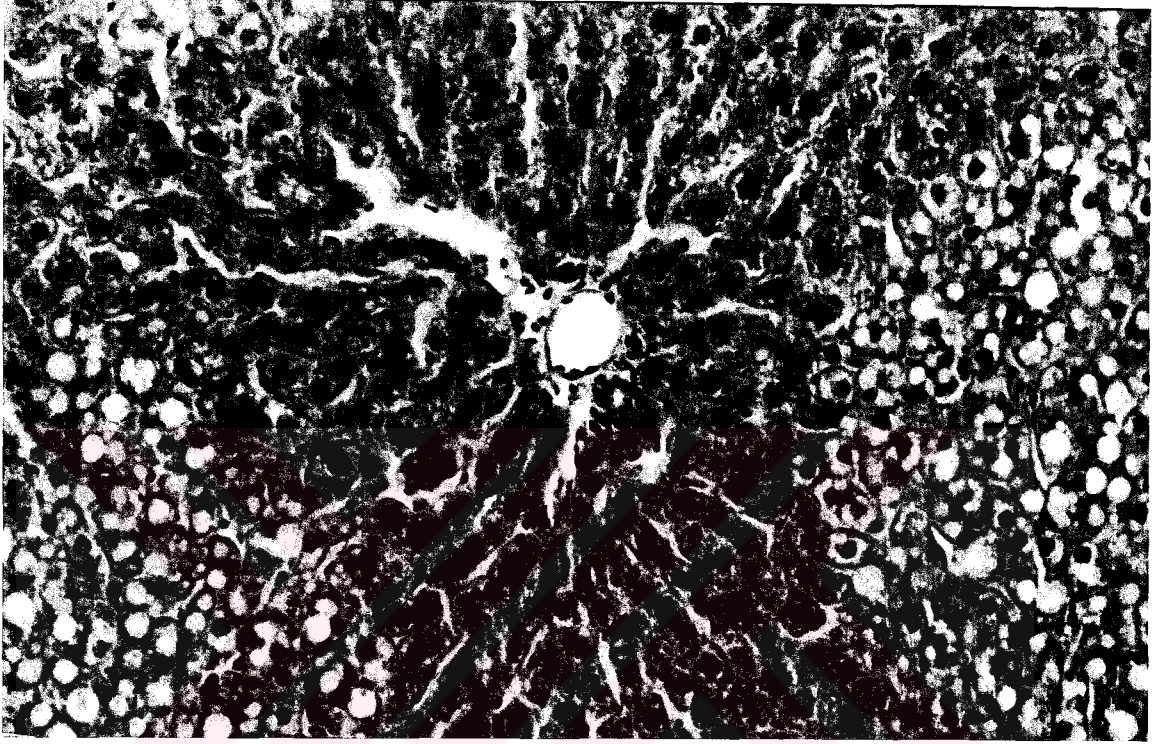


Resim 38. CCl_4 +betain grubu. Vena sentralis (V) çevresindeki lipidden zengin alanın daraldığı aksine portal alan (P) çevresindeki glikojenden zengin alanın genişlediği görülüyor. Best carmen boyası, X33

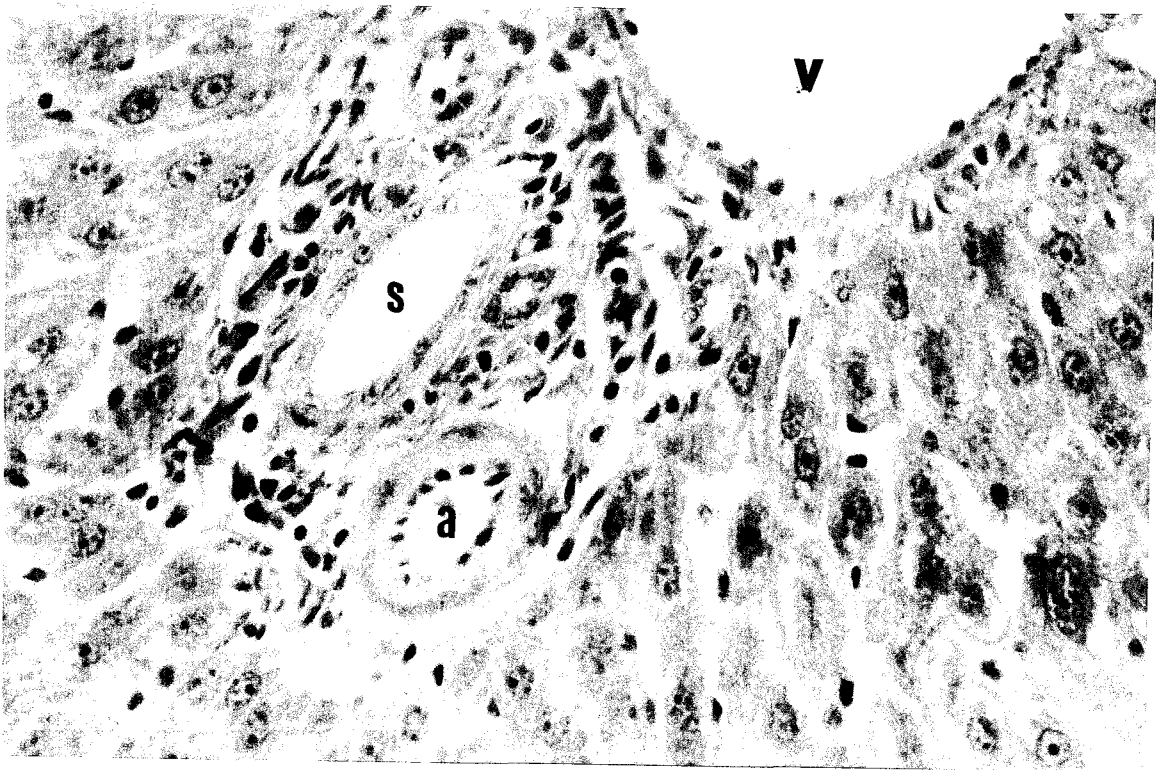


Resim 39. CCl_4 +betain grubu. Portal alan (P) çevresinde geniş bir alanın glikojenden zengin olduğu, vena sentralise yakın dar bir alanın lipidden zengin olduğu görülüyor. Best carmen boyası, X100

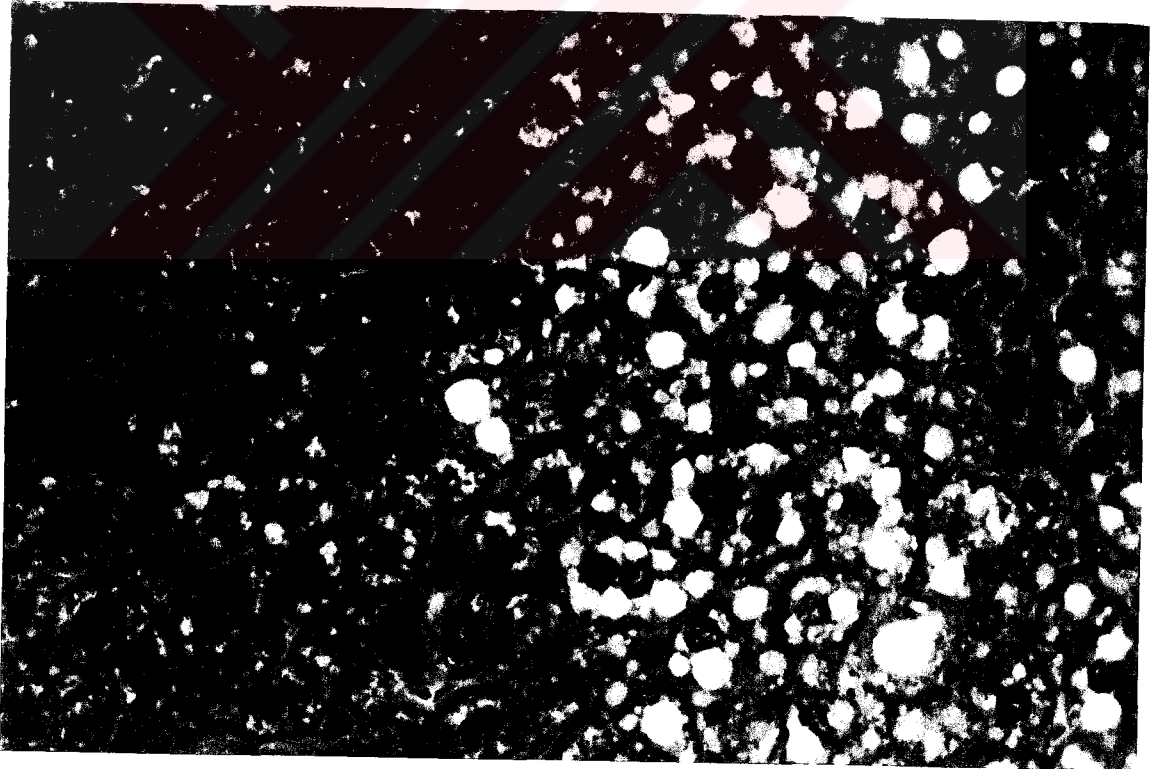
CCl₄+betain grubundan gözlediğimiz önemli değişikliklerden bir diğeri bağ dokusunun CCl₄ grubuna oranla önemli derecede azalmasıydı. Bu grubun bağ dokusunun histolojik özellikleri hemen hemen kontrol grubuyla aynıydı (Resim 40,41,42). Yer yer hepatositler arasında hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 42).



Resim 40. CCl₄+betain grubu. CCl₄ grubunda izlediğimiz bağ dokusu artışının düzelerek bağ dokusu dağılımının kontrol grubu seviyesine geldiği izleniyor. Vena sentralis çevresinde kırmızı renkte boyanmış çok ince kollagen lifler dışında parankimada bağ dokusu lifleri izlenmiyor. Lobülün periferinde vakuollü hepatositler görülüyor Verhoeff boyası, X66

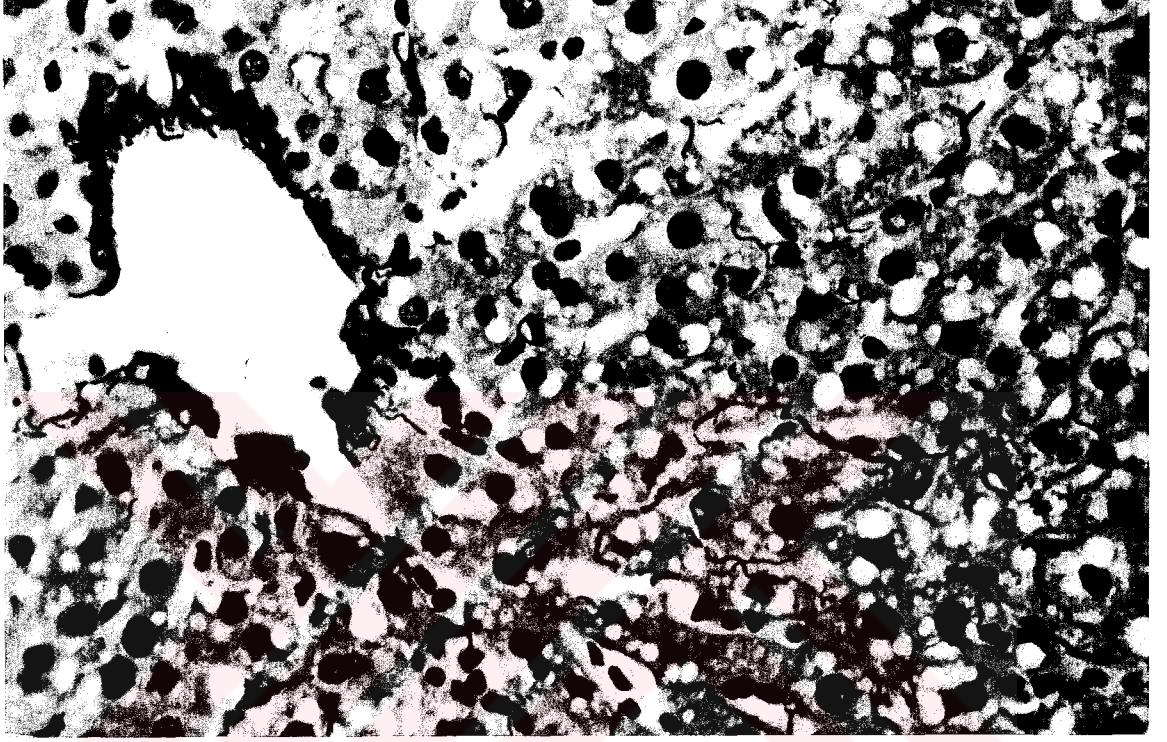


Resim 41. CCl_4 +betain grubu. Portal alanda arteria hepatica (a), vena porta (v), ve tek katli kübik epitelle döşeli safra kanalının çevresinde ince kollagen lifler içeren ba  dokusu görülüyor. Portal alanın çevresindeki hepatositler normal görünümde izleniyor. Verhoeff boyası, X132



Resim 42. CCl_4 +betain grubu. Parankimanın hepatositleri arasında bağ dokusu lifleri izlenmiyor. Hücre infiltrasyonun yer yer devam ettiği görülüyor. Crossman'ın   l  boyası, X132

Gümüşleme yöntemi ile vena sentralis ve sinüzoidler çevresinde retikulum liflerinin seyrekleştiği ve inceldiği gözlemlendi. Vena sentralis çevresinde kalın kollagen lif demetlerine rastlanmadı. Vena sentralisin ve sinüzoidlerin boyutlarının kontrol grubuna benzer özellikte olduğu izlendi (Resim 43).

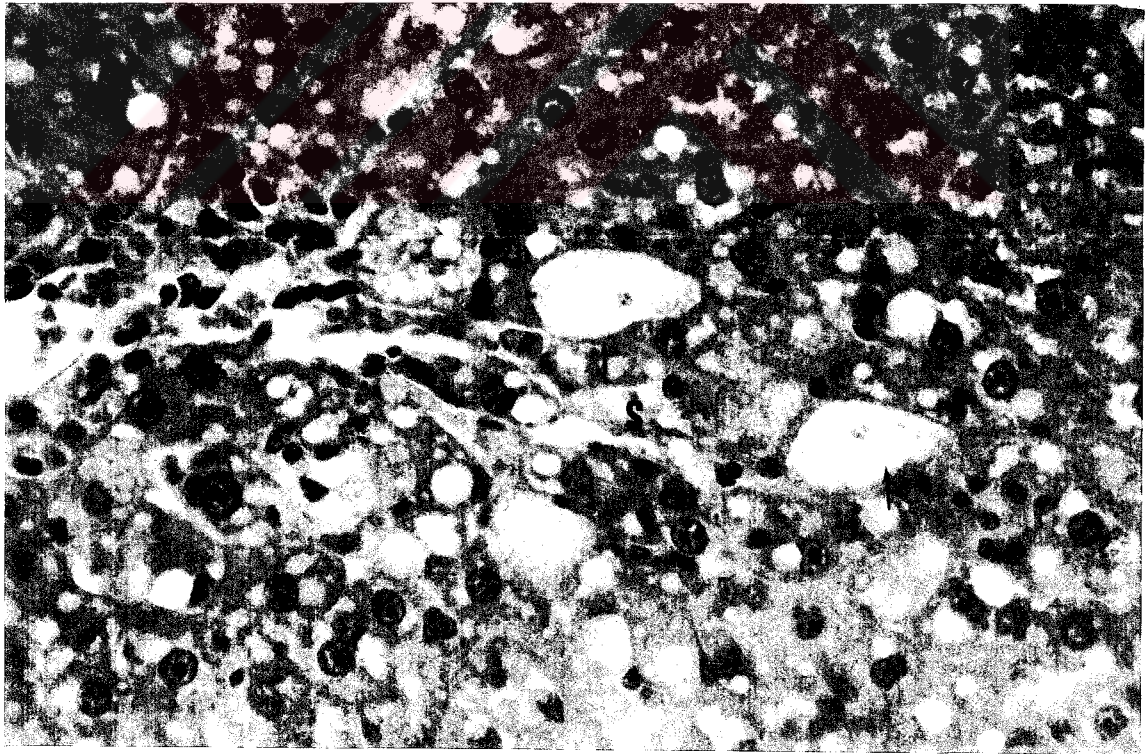


Resim 43. CCl_4 +betain grubu. Vena sentralis ve sinüzoidler çevresinde kontrol grubuna benzer dağılımda retikulum lifleri görülüyor. Vena sentralis çevresinde mavi renkte boyanmış ince kollagen lif demetleri görülüyor. Humason'un Gümüşleme boyası, X132

Bu grupta vakuollü hücreler dışında değişikliğe uğramış hücreye rastlanmadı. Nekroz ve apoptoz nadir görüldü. Yer yer, CCl_4 grubunda çok sık izlediğimiz, Ito hücreleri olduğunu düşündüğümüz hücrelere rastlandı (Resim 35,36,44,45).



Resim 44. CCl₄+betain grubu. Apopitotik cisimcik (*) ve Ito hücresi (ok) görülüyor. H&E, X330



Resim 45. Perisinüzoidal yerleşimli (s), dejenere nükleuslu Ito hücreleri (oklar) izleniyor. H&E, X132

CCl₄+betain grubunda baē dokusu içinde mast hücre dağılımının CCl₄ grubuna benzerlik gösterdiği saptandı (Resim 46).



Resim 46. CCl₄+betain grubu. Portal alanın baē dokusu içinde metakromatik boyanmış mast hücreleri görülüyor. Toluidin blue, X132

5. TARTIŞMA

Karaciğer, ekzokrin ve endokrin sekresyon yapan bir bezdir. Dıştan Glisson kapsülü olarak isimlendirilen fibröz bağ dokusu tabakası ile kuşatılmıştır. Parankima bağ dokusu ile sınırlı klasik karaciğer lobüllerinden oluşur. Klasik karaciğer lobülleri, köşelerinde portal alan olarak isimlendirilen bağ dokusu bölümler bulunan altıgen şekilli yapılardır. Bu lobüller santralde yer alan v. sentralisten ışınsal olarak periferine doğru ilerleyen hepatositler ve sinüzoid tipte kan kapillerlerinden oluşur. Karaciğerin ekzokrin ve endokrin sekresyonundan sorumlu ana hücreleri olan hepatositler, ökromatik nükleuslu, asidofil sitoplazmalı, poligonal şekilli hücrelerdir. Portal alanların bağ dokusu içinde a. hepatikanın, v. portanın dalları ve tek katlı kübik epitel ile döşeli safra kanalları bulunur. Sinüzoid duvarı yassı epitel hücrelerini, Kupffer hücrelerini ve Ito hücrelerini içerir (2,3,11,18,20).

Çalışmamızda kontrol grubunda sıçan karaciğerinin memelilerde tarif edilen genel histolojik özellikleri taşıdığını gözlemledik. Klasik karaciğer lobülleri belirgindi. Santral ven çevresinde ışınsal tarzda periferine ilerleyen, asidofil sitoplazmalı, ökromatik nükleuslu hepatositler, hepatositler arasında sinüzoid kan kapillerleri izleniyordu. Sinüzoidlerin duvarında yassı epitel hücreleri ve Kupffer hücreleri belirgin olarak görülmüyordu. Portal alanlarda arter, ven ve safra kanalına ait kesitler gözleniyordu.

CCl_4 diğer sıvı halojenli hidrokarbonlar eskiden beri temizleyici ve yağ uzaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Veteriner hekimlikte antiparaziter olarak kullanılmaktadırlar (5). CCl_4 gibi halokarbonlar toksik ve kanserojen maddelerdir. CCl_4 hepatotoksik etkili bir maddedir. Çeşitli çalışmalarda CCl_4 'ün karaciğerde nekroz, fibrozis ve yağlanma yol açtığı gösterilmiştir (29,30,34,35,37,61,62,63). Bu etkileri nedeniyle fibrozis ve karaciğer yağlanmasının tedavisinde olası yararlı etkileri araştırılan ilaçların uygulandığı çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Biz de çalışmamızda CCl_4 vererek oluşturmayı planladığımız nekroz, fibrosiz ve yağlanma üzerine betainin olası yararlı etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 4 gün, 1ml/kg/gün subkutan CCl_4 uygulamasından sonra 5. gün alınan karaciğer dokusunda belirgin bağ dokusu artışı, yağlanma, nekroz, apoptoz, hücre infiltrasyonu saptadık. CCl_4 'ün karaciğere uygulanan doza, uygulama süresine, zamanına, yoluna, deneklerin cinsine, cinsiyetine ve fizyolojik şartlara bağlı olarak değişen derecelerde zarar verdiği bildirilmiştir (29,30,63,64,65,66,67).

CCl_4 hepatotoksik etkilerini hepatik mikrozomal sitokrom P-450 yoluyla açığa çıkan triklormetil serbest radikali aracılığı ile göstermektedir. Triklormetil, oksijenle reaksiyona girerek triklormetil peroksil radikaline dönüşür. Bu tür serbest radikaller lipid peroksidasyonu ve kovalent bağlanma yoluyla hücre hasarını başlatır (30,33,38,61,68,69,70,71). CCl_4 'ün karaciğer harasında yapısal membran lipidlerine verdiği peroksidatif hasar dışında, metabolit veya aldehitlerinin membran fonksiyonlarını bozması da sorumlu tutulmuştur (29,62,72). CCl_4 metabolitleri poliansature yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna sebep olan zincir reaksiyonlarını başlatır veya lipid ve proteinlere kovalent olarak bağlanarak hücre membranlarında hasara sebep olur (30,68). CCl_4 bağlı akut karaciğer hasarının oluşmasına bozulmuş hepatik aktif oksijen metabolizmesinin katkıda bulunduğu gösterilmiştir (39).

Farklı dozlarda, sürelerde ve yollardan CCl_4 uygulamasının hepatotoksik etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (5,30,32,33,34,35,36,40,63,71,73,74,75). CCl_4 'e bağlı hepatotoksisite insanlarda, maymunlarda, sıçanlarda, farelerde, tavşanlarda, kobaylarda, hamsterlerde, kedilerde, köpeklerde, koyunlarda ve sığırlarda gözlenmiştir. Hasarın yaygınlığı cinse, yaşa, cinsiyete bağlı olarak değişmektedir (30).

Tek doz 0,5 ml/kg intraperitoneal CCl_4 enjeksiyonunun karaciğerde santral bölgede yağlı değişikliğe, vakuoler ve eozonofilik dejenerasyona, fokal nekroza ve mononükleer hücre infiltrasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (33). Dinçer S ve arkadaşları (71) tek doz 2ml/kg intraperitoneal CCl_4 verilmesinden 24 saat sonra karaciğerde belirgin nekroz, konjesyon ve perivenüler sahada hepatosit atrofisi gözlemlemişlerdir (71). Yasuda M. ve arkadaşları (62) çalışmalarında 0,3 ml/100gr CCl_4 enjeksiyonundan 10-30 saat sonra karaciğerde histolojik değişiklikler gözlemlemişler. 15 saat sonra başlayan sentrilobüler zondaki hepatositlerde yağlı değişiklik ve koagülasyon nekrozu 20-30. saatlarda iyice belirginleşmişlerdir. Hasar gören hepatositlerde balonlaşma ve sitoplazmada eozonofilik değişiklikler izlenmiş, kromatin granüllerinde azalma ve nükleusda erime görülmüştür. Hasar gören hepatositlerin çoğunda şişme izlenmiştir (62). Uygulamadan 24 saat sonra sonra hepatositlerde vakuolizasyon gözlenmiştir (5). Subkutan olarak 2ml/kg CCl_4 enjeksiyonunun 24 saat sonra Wistar sıçanlarda hepatik dejenerasyon ve nekroz oluşur (73). Sıçanlara tek doz 2ml/kg İP CCl_4 uygulamasında 6-72 saat sonra portal alanlar çevresi hariç olan bölgelerde hepatik nekroz ve vakuolizasyon izlenmiştir. 48. saatte bu bulgular santral ven ve portal alan çevresi de dahil bütün lobülde belirginleşmiştir. Santral ve çevresinde infiltrasyon gözlenmiştir. 72 saatte santral ven çevresinde hafif fibrozis görünmesine karşı portal alanlarda fibrozis saptanmamıştır (40). Canpolat ve arkadaşları

(76) haftada 3 kez 0,5 ml/gr CCl₄ uyguladıkları sıçanların karaciğerlerinde yağlı değişiklik, vena sentralisde dolgunlaşma, eozonofilik dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis gözlemlenmişlerdir. Özeki ve arkadaşları (74), Wistar ratlarda 3ml/kg İM CCl₄'ün (3 hafta boyunca) İM uygulaması sonucu, karaciğerde sentrilobüler nekroz, fibrozis ve midzonal hepatositlerde ödem ve vakuolizasyon saptamışlardır (74). Tavşanlarda 45 gün süreyle 2 ml/kg İP CCl₄ enjeksiyonundan 45 gün sonra bağ dokusunda belirgin artış ortaya çıkar (5). Wistar sıçanlarda 6 hafta boyunca haftada 3 kez 0,5ml/gr intraperitoneal CCl₄ uygulanmasının karaciğer 3.zonunda yağlanmaya, mononükleer hücre infiltrasyonuna, periportal bağ dokusu artışına neden olduğu gösterilmiştir (36). CCl₄ tedavisinden 12 hafta sonra sıçanlarda bazıları akut inflamasyon belirtileri gösteren mikronodüler karaciğer sirozu saptanmıştır. CCl₄ tedavisinin sonlandırılmasından 24 hafta sonra bile belirgin fibrozis gözlenmiştir. CCl₄'ün oluşturduğu sirozun histolojik olarak irreversibl olduğu gösterilmiştir (35). CCl₄ subkutan, inhalasyon ve intragastrik yollardan karaciğer sirozu oluşturur. İntragastrik olarak verildiğinde uygulamadan 8-10 hafta sonra splenomegali ve portal hipertansiyonla birlikte giden dekompanse mikronodüler siroza neden olduğu gösterilmiştir. Aristo F ve arkadaşları (34) bu yolla son CCl₄ dozundan 2 hafta sonra kapsülde kalınlaşma, septumların bağ dokusunda yoğunlaşma ve mikronodüler siroz gözlemlenmişlerdir. Portal alanların fibroz dokudan oluşan geniş bantlarla birbirlerine bağlandığı görülmüştür.

Çalışmamızda 4 gün süre ile uyguladığımız 1ml/kg/gün CCl₄'ün karaciğerde nekroz, apoptoz, yağlanma, mononükleer hücre infiltrasyonu ve bağ dokusu artışına yol açtığı saptandı. Hücre şişmesi belirgin değildi. Sirozun tipik histolojik bulgusu olan portal alanlar arasında bağ dokusu artışı nedeni ile ortaya çıkan bantlaşma gözlenmedi (34). Ancak bağ dokusu artışı belirgindi, yer yer bağ dokusundan lobüller oluşmuştu. Hücre şişmesi CCl₄ uygulamasından sonra erken dönemde ortaya çıkan bir bulgudur (5,32,62,63). Ancak Özeki ve arkadaşlarının (74) çalışmasında uygulamadan 3 hafta sonra hepatositlerde şişme rapor edilmiştir. Kanımızca çalışmamızda hücre şişmesini görmememizin sebebi hücre şişmesinin örnekleri aldığımız 4. günden önce ortaya çıkmış olmasıdır. Hepatositlerde erken dönemde ortaya çıkan balonlaşma ile nekroz arasındaki ilişki ve balonlaşma gösteren hücrelerin daha sonraki durumu hakkında uzun süre bir sonuca varılamamıştır. Balonlaşan hepatositlerin nekrotik hepatosit öncüsü hücreler olduğu görüşü hakimdir (63). Kanımızca 4. günden önce ortaya çıktığı için saptayamadığımız hepatosit şişmesi, çalışmamızda 4. günden sonra gözlemlediğimiz nekrozun veya apoptozun öncü belirtisidir.

Çalışmamızda CCl₄ uygulaması sonucunda karaciğerde hem nekrotik hem de apoptotik hücreleri gördük. Bu grupta çok sayıda, asidofil sitoplazmalı, nükleer fragmentler içeren, çevreden şeffaf bir alanla ayrılmış, büyük, iri, yuvarlak şekilli apoptotik cisimlere rastladık. Nitekim çeşitli çalışmalarda CCl₄'ün karaciğerde nekroz ve apoptoz oluşturduğu rapor edilmiştir (62,66,76). Apoptozun ortaya çıkması için düşük doz CCl₄'ün kısa süreli uygulanması yeterli olmaktadır (62). Sıçanlarda düşük doz CCl₄'ün solunum yoluyla uygulanmasında 10 hafta sonra apoptoz gözlenmiştir (66). Wistar sıçanlarda tek doz 0,3 ml/kg intraperitoneal CCl₄ uygulamasından 3 saat sonra kromatin yoğunlaşması ile karakterize apoptotik hücreler izlenmiş, 6 saat sonra lobülde fokal apoptozis belirginleşmiştir. Nükleer fragmentler içeren apoptotik hücrelere ve apoptotik cisimciklere ilaveten, lobüllerin orta bölümlerinde tek hücre nekrozu gözlenmiştir. 24 saat sonra sentrilobüler apoptozis belirginleşmiştir. 48 saat sonra sentrilobüler sahadaki hücrelerin çoğu apoptoz ve nekroz nedeniyle ortadan kalkmıştır. CCl₄'ün muhtemelen uygulanan doza bağlı olarak nekroz veya apoptozu yol açmaktadır (63).

CCl₄ endoplazmik retikulum ve mitokondrilerde değişiklikler oluşturarak hepatosit hasarı yapmaktadır (29,31,63,71,77). CCl₄ uygulamasında 1 saat sonra endoplazma retikulum membranlarında bozulma ve retikulumda dilatasyon gözlenir. Bu değişiklikler nekrozun erken belirtileri olarak kabul edilebilir. 2-4 saat içinde intrasellüler ve intramitokondriyal kalsiyum (Ca⁺⁺) oranı artar. Buna bağlı olarak elektrolit dengesi bozulur ve hücre şişmesi ortaya çıkar. Mitokondri ve golgi hasarı oluşur (30,32). Hücre hasarının diğer belirtileri granüler ER yüzeyinden ribozomların ayrılarak sitoplazmaya dağılması ve agranüler ER undada düzensizliktir (4,30). Agranüler ER lipid peroksidasyonu sonucu oluşan yağlı aldehidler plazma membranlarını zedeler (4). Zehirlenmeden 6 saat sonra ortaya çıkan fokal nekroz, başlangıçta midzonalıdır. 12 saat içinde sentrilobüler hücrelerde prenekrotik değişiklikler ortaya çıkar. 24. saatte lobülün yarısında daha fazlasını etkileyen belirgin sentrilobüler nekroz görülür (32).

Normal şartlarda hepatositler yavaş yenilenmesine karşın, toksik ajanlarla karşılaşma sonrasında harap olan dokunun yüksek rejenerasyon yeteneği vardır. Herhangi bir zedelenmeden sonra hepatositlerde yüksek oranda mitoz izlenir (2,78). Biz de çalışmamızda, normal karaciğer grubunda mitoz figürüne rastlamazken, CCl₄ uygulamasından sonra çeşitli dönemlerde çok miktarda mitoz figürü izledik. Mitoz artışının zedelenmeden sonra ortaya çıkan rejenerasyonun önemli bir göstergesi olduğunu düşündük. Bu dönem sonunda çok miktarda mitoz figürünün gözlenmesi tamir olayının hemen başladığının göstergesidir. Nekrotik doku artıklarının ortadan kaldırılarak 14 gün

içinde karaciğerin normal dokusunu kazandığı bildirilmiştir(30). Canpolat ve arkadaşları (76) sıçanlarda CCl_4 uygulamasından sonra çok sayıda mitoz figürleri izlemişlerdir (76). Rejenerasyonun bir başka göstergesi de bağ dokusu artışıdır. Parankimada hücreler kendilerini yenilerken, stromanın bağ dokusu hücreleri de aktive olarak bağ dokusu esas madde ve liflerini sentezlemeye başlarlar. Bunun sonucunda bazen kontrolsüz olarak devam eden bağ dokusu artışı gerçekleşir (2). Çalışmamızda bu grupta bağ dokusu artışı belirgin olarak saptadık. Yer yer bağ dokusunun genişleyerek lobüler görünüm kazandığını ve karaciğerin lobüler organizasyonunu bozduğunu gözledik. Gümüşleme yöntemleri ile saptadığımız retikulum lif artışı da kanımızca yeni bağ dokusunun oluşumunun bir göstergesidir. Normal karaciğerde tip I ve II kollagen portal bölgeler ve santral ven çevresinde yoğunlaşmıştır. TipIV kollagenenden oluşan ağ sinüzoidal endotelial hücreler ve hepatositler arasında bulunur. Siroz gibi bağ dokusu artışı ile giden durumlarda tip I ve tip III kollagen lobülün bütün bölümlerinde birikir (4).

Çalışmamızda bağ dokusu liflerindeki artışa mast hücre artışının eşlik ettiğini gözlemledik. Bu hücrelerin artışının da bağ dokusu artışı ile bağlantılı olabileceğini düşündük. Nitekim mast hücrelerinin sayısının fibrozisle giden kronik karaciğer hastalıklarında arttığı gösterilmiştir. Sıçanlarda CCl_4 neden olduğu karaciğer fibrozisinde mast hücre hiperplazisi gelişmektedir. Mast hücreleri fibroblast gelişimini artıran, fibroblast veya satellit hücrelerden ekstrasellüler matriks üretimini stimüle eden çeşitli mediyatör maddeler salgırlar. Ayrıca kendileri de ekstrasellüler matriks bileşenlerini salgırlar. Mast hücrelerinin fibrozis oluşturuu etkileri sadece karaciğer dokusunda değil, akciğer, deri, barsak ve eklemlerde de gösterilmiştir (79).

Karaciğer rejenerasyonunda görev alan hücrelerden biri de Ito hücreleridir. Endotel hücrelerini, makrofajları ve Ito hücrelerini içeren epitelyal mezenkim dokusu doku tamirinde görev alır. Ancak ekstrasellüler matriks proteinlerini salgılayan Ito hücreleri bu olayda primer rol oynamaktadır (80,81). Çalışmamızda CCl_4 uyguladığımız sıçanların karaciğerlerinde artmış Ito hücrelerini gözledik. Bu durum, kanımızca CCl_4 'ün hasarladığı dokunun aktive olarak kendini yenilemeye çalıştığının bir başka göstergesidir.

CCl_4 uyguladığımız grupta sinüzoidlere yakın konumda, asidofil sitoplazmalı, belirgin nükleoluslu, nükleus kromatini periferde yoğunlaşmış oval veya hafif poligonal şekilli hücre grupları izledik. Bu hücrelerin ışık mikroskopik özellikleri kemik iliğinde gördüğümüz hemopietik hücrelere benzerlik gösteriyordu. Normal şartlarda erişkinde karaciğerde hempoez görülmez. Ancak kemik iliğinin baskılandığı durumlarda, karaciğerde saklı olan kan hücre yapma potansiyeli açığa çıkar. Kanımızca karaciğer için

toksik etki gösteren CCl₄ kemik iliğine de zararlı etki göstermiş olabilir. Bu yolla baskılanan kemik iliğinin hemopoez fonksiyonunu yeniden üstlenmiş olabilir. Nitekim son yıllarda yapılan çalışmalarda CCl₄'ün, karaciğerde fibrozis oluştururken, kemik iliğini de baskıladığı ve granülomonopoez ve eritropoez oranını azalttığı gösterilmiştir. İlerlemiş karaciğer fibrozisinin hemopoetik sistemi fonksiyonel olarak baskılaması, karaciğerde fibrotik olayın gelişmesinde önemli bir faktör olarak öne sürülmüştür (82,83,84). Öte yandan son yıllarda hasarlanmış karaciğerin rejenerasyonunda görev alan, 'hepatik oval hücre' olarak isimlendirilen yeni hücreler tanımlanmıştır. Bu hücrelerin aktive olması için ciddi bir karaciğer hasarının gelişmesi ve buna bağlı olarak hepatositlerin proliferasyonunun inhibe olması gerekmektedir. Bu hücreler hepatositlerin ve safra kanalı epitelinin bipotansiyel progenitör hücreleri olarak kabul edilmektedir. Kemik iliğinin stem hücrelerinin hepatik oval hücrelerin önemli bir kaynağı olduğu gösterilmiştir (85,86,87,88,89,90). Bu hücreler intrahepatik safra ağacında, özellikle, portal veya periportal alanda ve fibrozis septalarında yerleşirler (86,91,92,93). Bu hücrelerin portal alanda biriktikten sonra zamanla periportal alanlara ve midzonal hepatik parankimaya doğru itildiği gösterilmiştir (94). Sells S (95) çalışmasında submasiv nekroz, alkolik karaciğer hastalığı ve fokal nodüler hiperplazi gibi durumlardan sonra üç tip progenitör hücre tanımlamıştır. Bu hücrelerden ilki olan, marginal kromatinli oval şekilli tip I hücre komşu karaciğer hücreleri ile bağlantı kompleksleri oluşturmaktadır. Tip II hücre kanallarda yerleşmektedir. Tip III hücre ise hepatosit benzeri hücredir, hücre kordonlarında yerleşerek safra kanaliküllerini oluşturmaktadır (95). Öte yandan bazı araştırmacılar hepatik oval hücrelerin, hepatositlere dönüşürken, karaciğer parankimasında yer alan, olgun hepatositlere benzeyen küçük, oval hücreler dönüştüğünü, bu hücrelerin daha sonra hepatositleri oluşturduğunu öne sürmektedirler (96,97).

Çalışmamızda yer yer portal alanda bağ dokusu içinde, yer yer de parankimada gördüğümüz bu hücreler kemik iliği kökenli hepatik oval hücreler veya bu hücrelerin dönüştüğü küçük, oval, hepatositler veya Sells S'nin çalışmasında belirttiği tip I veya tip III hücreler olabilir. Kromatin özelliği daha çok tip I hücrelere benzemekle beraber, hücreleri tanımda ışık mikroskopik rutin boyama yöntemlerinin yetersiz olduğu kesindir. Bu hücrelerin aydınlatılmasında çeşitli immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Biz de gözlemlediğimiz bu hücreleri spesifik olarak tanımlamak için, ileriye yönelik yeni çalışmalar planladık. Öne sürdüğümüz üç hücre de karaciğerde rejenerasyon olaylarında görevli hücrelerdir. Rejenerasyonda görevli diğer hücre tipi olan Ito hücrelerinin de aynı zamanda bu grupta artmış olması kanımızca

oldukça anlamlıdır. Nitekim Bustas M (98) ve ark. çalışmalarında kolanjiyofibrotik lezyonlarda oval hücrelerle birlikte Ito hücrelerinde ve fibronektin birikiminde artış saptamışlardır. CCl₄ uygulamasından sonra sıçan karaciğerinde saptadığımız en belirgin özellik vakuolizasyondur. Bu vakuollerin lipid damlaları olabileceğini düşünerek özel yağ boyaları uyguladık. Sonuçta sitoplazmada vakuolizasyona yol açan nedenin lipid birikimi olduğuna kanaat verdik. CCl₄'ün karaciğer yağlanması neden olduğu gösterilmiştir (29,30,34,35,37,61,62,63). CCl₄ uygulamasından 3 saat sonra ışık mikroskopik düzeyde lipid damlaları gözlenir(30). CCl₄'ün intragastrik uygulamasında 30 dk sonra hepatik lipid metabolizmasında bozulma ortaya çıkar. Hepatik lipid metabolizmasındaki bu hızlı bozulma yapısal ve metabolik değişikliklere neden olur (32). Karaciğer yağlanması hepatositlerde çok sayıda değişik büyüklükte yağ damlalarının görülmesiyle karakterizedir. Bu damlacıklar genellikle birbirleriyle birleşerek bütün sitoplazmayı kaplayan yağ kitlelerine dönüşürler. Ortaya çıkan yağ kistleri karaciğer yağlanmasının geç dönemlerini temsil eder (99). Biz de CCl₄ uyguladığımız grupta hepatosit sitoplazmalarında çok sayıda, değişik büyüklüklerde lipid damlaları saptadık. Bu damlaların yer yer birleşerek bütün sitoplazmayı dolduran, bazen nükleusta şekil bozukluğuna neden olan tek lipid damlasına dönüştüğünü gözledik. CCl₄'e bağlı karaciğer yağlanmasında karaciğer tarafından alınan esterleşmemiş yağ asitleri miktarının artması sebeplerden biridir. Yağ asidi oksidasyonun azalması da karaciğer yağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Hepatositlerde lipoprotein yapımında ve sekresyonunda meydana gelen bir blok toksik karaciğer yağlanması şeklinde görülen bir çok vakanın patogeneğinde rol oynamaktadır (99). Karaciğer yağlanmasında hepatositlerde mitokondrilerde genişleme, vakuoler yapılar ve endoplazma retikulumunda artış izlenir (77). CCl₄ uygulamasından 10-20 dk sonra golgi aparatusunda trigliserid birikimi, trigliserid atılımında azalma ve protein sentezinde azalma ortaya çıkar. ER ve mitokondrilerdeki morfolojik değişiklikler uygulamadan sonraki 1. saat içinde gözlenir. Karaciğer yağlanması uygulamadan 12-24 saat sonra en belirginleşir. CCl₄ uygulamasından birkaç saat sonra ER dilatasyon, hepatositlerde sitoplazmik vakuoller ve lipozomlar ve mitokondri ve Golgi kompleksinde değişiklikler gözlenmiştir. CCl₄'ün biomembranlarda yol açtığı hasar su ve elektrolit dengesini bozarak normal hücre fonksiyonunu baskılar. CCl₄'ün sıçan karaciğer'de mitokondrilerde şişmeye neden olduğu gösterilmiştir. Mitokondriyal kalsiyum (Ca⁺⁺) pompası hücre fonksiyonların devamında yaşamsal öneme sahiptir. Uygulamadan 10-15 dk sonra hasara uğrayan mitokondriyal kalsiyum (Ca⁺⁺) pompa sistemi hepatositlerdeki patolojik değişikliklerden sorumlu tutulmaktadır. Karaciğer hücrelerinden trigliseridlerin plazmaya atılımı başlıca lipoprotein

sekresyonu şeklinde olur. CCl₄ uygulamasından sonra karaciğer yağlanmasına neden olan trigliserid birikimi golgi aparatusundan lipoprotein damlaların sekresyonunda haloalkilasyona bağımlı bir blokla başlar (47).

Çalışmamızda yağlanmayı santral ven çevresinde yoğun olarak izledik. Periportal alanların hepatositleri nadir lipid damlaları içeriyordu. Bu bölgesel farkın, klasik karaciğer lobülünün farklı zonlarında yerleşen hepatositlerin farklı metabolik aktivitede olmasından kaynaklanabileceğini düşündük. Nitekim fizyolojik ve patolojik koşullarda yağ birikimi santral zon çevresindeki hücrelerde başlar (20).

CCl₄ intoksikasyonunda sıçan karaciğerinde glikoneogenez ve Krebs siklusunun değişikliğe uğradığı gösterilmiştir (100). Uygulamadan 40. saat sonra karaciğer glikojeni azalır (32). Siroz başlangıcında hepatik glikoz metabolizması bozulur. Absorptif dönemde portal ven sirkülasyonuna glikoz atılımında yetersizliğe bağlı olarak hepatik glikojen miktarı azalır. Postapsorptif dönemde glikojenoliz yoluyla hepatik glikoz üretimi düşer (100). Glikojende azalma hepatositlerde regülatuar metabolit konsantrasyonlarındaki değişikliklere, normal asiner yapıdaki bozulmaya veya glikojen yıkımındaki alternatif yollara da bağlanabilir (101). Tamir olayında daha fazla enerji gereksinimi de muhtemelen glikojen azalmasına katkıda bulunmaktadır (29). Biz de çalışmamızda CCl₄ grubunda karaciğer glikojeninde belirgin azalma saptadık. Kontrol grubunda ve CCl₄ grubunda glikojen daha çok periportal hepatositlerin sitoplazmalarında izlendi. Kanımızca kontrol grubunda ve CCl₄ grubunda hepatosit glikojen miktarının zonal farklılıklar göstermesi, farklı zonlardaki hücrelerin glikojen metabolizmalarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim glikojen önce periportal alanlardaki hepatositlerde birirmektedir (20).

CCl₄ grubunda safra kanallarında proliferasyon ve epitelinde yassılaşma gözledik. Kanımızca epitel yassılaşması artan bağ dokusunun basıncı nedeniyle gelişmektedir. Safra kanalı proliferasyonu ise karaciğerde tetiklenmiş olan rejenerasyonun bir sonucu olabilir düşüncesindeyiz. Nitekim rejenerasyonda görev aldıkları düşünülen hepatik oval hücreler yer yer hepatositlere, yer yer de safra kanallarının epitel hücrelerine dönüşmektedir. Bu da safra kanallarında proliferasyona yol açabilir (20,85,86,87,88,89,90,95).

CCl₄ sinüzoidlerde genişleme ve düzensizleşmeye neden olur (5,75). Biz de çalışmamızda sinüzoidlerde dilatasyon izledik.

Betain bir kolin metabolitidir. Kolin, mitokondride önce betain aldehide, daha sonra bir metil vericisi olan betaine dönüşür. Betain mitokondriden sitozole geçer. Sitozolda, betainden kaynaklanan labil metil grupları homosisteinin metiyonine dönüşmesi gibi çeşitli

transmetilasyon reaksiyonlarında kullanılır (47,56,102,103,104,105,106,107). Metiyonin daha sonra aktif bir metilleyici madde olan SAM'a metabolize olur. SAM yüzden fazla reaksiyonda kullanılan bir metil vericisidir. Nükleik asitlerin, hormonların nörotransmitter maddelerin, hücre membranlarının sentez, aktivasyon ve metabolizma gibi pek çok yaşamsal biyokimyasal reaksiyonlarda labil bir metil grubu kaynağı olarak görev alır. Karaciğerde üretilen SAM'ın %30 özel bir taşıyıcı sistem aracılığı ile mitokondriye geri alınır (47,104,105,106,107,108,109,110,111). Transmetilasyon reaksiyonları hücre membranlarının yapılanması için mutlaka gerekli olan fosfatidilkolin sentezini başlatır. SAM'ın CCl₄'ün neden olduğu DNA hipometilasyonunu engellediği gösterilmiştir. Sıçan karaciğer'inde DNA hipometilasyonu sirozla sonuçlanır (29). Betainin kolinin oksidasyonu ve gıdalar olmak üzere iki kaynağı vardır (42). Kolinin insan vücudunda 3 ana fonksiyonu vardır. Birincisi fosfatidilkolin ve fosfolipidler gibi diğer kompleks kolinlerin biyosenzini kolaylaştırarak plazma fosfolipidlerinin sentezinde ve hücre membranlarının yapısında oynadığı önemli roldür. İkinci önemli rolü bir nörotransmitter olan asetilkolin sentezinde rol oynadığı direkt metabolik fonksiyonudur (47). Üçüncü rolü ise labil metil grubu kaynağı olan betain yoluyla gerçekleştirdiği fonksiyonlarıdır (44,47). Betainin osmotik stres esnasında farklı hücrelerde intrasellüler osmolit olarak görev yapan aktif bir molekül olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (47,52,53,54,55,56,57,78,110,112).

Düşük doz betain uygulamasının (15 mg/kg) akut CCl₄ hepatotoksitesine bağlı hasarının giderilmesinde belirgin etkisi olduğu gösterilmiştir (113). Betain, sitokrom P-450 enzimlerinin aktivitesini artırarak CCl₄'ün neden olduğu sentirlobüler nekrozu azaltmaktadır. Farelerde oral ve intraperitoneal betain uygulaması CCl₄'ün neden olduğu karaciğer hasarını azaltmaktadır. Sıçan karaciğerinde CCl₄ toksisitesi üzerine betainin belirgin bir lipotropik ve koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Karaciğer yağlanmasında betain lipotropik özelliği ile etkili olmaktadır. Kolinin betaine oksidasyonu insanlarda sıçanlardan olduğundan daha az etkin olduğundan dolayı, insanlarda CCl₄'e bağlı karaciğer hasarının tıbbi tedavisinde kolin daha az etkili olabilir (29,114,115). Köpeklerde CCl₄ hepatotoksitesinde kolinin rejeneratif etkisi olduğu gösterilmiştir (116). Betainin karaciğer yağlanması üzerine yararlı SAM üretimini stimüle etme yeteneğine bağlı olabilir. SAM, fosfatidiletanolamini fosfatilkoline metilasyon yoluyla çevirerek hücre membran fonksiyonu oluşumunu ve tamirini sağlar. SAM eksikliği dolayısı ile membran fonksiyon ve tamirindeki yetersizlik lipoprotein oluşum ve transportunda bozulmaya yol açar. Böylece karaciğer fonksiyon yetersizliğini artmaktadır (106,108,117,118,119,120).

Çalışmamızda CCl₄'ün neden olduğu histopatolojik değişiklikler üzerine betainin yararlı etkilerini gözlemledik. CCl₄ ile birlikte 830mg/kg/gün betainin intragastrik yolla 4 gün uygulanması karaciğer histolojinde belirgin düzelme sağladı. Karaciğer yağlanması, nekroz, apoptoz ve fibrozis belirgin şekilde azalmıştı. Ito hücre sayısı CCl₄ grubuna oranla azdı. Hepatositlerin glikojen içeriği normale yakındı. Oval hücre grupları nadirdi. Mast hücre sayısı azalmıştı. Ancak karaciğer dokusu normal histolojik özelliklerine kavuşmamıştı. Fibrozisin azalması ile bağlantılı olarak Ito hücrelerini, mast hücrelerini ve oval hücreleri CCl₄ grubuna oranla daha seyrek görmemiz anlamlıydı.

Kanımızca betain fibrozis ve karaciğer yağlanması ile giden patolojik durumlarda etkili bir terapatik ajan olarak kullanılabilir. Çalışmamızda betaine bağlı en belirgin olumlu değişiklik fibrozis ve yağlanmada azalma şeklinde saptandı. Betainin fibrozisi azaltıcı etkisi hepatositleri nekrotik ve apoptotik değişikliklere karşı koruyucu etkisi dolayısı ile rejenerasyondaki aktivasyonu baskılamasına bağlı olabilir. Nitekim farelerde betainle oral tedavi sonrasında CCl₄'e bağlı karaciğer nekrozunda azalma saptanmıştır (29).

Betainin lipotropik bir ajan olarak kabul edilmektedir (42). Betaine dönüşen kolinin diyetle eksikliği sıçanlarda sentri lobüler hepatik yağlanma sebebidir. Kolinden eksik diyet 3-4 gün içinde hepatositlerde ciddi mitokondrial hasara sebep olmaktadır. Kolin hücre membran fosfolipitlerinin önemli bir elemanıdır. Kolin yetmezliğinde lipid oksidasyonu artar, bu da biomembranların normal yapı ve fonksiyonunu kaybetmesine sebep olur (47). Sıçanlarda diyetle 15-48 saat kolin eksikliğinin granüler ve agranüler ER sisternalarında dilatasyon ve parçalanma oluşturduğu, bütün hücrede çok sayıda değişik büyüklüklerde lipid damlaları birikmesine sebep olduğu gösterilmiştir (121). Total parenteral beslenme durumunda ortaya çıkan kolin yetmezliğinin siroza yol açtığı sıçan ve maymunlarda gösterilmiştir (122). Uzun süre total parenteral nitrüsyon olan hastalarda paranteral formulalara kolin eklenmesi yağlı karaciğer gelişimini büyük ölçüde azaltmaktadır (42). Buchman ve arkadaşlarının total parenteral beslenme alan karaciğer yağlanması olan hastalar üzerindeki yaptıkları çalışmada beslenme sıvısına kolin klorid eklenmesinin karaciğer bozukluklarının düzelmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (122).

Kolinin doğal bir metaboliti olan betain, karaciğer yağlanmasını azaltan SAM seviyelerinde artışa neden olmaktadır. Kolinin önemli bir fonksiyonu diaçilgliserol ile birleşerek fosfatidilkolin (lesitin) oluşturmasıdır. Lesitin hücre membranlarının bir komponentidir ve fonksiyonel VLDL'nin de önemli bir komponentidir. Hepatositlerde yağın uzaklaştırılmasının tek mekanizması VLDL sentezi ve atılımıdır. Bu nedenle yetersiz fosfatidilkolin (lesitin) fonksiyonel VLDL üretimini engeller. Böylece aşırı trigliserid

birikerek yağlı karaciğer oluşturur (42,48,49,123). Böylece yağlı karaciğer plazmaya hepatik trigliseridlerin plazmaya VLDL olarak atılımındaki bloktan dolayı oluşur ER membranlarında trigliserid biyosentezi değişmemektedir. Bu arada lipid peroksidasyonun artması hepatositlerde trigliserid ve lipoprotein damlalarının birikmesine yol açarak olaya katkıda bulunmaktadır (47,116). Kültürde kolin yetmezliği nedeniyle bozulan VLDL sekresyonun betain ilavesi ile düzeldiği gösterilmiştir. Bu da betainden kaynaklanan bir metil grubunun fosfatidiletanolaminin metilasyonu yoluyla fosfatilkolin oluşumunda kullanıldığını göstermektedir (47). Nonalkolik karaciğer yağlanması olan hastalarda betainin biyokimyasal ve histolojik belirgin düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle betain emniyetli ve iyi tolere edilen bir ilaç olarak kabul edilebilir (42,48,49,123). Kanbak ve arkadaşları (124) sıçanlarda oluşturulan alkolik karaciğer üzerine betainin yararlı etkilerini göstermişlerdir. Betain uygulanan grupta karaciğer dokusu hemen hemen tamamen normale dönmüştür (124). Betain, hipolipotropik bir diyetle birlikte sıçanlarda diyeter sirozun düzeltilmesinde kullanılmıştır. Sıçanlarda betain'in alkole bağlı karaciğer yağlanmasını azalttığı gösterilmiştir. Betain uygulaması karaciğer yağlanmasını %30 oranında azaltmaktadır (29).

Çalışmamızda CCl₄'ün sıçan karaciğerinde oluşturduğu değişiklikleri ve bu değişiklikler üzerine betainin olası yararlı etkilerini incelemeyi amaçladık. CCl₄ grubunda nekroz, apopitoz, fibrozis, yağlanma, Ito hücresi, mast hücresi ve oval hücre artışı gibi histopatolojik değişiklikler izledik. CCl₄ ile birlikte betain uygulamasının özellikle nekroz, apopitoz, fibrozis ve yağlanma üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini saptadık. Betainin fibrozis ve yağlanmayla giden karaciğer hastalıklarında yararlı etkileri olan, güvenle kullanılacak bir terapötik ajan olduğu sonucuna vardık.

6. ÖZET

Karaciğer ekzokrin ve endokrin sekresyon yapan bir bezdir. CCl₄ hepatotoksik bir maddedir. Karaciğerde fibrosiz, sentrilobüler yağlanma, nekroz, apopitoz, mononükleer hücre infiltrasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Yüksek dozlarda kullanıldığında siroza neden olabilir. Betain bir kolinin metabolitidir. Transmetilasyon reaksiyonlarını kolaylaştıran lipotroplardan biridir. S-Adenozilmetiyonin (SAM) ve fosfolipid biyosentezine yol açar. SAM ise CCl₄'ün neden olduğu DNA hipometilasyonunu engeller.

Çalışmamızda sıçan karaciğerinde CCl₄ ile oluşacak olan histopatolojik değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine betainin olası yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla 20 adet dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Sıçanlar dört gruba ayrıldı. Bu gruplar aşağıdaki gibiydi: Grup I: Kontrol, Grup II: CCl₄ grubu, Grup III: Betaine grubu, Grup IV: CCl₄ + Betaine grubu. 4 gün süreyle 1ml/kg/gün subkutan (SC) CCl₄ ve 830mg/kg/gün 0.7ml konsantre betain solüsyonun intragastirik uygulamasından sonra dekapite edilen sıçanların karaciğerleri çıkarılarak %10 Nötral tamponlanmış formalin, Bouin ve formol alkolde tesbit edildi. Işık mikroskopik incelemede, CCl₄ grubunda, belirgin fibrozis, sentrilobüler yağlanma, nekroz, apopitoz, hücre infiltrasyonu gözlemlendi. CCl₄ + Betain grubunda bu bulgularda azalma saptandı. Karaciğer fibrosizi ve yağlanmasında betainin yararlı etkileri olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: CCl₄, betain, karaciğer, sıçan, mikroskopi

7. SUMMARY

Liver functions as an endocrine and exocrine gland. Carbon tetrachloride (CCl₄) is a hepatotoxic agent. It induces hepatic fibrosis, centrilobular steatosis, necrosis, apoptosis, mononuclear cell infiltrations. Its higher doses may cause cirrhosis. Betaine is a choline metabolite. It is one of the lipotropes that facilitates transmethylation reactions. It induces S-adenosylmethionine (SAM) and phospholipid biosynthesis. SAM prevents DNA hypomethylation due to CCl₄.

In the present study, we aimed to investigate the histopathological alterations induced by CCl₄ and probable beneficial effects of betaine on these changes in the liver of rats. Twenty female Sprague Dawley rats were used in this study. Rats were divided to four groups. These groups were as follows: Group I: Control, Group II: CCl₄ administered group, Group III: Betaine administered group, Group IV: CCl₄ + Betaine administered group. CCl₄ was administered subcutaneously (1 ml/kg/day) and betaine was administered by intragastric entubation (830mg/kg/day in 0.7 ml concentrated solution) for 4 days. At the end of four days, rats were decapitated and their livers were removed. These samples were fixed in 10 % notral buffered formalin, Bouin and formol alcohol fixatives. By light microscope, prominent fibrosis, centrilobular steatosis, necrosis, apoptosis, and cell infiltration were observed in CCl₄ group. Prominent improvement was observed in CCl₄+ Betaine group. It is concluded that betaine may be beneficial on liver fibrosis and steatosis.

Key words: CCl₄, betaine, liver, rat, microscopy

8. KAYNAKLAR

- 1) Odar İV. Anatomi. Yeni baskı. Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara 1986: 115-138.
- 2) Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y çeviri editörü. Eighth edition. Barış kitapçılık. İstanbul. 1998:307-319.
- 3) Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Antıp A.Ş. Yayınları. Ankara 2002:79-84.
- 4) Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji. Uluoğlu Ö çeviri editörü. 4.baskı. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara 1990:10-779.
- 5) Çınar A, Yörük M, Meral İ, Kılıçalp D, Koç A, Ertekin A. Karbon tetraklorür (CCl₄) ile Tavşanlarda Deneyisel Olarak Oluşturulan Akut ve Kronik İntoksikasyonun Karaciğerin Histolojik Yapısına, Bazı Hematolojik değerlere ve Elektrokardiyogram üzerine Etkileri. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi. 1997:1-9.
- 6) Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. baskı. Tıp Teknik Yayıncılık Ltd. Şti. Ankara 1998:301-302.
- 7) Moore KM, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H çeviri editörleri. 1.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 2002:279-280.
- 8) Sadler TW. Medikal Embriyoloji. Seventh edition. Williams-Wilkins Company. Çeviri editörü: Başaklar AC. Palme yayıncılık. 1996:242-244.
- 9) Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi. 6.baskı. Evrim Basım Yayın Dağıtım. İstanbul 1989:181-182.
- 10) Drews U. Renkli Embriyoloji Atlası. Çeviri editörleri: Aytekin Y, Gürsoy E, Solakoğlu S. Nobel Tıp Kitabevleri. 2000:320-321.
- 11) Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Text / Atlas of Histology. W.B.Saunders Company. 1988:475-496.
- 12) Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 2.Baskı. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara 1997: 335-345.
- 13) Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 1.Baskı. Beta Basım Yayın Dağıtım A.Ş. İstanbul 1994:137-140.
- 14) Sarsılmaz M. Anatomi. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti. Ankara 2000: 154-155.
- 15) Snell RS. Anatomi. 1.baskı. Yıldırım M, çeviri editörü. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti. İstanbul 1998:216-221.

- 16) Dere F. Anatomi. 4. Baskı. Okullar Pazarı Kırtasiye ve Tic. Ltd. Şti. Adana 1996:632-643.
- 17) Williams PL. Gray's Anatomy. Thirty-Eighth Edition. Churchill Livingstone. 1995:1795-1810.
- 18) Fawcett DW, Jensh RP. Bloom-Fawcett: Concise Histology. Chapman-Hall USA. 1997:211-220.
- 19) Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. Second edition. W.B. Saunders USA. 2001:420-432.
- 20) Paker Ş. Histoloji. 2. baskı. Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1993:361-371.
- 21) Krstic RV. Human Microscopic anatomy. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. 1991:224-239.
- 22) McGee J O'D. The liver and biliary system. Oxford Textbook of Pathology. Volume 2a. Oxford University Press. 1992:1287-1338.
- 23) Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology a text and atlas. Third edition. Williams-Wilkins. 1995:496-524.
- 24) Young B, Heath JW, Stevens A, Lowe JS, Deakin PJ. Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas. Fourth edition. Churchill Livingstone. 2000:274-281.
- 25) Sodeman WA, Sodeman TM. Sodeman's Fiziopatoloji. Türkçe 2. Cilt. 1. Baskı. Türkiye Klinikleri Yayınevi. Ankara 1992:954-991.
- 26) Noyan S, Kahveci Z, Çavuşoğlu İ, Minbay FZ, Sunay FB, Sırmalı ŞA. Uzamış Fiksasyonun Perisinüzoidal Hücrelerin Altın İmpregnasyonu Üzerine Etkisi. Bursa Devlet Hastanesi Bülteni. 1999;14(2).
- 27) Temel S, Gökçimen A. Karaciğer Yıldızsı Hücreleri (Ito Hücreleri). T Klin Tıp Bilimleri 2002 (22):342-348.
- 28) Martindale The Extra Pharmacopoeia. Thirty-first Edition. Edited by Reynolds JEF. Deputy Editor: Parfitt K. London. Royal Pharmaceutical Society. 1996:1399.
- 29) Junnila M, Rahko T, Sukura A, and Lindberg L.-A. Reduction of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxic Effects by Oral Administration of Betaine in Male Han-Wistar Rats: A Morphometric Histological Study. Vet Pathol 2000;37:231-238.
- 30) Klaassen CD, Amdur MO, Doull J. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. Third Edition. Macmillan Publishing Company. 1986. (Chapter 10. Toxic Responses of The Liver; Plaa GL.). 1986:286-309.

- 31) Reynolds ES, Thiers RE and Vallee BL. Mitochondrial Function and Metal Content in Carbon Tetrachloride Poisoning. *J Biol Chem* 1962;237(11):3546-3551.
- 32) Recknagel RO. Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity. *Pharmacological Reviews*. 1967;19(2): 145-208.
- 33) Özcan O, Karaöz E. Sıçanlarda Karbon Tetraklorür Hepatotoksitesine Karşı E Vitaminin Etkisi. *Doğa-Tr.J.of Medical Sciences* 1992;16:45-54.
- 34) Ariosto F, Riggio O, Cantafora A, Colucci S, Gaudio E, Mechelli C, Merli M, Seri S, Capocaccia L. Carbon Tetrachloride-Induced Experimental Cirrhosis in the Rat: A Reappraisal of the Model. *Eur Surg Res* 1989;21:280-286.
- 35) Fischer-Nielsen A, Poulsen HE, Hansen BA, Hage E and Keiding S. CCl₄ cirrhosis in rats: irreversible histological changes and differentiated functional impairment. *J Hepatology* 1991;12:110-117.
- 36) Canpolat L, Kükner A, Baydaş G, Çay M, Ozan E. Sıçanlarda Karbontetraklorürün Hepatotoksik Etkisine Karşı Selenyum ve E Vitamininin Etkileri. II-Electron Mikroskopik Gözlemler. *Fırat Tıp Dergisi* 1:5.1998:279-283.
- 37) Lieber CS. Prevention and Treatment of Liver Fibrosis Based on Pathogenesis. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999;23(5):944-949.
- 38) Masaki N, Yamada S, Ogata I, Ohta Y and Fujiwara K. Enhancement of Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury by Glucagon and Insulin Treatment. *Res Exp Med* 1988;188:27-33.
- 39) Ohta Y, Kongo M, Sasaki E, Nishida K, Ishiguro I. Therapeutic effect of melatonin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *J. Pineal Res*. 2000; 28:119-126.
- 40) Sato S, Dai W, Liu XL, Asano G. The protective effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: an ultrastructural study. *Med Electron Microsc* 1999;32:184-192.
- 41) Murakami T, Nāgamura Y, Hirano K. Ethanolamine stimulates repair processes in acute CCl₄ damage of mouse liver. *Toxicology Letters* 94 1998:137-144.
- 42) Brent A, Neuschwander-Tetri M.D. Betaine: An Old Therapy for a New Scourge. *Am J Gastroenterology* 2001;96:2534-2536.
- 43) The Merck Index. Susan Budavari, Editor. Twelfth Edition. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, N.J. U.S.A. 1996:198.
- 44) Barak AJ and Tuma DJ. Betaine, Metabolic By-Product Or Vital Methylating Agent?. *Life Sciences* 1982;32:771-774.

- 45) Tokmakjian SD, Wu M and Milton Haines DS.1989.Increased catabolism of phosphatidylcholine to betaine regulates the liver phosphatidylcholine content in rats fed orotic acid. *Biochem Int* 18:751-757.
- 46) Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Lippincott's Illustrated Review Pharmacology. 2.baskı. Çeviri editörleri: Berkman K, Oktay Ş, Onat F, Gören Z. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti. İstanbul 1997: 35-44.
- 47) Junnila M. Betaine as a lipotropic agent and as an alleviator of osmotic stress. Helsinki 2000:1-68.
- 48) Yao ZM and Vance DE.1989.Head group specificity in the requirement of phosphatidylcholine biosynthesis for very low density lipoprotein secretion from cultured hepatocytes. *J Biol Chem* 264:11373-11380.
- 49) Yao ZM and Vance DE.The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes.*J Biol Chem* 1988;263:2998-3004.
- 50) Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. Ninth edition. Çeviri editörü: Güzel C. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul 1996:883-888.
- 51) Haussinger D 1996.The role of cellular hydration in the regulation of cell function.*Biochem J* 313:697-710.
- 52) H.Kettunen, S.Peuranen, K.Tiihonen.Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chick, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 129 (2001) 595-603.
- 53) Warskulat, U., Wettstein, M., Haussinger, D.,1995. Betaine is an osmolyte in RAW 264.7 mouse macrophages. *FEBS Lett* 377, 47-50.
- 54) Zhang, F., Warskulat, U., Wettstein, M., Haussinger, D., 1996. Identification of betaine as an osmolyte in rat liver macrophages (Kupffer cells). *Gastroenterology* 110, 1543-1552.
- 55) Weik,C, Warskulat, U., Bode, J., Peters-Regehr, T., Haussinger, D., 1998. Comparable organic osmolytes in rat liver endothelial cells. *Hepatology* 27, 1543-1552.
- 56) Wettstein M, Weik C, Holneicher C, Haussinger D. Betaine as an osmolyte in rat liver: metabolism and cell-to-cell interactions. *Hepatology* 1998; 27: 787-793.

- 57) Peters-Regehr T, Bode JG, Kubitz R, Haussinger D. Organic osmolyte transport in quiescent and activated rat hepatic stellate cell (Ito cells). *Hepatology* 1999;29: 173-180.
- 58) Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 3rd edition. Churchill Livingstone. Great Britain 1990:109-223.
- 59) Humason GL and Lushbaugh CC. Selective demonstration of elastin, reticulin and collagen by silver, orcein and aniline blue stain technology. *Vol:35 No: 4 July 1960: 209*
- 60) Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. *Armed Forces Institute of Pathology Laboratory Methods in Histotechnology*. American Registry of Pathology. Washington 1992:134-135.
- 61) Kissane JM. *Anderson's Pathology*. Ninth Edition. The C.V. Mosby company. 1990;(1):16-18.
- 62) Yasuda M, Okabe T, Itoh J, Takekoshi, S, Hasegawa H, Nagata H, Osamura RY and Watanabe K. Differentiation of Necrotic Cell Death With or Without Lysosomal Activation: Application of Acute Liver Injury Models Induced by Carbon Tetrachloride (CCL₄) and Dimethylnitrosamine (DMN). *The Journal of Histochemistry Cytochemistry*. 2000;48(10):1331-1339.
- 63) Shi J, Aisaki K, Ikawa Y and Wake K. Evidence of Hepatocyte Apoptosis in Rat Liver after the Administration of Carbon Tetrachloride. *American J. of Pathology* 1998;153(2);515-525.
- 64) Sanzgiri U.Y, and Bruckner J.V. Effect of Emulphor, an Emulsifier, on the Pharmacokinetics and Hepatotoxicity of Oral Carbon Tetrachloride in the Rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 1997;36:54-61.
- 65) Bruckner JV, Mackenzie WF, Muralidhara S, Luthra R, Kyle GM, and Acosta D. Oral Toxicity of Carbon Tetrachloride: Acute, Subacute, and Subchronic Studies in Rats. *Fundamental and Applied Toxicology* 1986;6:16-34.
- 66) Hall P De La M, Plummer JL, Ilsley AH and Cousins MJ. Hepatic Fibrosis and Cirrhosis after Chronic Administration of Alcohol and "Low-dose" Carbon Tetrachloride Vapor in the Rat. *Hepatology* 1991;13:815-819.
- 67) Kim HJ, Bruckner JV, Dallas CE and Gallo JM. Effect of Dosing Vehicles on the Pharmacokinetics of Orally Administered Carbon Tetrachloride in Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1990;102:50-60.

- 68) Sheweita S.A, Abd El-Gabar M, Bastawy M. Carbon tetrachloride changes the activity of cytochrome P450 system in the liver of male rats: role of antioxidants. *Toxicology* 2001; 169:83-92.
- 69) Camps J, Bargallo T, Gimenez A, Alie S, Caballeria J, Pares A, Joven J, Masana L, Rodes J. Relationship between hepatic lipid peroxidation and fibrogenesis in carbon tetrachloride- treated rats: effect of zinc administration. *Clin Sci (Lond)* 1992 ;83 (6):695-700.
- 70) Terao J, Asano I, and Matsushita S. High- Performance Liquid Chromatographic Determination of Phospholipid Peroxidation Products of Rat Liver after Carbon Tetrachloride Administration. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1984;235(2):326-333.
- 71) Dinçer S, Özenirler S, Öz E, Akyol G and Özoğul C. The protective effect of taurine pretreatment on carbon tetrachloride- induced hepatic damage- A light and electron microscopic study. *Amino Acids*. 2002;22:417-426.
- 72) Nanni G, Majorani F, Maloberti G, Canepa C, Casu A. Action of chronic CCl₄ on the retinol and dolichol content of rat liver parenchymal and non-parenchymal cells. *Life Sciences* 2000; 67:2293-2304.
- 73) Yokohama S, Yoneda M, Watanobe H, Kono T, Nakamura K, Makino I, Terano A. Effect of central urocortin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Neuroscience Letters*. 2001;313:149-152.
- 74) Ozeki T, Funakoshi K and Iwaki K. Rapid induction of cirrhosis by administration of carbon tetrachloride plus phospholipase D. *Br. J. Exp. Path.* 1985;66:385-390.
- 75) Kim HJ, Odend'hal S and Bruckner JV. Effect of Oral Dosing Vehicles on the Acute Hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride in Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1990;102:34-49.
- 76) Canpolat L, Kükner A, Baydaş G. Sıçanlarda Karbon Tetraklorür'ün Hepatotoksik Etkisine Karşı Selenyum ve E Vitamini'nin Etkileri (I-Işık Mikroskopik Gözlemler). *Fırat Tıp Dergisi* 1: 2. 1996:56-59.
- 77) Lieber CS. Hepatic, Metabolic, and Nutritional Disorders of Alcoholism: From Pathogenesis to Therapy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2000;37(6):551-584.
- 78) Haussinger D, Schliess F, Warskulat U and vom Dahl S. Liver cell hydration. *Cell Biology and Toxicology*. 1997;13:275-287.

- 79) Sugihara A, Tsujimura T, Fujita Y, Nakata Y and Terada N. Evaluation of role of mast cells in the development of liver fibrosis using mast cell-deficient rats and mice. *J. Hepatology* 1999;30:859-867.
- 80) Kiiarov AP, Gumerova AA. The Ito cells in ontogenesis and liver regeneration. *Tsitologiya* 2002;44(4):342-9.
- 81) Bissell DM. Hepatic fibrosis as wound repair: A progress report. *J Gastroenterol* 1998;33:295-302.
- 82) Shvarts YS, Zubakhin AA, Dushkin MI. Suppression of hemopoiesis during CCl₄-induced hepatic fibrosis: role of systemic endotoxemia. *Bull Exp Biol Med* 2000;130(8):759-762.
- 83) Zubakhin AA, Kutina SN. Functions of the bone marrow hemopoiesis-inducing microenvironment during CCl₄-induced liver cirrhosis. *Biull Eksp Biol Med* 1999;128(9):283-5.
- 84) Zubakhin AA, Kutina SN, Maiankii DN. Functional state of the hematopoietic system in different stages of CCl₄-induced liver fibrosis in mice. *Biull Eksp Biol Med* 1992;114(7):22-4.
- 85) Oh SH, Hatch HM, Petersen BE. Hepatic oval 'stem' cell in liver regeneration. *Semin Cell Dev Biol* 2002;13(6):405-9.
- 86) Forbes S, Vig P, Poulsom R, Thomas H, Alison M. Hepatic stem cells. *J Pathol* 2002;197(4):510-8.
- 87) Lorenti AS. Hepatic stem cells. *Medicina (B Aires)* 2001;61(5 Pt 1):614-20.
- 88) Ruch RJ, Trosko JE. The role of oval cells and gap junctional intercellular communication in hepatocarcinogenesis. *Anticancer Res* 1999;19(6A):4831-8.
- 89) Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells, *Science* 1999;284(5417):1168-70.
- 90) Alison MR, Golding MH, Sarraf CE. Pluripotential liver stem cells: facultative stem cells located in the biliary tree. *Cell Prolif* 1996;29(7):373-402.
- 91) Ma X, Qiu DK, Peng YS. Immunohistochemical study of hepatic oval cells in human chronic viral hepatitis. *World J Gastroenterol* 2001;7(2):238-42.
- 92) Yin L, Lynch D, Ilic Z, Sell S. Proliferation and differentiation of ductular progenitor cells and littoral cells during the regeneration of the rat liver to CCl₄/2-AAF injury. *Histol Histopathol* 2002;17(1):65-81.

- 93) Vessey CJ, de la Hall PM. Hepatic stem cells: a review. *Pathology* 2001;33(2):130-41.
- 94) Park DY, Suh KS. Transforming growth factor-beta1 protein, proliferation and apoptosis of oval cells in acetylaminofluorene-induced rat liver regeneration. *J Korean Med Sci* 1999;14(5):531-8.
- 95) Sell S. Comparison of liver progenitor cells in human atypical ductular reactions with those seen in experimental models of liver injury. *Hepatology* 1998;27(2):317-31.
- 96) Gordon GJ, Coleman WB, Grisham JW. Temporal analysis of hepatocyte differentiation by small hepatocyte-like progenitor cells during liver regeneration in retrorsine-exposed rats. *Am J Pathol* 200;157(3):771-86.
- 97) Braun KM, Sandgren EP. Cellular origin of regenerating parenchyma in a mouse model of severe hepatic injury. *Am J Pathol* 2000;157(2):561-9.
- 98) Bustos M, Sangro B, Alzuguren P, Gil AG, Ruiz J, Beraza N, Qian C, Garcia-Pardo A, Prieto J. Liver damage using suicide genes. A model for oval cell activation. *Am J Pathol* 2000;157(2):549-59.
- 99) Berkow R. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. Pekus RM çeviri editörü. 14.baskı. Merk Yayıncılık. İstanbul.1982:614-645.
- 100) Carvalho RA, Jones JG, McGuirk C, SherryAD, and Malloy CR. Hepatic gluconeogenesis and Krebs cycle fluxes in a CCl4 model of acute liver failure. *NMR Biomed.* 2002;15:45-51.
- 101) Krahenbuhl S, Weber FL, JR and Brass EP. Decreased Hepatic Glycogen Content and Accelerated Response to Starvation in Rats with Carbon Tetrachloride- induced Cirrhosis. *Hepatology* 1991;14:1189-1195.
- 102) Ridder JJM and Van Dam K. The Efflux of Betaine from Rat-Liver Mitochondria, A Possible Regulating Step in Choline Oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1973;291:557-563.
- 103) Finkelstein JD and Martin JJ. Homocysteine. *The International J of Biochem Cell Biology* 2000;32:385-389.
- 104) Finkelstein JD. Homocysteine: A History in Progress. *Nutrition Reviews.* 2000;58(7):193-204.
- 105) Finkelstein JD The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998;157(2):40-44.

- 106) Barak AJ, Beckenhauer HC, Kharbanda KK, Tuma DJ. Chronic ethanol consumption increases homocysteine accumulation in hepatocytes. *Alcohol* 2001;25:77-81.
- 107) Varela- Moreiras G. Nutritional regulation of homocysteine: effects of drugs. *Biomed Pharmacother* 2001;55:448-53.
- 108) Barak AJ, Beckenhauer HC, Badahsh S, Tuma DJ. The effect of betaine reversing alcoholic steatosis. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21(6):1100-1102.
- 109) Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J. Nutr. Biochem.*, 1990;1:228-237.
- 110) Kettunen H, Tiihonen K, Peuranen S, Saarinen MT, Remus JC. Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidia- infected broiler chicks. *Comparative Biochem and Physiology Part A* 2001;130:759-769.
- 111) Barak AJ, Beckenhauer HC, Medina VA, Tuma DJ, Methylation and Hepatotoxicity. *Surv. dig. Dis.* 1984;2:37-41.
- 112) Kuttunen H, Peuranen S, Tiihonen K, Saarinen M. Intestinal uptake of betaine in vitro and the distribution of methyl groups from betaine, choline, and methionine in the body of broiler chicks. *Comp Biochem Physiol Part A* 2001;128:269-278.
- 113) Murakami T, Nagamura Y, Hirano K. The recovering effect of betaine on carbon tetrachloride-induced liver injury. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1998;44(2):249-255.
- 114) Barak AJ, Beckenhauer HC. The Influence of Ethanol on Hepatic Transmethylation. *Alcohol & Alcoholism.* 1988;23(1):73-77.
- 115) Barak AJ, Beckenhauer HC, Junnila M and Tuma DJ. Betaine Effects on Hepatic Methionine Metabolism Elicited by Short- Term Ethanol Feeding. *Alcohol* 1996;13(5):483-486.
- 116) Junnila M, Barak AJ, Beckenhauer HC, Rahko T Betaine Reduces Hepatic Lipidosis Induced by Carbon Tetrachloride in Sprague- Dawley Rats. *Veterinary and Human Toxicology.* 1998;40(5):263-266.
- 117) Barak AJ, Beckenhauer HC, Tuma DJ. S-Adenosylmethionine generation and prevention of alcoholic fatty liver by betaine. *Alcohol* 1994;11:501-503.
- 118) Kanbak G, Akyuz A, Inal M. Preventive effect of betaine on ethanol-induced membrane lipid composition and membrane ATPases. *Arch Toxicol* 2001;75(1):59-61.

- 119) Barak AJ, Beckenhauer HC, Junnila M and Tuma DJ. Dietary Betaine Promotes Generation of Hepatic S-Adenosylmethionine and Protects the Liver from Ethanol-Induced Fatty Infiltration. *Alcoholism : Clinical and Experimental Research*. 1993;17(3):552-555.
- 120) Barak AJ, Beckenhauer HC, Junnila M and Tuma DJ. Methionine synthase: a possible prime site of the ethanolic lesion in liver. *Alcohol* 2002;26:65-67.
- 121) Estes L, and Lombardi B. Effect of Choline Deficiency on the Golgi Apparatus of Rat Hepatocytes. *Laboratory Investigation* 1969;21(5):374-385.
- 122) Buchman AL, Ament ME, Soheli M, Dubin M, Jenden DJ, Roch M, Pownall H, Farley W, Awal M and Ahn C. Choline Deficiency Causes Reversible Hepatic Abnormalities in Patients Receiving Parenteral Nutrition: Proof of a Human Choline Requirement : A Placebo- Controlled Trial. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2001;25(5):260-268.
- 123) Abdelmalek MF, Angulo P, Jorgensen RA, Sylvestre PB, Lindor KD. Betaine, a promising new agent for patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(9):2711-7.
- 124) Kanbak G, İnal M and Bayçu C. Ethanol-induced hepatotoxicity and protective effect of betaine. *Cell Biochem and Funct* 2001;19:281-285.