TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETANOLÜN RAT KARACİĞER PARANKİMİ VE VİTAMİN A DEPOLANMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK OLARAK İNCELENMESİ

Gonca CİHAN

HİSTOLOJİ-EMRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Levent ERGÜN

2010 - ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETANOLÜN RAT KARACİĞER PARANKİMİ VE VİTAMİN A DEPOLANMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK OLARAK İNCELENMESİ

Gonca CİHAN

HİSTOLOJİ-EMRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Levent ERGÜN

2010 - ANKARA

Ankara Ünivesitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Histoloji-Emriyoloji Doktora Programı
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 25/11/2010

Prof. Dr. Aytekin ÖZER
Uludağ Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Levent ERGÜN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Prof. Dr.Nesrin SULU
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Belma ALABAY
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ziya ÖZCAN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Karaciğerin Histolojisi	2
1.2. Ito Hücreleri	7
1.3. Lipid Metabolizması	8
1.4. Alkol Metabolizması	12
1.4.1. Alkole Bağlı Olarak Karaciğerde Gözlenen Değişiklikler	16
1.5.Vitamin A Metabolizması	18
1.6.Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Laboratuvar Testleri	20
2.GEREÇ VE YÖNTEM	22
2.1.Işık Mikroskobik İncelemeler	24
2.2.Elektron Mikroskobik İncelemeler	25
3.BULGULAR	26
3.1.Işık Mikroskobik Bulgular	26
3.2.Elektron Mikroskobik Bulgular	38
3.3.İstatistiksel Bulgular	49
4.TARTIŞMA	51
5.SONUÇ	58
ÖZET	60
SUMMARY	61
KAYNAKLAR	62
EKLER	69
EK-1. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı	69
ÖZGEÇMİŞ	70

ÖNSÖZ

Alkol alımı yüzyıllar boyunca insanlığın ilgiodağı ve sorunu olmuştur. Kişilerin gelirlerinin ve refah düzeylerinin artması alkoleulaşmayı kolaylaştırmaktadır. Öte yandan üzüntüler, stres ve özellikle psikolojik sorunlar alkol kullanımını artırmaktadır. Bu durumlar daha sonra yüksek doz alkol alımını ve alkol bağımlılığını ortaya çıkarabilmektedir. Alkol bağımlılığına bağlı gelişen kronik alkol tüketiminin de, karaciğer hastalığına yol açan önemli nedenlerden biri olduğu bilinmektedir.

Alkolün, karmaşık bir kimyasal fabrika olarak nitelendirilen karaciğerde yağlı karaciğer, alkolik hepatit, fibrozis, sirozis ve karaciğer kanseri gibi birçok patolojiye neden olabileceği bildirilmiştir. Alkolik karaciğer hastalığı, uzun süre ve yüksek dozda alkol kullanımına bağlı gelişen, şiddeti değişik derecede olan karaciğer hasarı ile karakterize bir tablodur. Etiyolojisinde beslenme ve sindirim bozukluğu, enerji ve protein kaybı ile vitamin yetersizliği de önemli yer tutmaktadır.

Bütün memeliler için esansiyel bir besin maddesi olan Vitamin A, etanol gibi, bir alkoldür. Vitamin A yani retinol düşük moleküler ağırlıkta, yağda eriyen, membranların yapısına katılabilen primer bir alkoldür. Büyük çoğunluğu karaciğerde retinil esterleri şeklinde depolanır. Etanol ve retinolün her ikisi de sitosolik alkol dehidrogenaz'ın çeşitli izoenzimleri ile aldehitlere dönüştürülür. Bu nedenledir ki hem invitro hem de invivo olarak her iki alkol de aynı veya benzer enzimatik yollarla birbirleri ile etkileşmektedir.

Etanol alımına bağlı olarak karaciğerde nutrisyonel, biyokimyasal ve toksikolojik etkiler şekillendiği bildirilmiştir. Üzerinde çalışılmış olan bu tezde ise; etanolün karaciğer parankimini şekillendiren hepatositler, endotel hücreleri, Kupffer'in yıldız hücreleri ile perisinüzoidal hücrelerde meydana getirdiği yapısal değişiklikler histolojik metotlarla araştırılmıştır. Etanol alımına bağlı şekillenen bu yapısal değişiklilerde Vitamin A'nın rolü ve uygulama dozunun etkileri araştırılmaya çalışılmıştır.

Bu tez çalışmamda deneyimleri, değerli görüş ve katkıları ile bana yardımcı olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Levent ERGÜN'e, önerileri ve katkıları ile beni yönlendiren değerli hocalarıma, ilgi ve desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Emel ERGÜN'e ve tezimin hayvan materyali olan ratlarımın bakım ve besleme aşamasını, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Tıbbi Histoloji-Embriyoloji Anadal Başkanlığı laboratuvarlarında yürütmem sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Emin ÖZTAŞ ve Sayın Uzman Dr. Esra ERDOĞAN ile emekleri geçendiğer arkadaşlara, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı tüm çalışanlarına, öğrenim hayatım boyunca her türlü desteği gösteren ve yardımcı olan Ailem'e, hep yanımda olan meslektaşım Dr. Özge ÖZDEMİR'e ve doktora tez çalışmam süresince özveride bulunan eşim Muharrem CİHAN'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A^0	:	Angstrom Derece
^oC	:	Santigrad Derece
dl	:	Desilitre
dk	:	Dakika
α	:	Alfa
β	:	Beta
γ	:	Gama
g	:	Gram
kg	:	Kilogram
Kcal	:	Kilokalori
kDa	:	Kilodalton
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
mg	:	Miligram
µm	:	Mikrometre
nm	:	Nanometre
nmol	:	Nanomol
pH	:	Hidrojen iyonu konsantrasyonunun -logaritması
P450 2E1	:	Mikrozomal Enzim Sistemi
IU	:	İnternasyonel Ünite
V.	:	Vena
4-HNE	:	Hidroksinonenal
ACAT	:	Açil-Kolesterol Açil Transferaz
ADH	:	Alkol Dehidrojenaz
ALDH	:	Aldehit Dehidrojenaz
agER	:	Granülsüz Endoplazmik Retikulum
ALT	:	Alanin Amino Transferaz
Apo	:	Apolipoprotein
ARAT	:	Retinol Açiltransferaz
AST	:	Aspartat Amino Transferaz
C3b	:	Komplementin Parçası
CETP	:	Kolesteril Ester Transfer Proteini
CRBP	:	Hücresel Retinol Bağlayan Protein
D1	:	Alkol Verilen Deneme Grubu
D2	:	Alkol Verilen ve Vitamin A Uygulanan Deneme Grubu
Fc	:	Kristalize Olabilen Kısım – Fc(R):İmmunglobulun Reseptörü
F	:	F istatistiği değeri
grER	:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GGT	:	Gamma-Glutamil Transpeptidaz
H_2O_2	:	Hidrojen Peroksit
HDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler
HMG-KoA	:	3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA
HTGL	:	Hepatik Trigliserid Lipaz
Ig A	:	İmmunglobulun A
IL	:	Interlökin
K1	:	Şekerli Su Verilen Kontrol Grubu
K2	:	Şekerli Su ve Vitamin A Uygulanan Kontrol Grubu
LCAT	:	Lesitin Kolesterol Açiltransferaz

LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler
LPL	:	Lipoprotein Lipaz
MDA	:	Malondialdehit
MEOS	:	Mikrozomal Etanol Oksitleyici Sistem
NAD	:	Nikotinamid Adenozin Dinükleotit
NADH	:	İndirgenmiş Nikotinamid Adenozin Dinükleotit
NK	:	Doğal Öldürücü
PAS	:	Periodic Acid Schiff
RBP	:	Retinol Bağlayan Protein
REH	:	Retinil Ester Hidrolaz
RES	:	Retiküloendotelyal Sistem
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskobu
SC	:	Deri altı
TNF	:	Tümör Nekroz Faktör
VLDL	:	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. **Şekerli su verilen kontrol grubu**, **hepatositler, sinuzoidler.** Ok başları: hepatositler, Oklar: sinuzoidler. Üçlü boyama X550. 26

Şekil 3.2. **Alkol verilen deneme grubu**, **perivenüler kalınlaşma, sinuzoidlerde genişleme.** Oklar: perivenüler kalınlaşma, Ok başı: sinüzoidlerde genişleme H: hepatositlerde şişme. Üçlü boyama. X 550. 27

Şekil 3.3. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, mononükleer hücre infiltrasyonu.** H:hepatositlerde şişme, Ok başı: sinüzoidlerde genişleme, Ok: hücre infitrasyonu. Üçlü boyama. X550. 27

Şekil 3.4. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, Kiernan aralığı.** K: Kiernan aralığı, V: eritrositlerle dolu V. interlobularis. Üçlü boyama. X 550. 28

Şekil 3.5. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, mononükleer hücre infiltrasyonu.** Ok: Mononükleer hücre infiltrasyonu. Üçlü boyama. X 550. 29

Şekil 3.6. **Şekerli su verilen kontrol grubu (A), şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu (B), altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler.** Oklar: altın klorür pozitifperisinuzoidal hücreler. Altın klorür. X 300. 29

Şekil 3.7. **Alkol verilen deneme grubu (A), alkol ve vitamin A verilen deneme grubu (B),altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler.** Oklar: altın klorür pozitifperisinuzoidal hücreler. Altın klorür. X 150. 30

Şekil 3.8. **Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerde Oil Red O negatif reaksiyon.** Oklar: hepatositlerde Oil Red O negatif reaksiyon, Oil Red O.X 550. 31

Şekil 3.9. **Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları.** Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X 550. 31

Şekil 3.10. **Alkol verilen deneme grubu,hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları.** Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X550. 32

Şekil 3.11. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu,hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları**. Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X550. 32

Şekil 3.12. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatositlerde Sudan Black B pozitif lipid damlacıkları.** Oklar: hepatositlerde Sudan Black B pozitif lipid damlacıkları. Sudan Black B.X1100. 33

Şekil 3.13. **Şekerli su verilen kontrol grubu, A: hepatositlerde kuvvetli PAS pozitif reaksiyon**. Oklar: hepatositlerde kuvvetli PAS pozitif reaksiyon PASX300. **B:Diastaz sindiriminden sonrahepatositlerde PAS negatif reaksiyon**. Oklar: hepatositlerde PAS negatif reaksiyon diastaz/PAS X300. 34

Şekil 3.14. **Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, A: hepatositlerde PAS pozitif reaksiyon.** Oklar:hepatositlerde PAS pozitif reaksiyon. PAS. X 300. **B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon** Oklar:hepatositlerde PAS negatif reaksiyon diastaz/PAS**.** X300. 34

Şekil 3.15. **Alkol verilen deneme grubu,** A: **hepatositlerde zayıf PAS pozitif reaksiyon**. Oklar: hepatositlerde zayıf PAS pozitif reaksiyon, PAS. X300. **B: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon.** Oklar: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon, diastaz/PAS. X300. 35

Şekil 3.16. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu,A: hepatositlerde çok zayıf PAS pozitif reaksiyon.** Oklar: hepatositlerde çok zayıf PAS pozitif reaksiyon, PAS. X300. B: **diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon.** Oklar: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon, diastaz/PAS.X300 35

Şekil 3.17. **A, B: Şekerli su verilen kontrol grubu,** A : Hepatositlerde Best karmin kuvvetli pozitif reaksiyon, Best karmin. X200. B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X200. **C, D: Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu,** C: Hepatositlerde Best karmin pozitif reaksiyon, Best karmin. X200. D: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin.X200. 36

Şekil 3.18. **A, B: Alkol verilen deneme grubu,** A: Hepatositlerde Best karmin zayıf pozitif reaksiyon, Best karmin. X 200. B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X 200. **C, D: Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu,** C: Hepatositlerde Best karmin çok zayıf pozitif reaksiyon, Best karmin. X 200. D: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin.X 200. 37

Şekil 3.19. **A:Şekerli su verilen kontrol grubu, B: Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu.** Ok: Portal bölge, ok başları: hepatositler ve sinuzoidler çevresindeki retiküler lifler. Gordon ve Sweets retikülin tekniği. X300. 37

Şekil 3.20. **Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerin genel görünümü, sinuzoid.** H: hepatositler,S: sinuzoid, E: endotel hücresi, m: mitokondriyonlar, grER: granüllü endoplazmik retikulum, L: lipid damlacığı. X4965. 38

Şekil 3.21. **Şekerli su verilen kontrol grubu, endotel hücresi ve fenestalar.** E: endotel hücresi, Ok başları: endotel hücresinin ince sitoplazmilk uzantıları, Oklar: fenestralar, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, H: hepatosit, mv: hepatosite ait mikrovilluslar, L: lipid damlacığı. X11150. 39

Şekil 3.22. **Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, perisinuzoidal hücre ve perisinuzoidal hücredeki çok sayıdaki lipid damlacıkları.** P: perisinuzoidal hücre, L: perisinuzoidal hücrede çok sayıdaki lipid damlacıkları. X12285. 39

Şekil 3.23. **Alkol verilen deneme grubu, perisinuzoidal hücre ve perisinuzoidal hücredeki az sayıdaki lipid damlacıkları.** P:perisinuzoidal hücre, L: perisinuzoidal hücrede az sayıdaki lipid damlacıkları. X8530. 40

Şekil 3.24. **Alkol verilen deneme grubu, buğulu görünen hepatosit**. m: mitokondriyonlar, Ç:düzensiz şekilli hepatosit çekirdeği, L: lipid damlacıkları. X10800. 41

Şekil 3.25. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu,buğulu görünen hepatosit.** m: mitokondriyonlar, Ç: düzensiz şekilli hepatosit çekirdeği, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum. X4500. 41

Şekil 3.26. **Alkol verilen deneme grubu,hepatositte bol miktardaki lipid damlacıkları.** L: hepatositte bol miktardaki lipid damlacıkları, Ç: hepatosit çekirdeği, m: mitokondriyonlar. X10400. 42

Şekil 3.27. **Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerin genel görünümü**. grER: granüllü endoplazmik retikulum, M: mitokondriyon, Ç: hepatosit çekirdeği, S: sinuzoid. X4500. 42

Şekil 3.28. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu**, **hepatositin genel görünümü.** grER: granüllü endoplazmik retikulum, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, Ç: hepatosit çekirdeği, E: sinuzoidlerde bol miktardaki eritrositler. X4500. 43

Şekil 3.29. **Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatosite ait organeller.** grER: granüllü endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, Ç: hepatosit çekirdeği, S: sinuzoid, D: Disse aralığı. X10500. 43

Şekil 3.30. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatosite ait organeller.** Oklar: granüllü endoplazmik retikulum, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, L: lipid damlacıkları, Ç: hepatosit çekirdeği. X10500. 44

Şekil 3.31. **Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü.** Oklar: fenestralar, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başları: mikrovilluslar, m: mitokondriyonlar. X 22800. 45

Şekil 3.32. **Alkol verilen deneme grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü.** Ok: fenestrada genişleme, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başı: mikrovilluslarda azalma, m: mitokondriyonlar. X 22800. 45

Şekil 3.33. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü.** Ok: fenestrada genişleme, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başları: mikrovilluslar, M: mitokondriyonlar, X 22800. 46

Şekil 3.34. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, sinuzoidlerde bol miktarda bulunan eritrositler.** E**:** sinuzoidlerde bol miktarda bulunan eritrositler, H:hepatositler, agER: agranüler endoplazmik retikulum. X4320. 46

Şekil 3.35. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, karaciğer parankimi.** Oklar: kollagen ipliklerde artış, D: genişlemiş Disse aralığı, E: endotel hücresi, S: sinuzoid, H: hepatosit. X10390. 47

Şekil 3.36. **Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, Disse aralığında fibroblast ve sinuzoidde kollajen iplikler.** H:hepatosit, S: sinuzoid, m: mitokondriyonlar, L: lipid damlacığı, F: fibroblast, Ok başları:fibroblast sitoplazmasında bol miktarda görülen granüllü endoplazmik retikulum, Oklar: kollagen iplikler. X22925. 47

Şekil 3.37. **Alkol verilen deneme grubu,karaciğer parankimi.** S: sinuzoid, E: endotel hücrelerinin sitoplazmik uzantıları, D: genişlemiş Disse aralığı, Oklar: kollagen iplikler, H: hepatosit. X12750. 48

Şekil 3.38. **Alkol verilen deneme grubu,karaciğer parankimi.** S: sinuzoid, D: genişlemiş Disse aralığı, Oklar: kollagen iplikler, H: hepatositler. X4750. 48

Şekil 4.1. Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen AST ve ALT değerlerinin dağılımı. 53

Şekil 4.2. Kontrol ve deneme gruplarının AST/ALT oranları. 53

ÇİZELGELER

Çizelge	**1.1.**	Etanolün alkol dehidrojenaz yoluyla metabolizasyonu,(Dolar, 2002)	13
Çizelge	**1.2.**	Etanolün mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS) yoluyla metabolizasyonu, (Dolar, 2002)	15
Çizelge	**1.3.**	Asetaldehitin Zararlı Etkileri, (Lieber, 1990)	16
Çizelge	**2.1.**	Kontrol ve Deneme gruplarına uygulanan işlemler ve grup kodları	23
Çizelge	**2.2.**	Deneme ve kontrol gruplarının aldıkları günlük kalori düzeyini sabit tutmak için; deneme grubuna eklenen alkolden gelen enerji hesaplanarak, kontrol gruplarının içme sularına alkolden gelen kalori değerini sağlayacak kadar ilave edilen sakkaroz miktarları (g) ve ratların kabul edilen ortalama günlük su tüketimleri (ml/gün/rat).	24
Çizelge	**3.1.**	Kontrol ve deneme grupları kan serumlarına ait biyokimyasal paremetrelerin istatiksel değerlendirilmesi	49

1. GİRİŞ

Karaciğer, organizmadaki tüm sistemleri ilgilendiren çeşitli görevler üstlenmiş bir organdır. Temel fonksiyonları arasında; yağ metabolizması, karbonhidrat, hormon, ilaç metabolizmaları, yabancı maddelerin detoksifikasyonu, safra yapımı, billirubinin sentezi ve safra ile atılması, amino asit, plazma proteinleri sentezi ve üre sentezi sayılabilir. Birbirinden tamamen farklı olan çok sayıdaki işlevleri ancak özelleşmiş yapısı sayesinde gerçekleştirir.

Etanol, karaciğer başta olmak üzere çeşitli doku ve organlarda yapısal değişiklikler meydana getiren toksik bir maddedir. %90'ı karaciğerde metabolize olan etanolün (Loew ve ark., 2003) bu organda meydana getirdiği değişikliklerin esas nedeni, alkol metabolizması sonucu oluşan asetaldehit'in toksik etkisidir. Alkol dehidrojenaz (ADH) enzimi etanolü asetaldehite, asetaldehit ise; asetaldehit dehidrojenaz (ALDH) enzimi aracılığı ile asetata dönüştürülür. Asetat hücre içinde karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında kullanılır. Karaciğere zarar veren asıl madde asetaldehitdir. Bu yüzden ADH enzimi etanolü ne kadar hızlı asetaldehite dönüştürürse ve/veya ALDH enzimi asetaldehiti ne kadar yavaş asetata dönüştürürse, ortamdaki asetaldehit miktarı da o kadar artar. Bunun sonucunda oluşturduğu çeşitli olumsuz etkilerin yanısıra karaciğer hasarına da neden olur. Etanol metabolizmasında görev alan bu enzimlerin, gen polimorfizminden kaynaklanan alt birimleri vardır ve bu alt birimlerin dağılımı bireylere göre değişir. Bu durum bireylerin etanole olan duyarlılıklarını da değiştirdiğinden alkolik karaciğer hasarının ortaya çıkışında bireysel farklılıklara yol açar (İlter ve Tekin, 2005).

Zararlı etkileri XVIII. yüzyıldan itibaren anlaşılmaya başlanan etanolün bugün için yağlı karaciğer, alkolik hepatit ve siroz gibi karaciğer hastalıklarının gelişimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir.

Üzerinde çalışılmış olan bu tezde etanolün, karaciğer parankimini şekillendiren hepatositler, endotel hücreleri ve perisinüzoidal hücrelerde meydana getirdiği yapısal değişikliklerle birlikte, yine bir alkol olan ve benzer enzimatik yollarla birbirleri ile etkileşen retinolün bu değişiklikleri nasıl etkilediği ışık ve elektron mikroskobik yöntemlerle araştırılmıştır.

1.1. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer karın boşluğunda yer alan en büyük organdır. Anatomik olarak sağ regio hipokondrica ve epigastriumdan sol regio hipokondrica'ya doğru yerleşim göstermektedir. Ratlarda (Sıçan) karın boşluğunun en kranial yerleşimli organıdır. Rat karaciğeri sol lop, orta lop, sağ lop ve kaudat lop olmak üzere dört lobdan oluşur (Anonim, 2009a). Sol lob mide fundusunun üzerini örter. Orta lob, üzerinde yer alan umblikal fissür ile ikiye ayrılır. Sağ lob vena kava kavdalisin hemen sağında yer alır. Kaudat lob da parakaval ve Spiegel lobu olmak üzere alt loblara ayrılır. Ayrıca, ratlarda safra kesesi bulunmaz (Zutphen ve ark., 2003).

Karaciğerin temel yapısını oluşturan hepatositler epitel kökenli hücrelerdir ve organın en küçük yapısal birimi olan lobçukları meydana getirirler. Lobçuklar yaklaşık 0,7 x 2 mm boyutlarında poligonal yapılardır. Deve ve domuzda lobçuklar arası bağ doku oldukça belirgindir. Orta kısımları uçlardan daha şişkin, poligonal yapılı bu lopçuklar klasik lopçuk (V. sentralis lopçuğu) olarak adlandırılır. Diğer hayvanlarda ve insanda ise, bu lopçuk durumu fark edilemez. Bu türlerde portal damar merkez kabul edilerek kan akımı yönüne göre şekillendirilen lobçuk esastır ve portal lobçuk olarak adlandırılır. Deve, domuz dışındaki türlerde ve insanda, birbirine komşu piramidal ünitelerin tepe kısımları V. sentralis'lere açılır, başka bir deyişle V. sentralis'ler periferde kalırlar. Buna göre de, belirtilen bu türlerde karaciğerin görevsel ve yapısal ünitesi portal lopçuk olmaktadır (Tanyolaç, 1999).

Karaciğerin oksijeni taşıyan-besleyici damarı olan A. hepatika ve fonksiyonel damarı olan V. porte yoluyla karaciğer lopçuklarına gelen kan sinüzoidlere açılır. Sinuzoidler taşıdıkları kanı V. sentralis'e sevkederler. V. sentralis'ler birbirleriyle birleşerek, sublobuler vena'ları meydana getirirler. Sublobuler venaların birleşmesiyle de V. hepatika'lar oluşur. V. hepatika'lar ise karaciğerin diaframa bakan yüzünden V. kava kavdalis'e açılırlar ve karaciğerdeki kanı V. kava kavdalis'e taşırlar (Tanyolaç, 1999).

Klasik lopçuk düzeninde, birkaç lopçuğun köşesinin bir araya geldiği yerlerde lopçuklar arası bağ doku genişleyerek üç-dört köşeli aralıklar meydana getirir. Bu aralıklara Kiernan aralıkları (portal bölge veya Glisson üçgeni) adı verilir. Bu alanda

karaciğer üçlüsü (trias hepatis) olarak anılan A. hepatika, V.interlobularis ve duktus biliferus yer alır (Gürbüz, 2004; Cormack, 2001).

Klasik lopçukta, lopçuktan tam enine geçen bir kesit ışık mikroskobik olarak incelendiğinde merkezde V. sentralis'in yer aldığı, lopçuğun merkezinden periferine doğru çift sıralı ışınsal kordonların uzandığı görülür. Çift sıralı hepatositlerin oluşturduğu bu kordonlar Remark kordonları olarak anılmaktadır. Kordonlar arasında kalan boşluklar sinuzoidlerdir. Sinuzoidlerin duvarında bazal membran yoktur. Endotel hücreleri aralarında açıklıklar vardır. Hepatositler ile endotel hücreleri arasında Disse aralığı denilen perisinüzoidal boşluk bulunmaktadır. Hepatositlerin Disse aralığına bakan yüzünde mikrovilluslar yer alır. Sinuzoidlerdeki kan plazması da bu aralığa geçer. Böylece kan plazması ile hepatositler arasında madde alışverişi gerçekleşir (Gürbüz, 2004). Disse aralığına geçen kan plazması, interlobüler dokuda bol miktarda bulunan lenf damarları ile dolaşıma geri döner.

Portal lopçuklar asinus denilen piramidal ünitelerden şekillenir (Tanyolaç, 1999). Kanın sinüzoidlerden akışı sırasında taşıdığı oksijen ve besinlerin miktarı ile hepatositlerdeki metabolizma fonksiyonlarına göre asinuslarda üç bölge ayırt edilir. I. bölge, klasik lopçuğun en dışındaki bölgedir. Sinuzoidlerin bu bölge içerisinde kalan kısmında bulunan kan, oksijen ve besin maddeleri yönünden zengindir. Bu bölgedeki hepatositler aktif olarak glikojen ve plazma proteinleri sentezlerler. II. bölge, asinusun orta bölgesidir. Bu kısımdaki kanda bulunan oksijen ve besin maddeleri miktarı orta derecededir. III. bölge, V. sentralis'i saran, oksijen yönünden en fakir olan bölgedir. Bu bölgedeki hepatositler detoksifikasyonda rol oynarlar (Gülmez, 2008; Aughey ve Frye, 2001; Samuelson, 2007). Asinusa giren kan önce I. bölgedeki hepatositlerle karşı karşıya gelir. Oksijen, besin maddeleri ve kanda bulunan diğer substanslar önce I. bölgede bulunan hepatositler tarafından kullanılırlar. Bu nedenle kronik anemi veya herhangi bir metabolizma bozukluğu sonucu meydana gelen oksijen yetersizliği durumlarında öncelikle III. bölgedeki hepatositlerde karaciğer yağlanması (küçük damlalı yağlanma) gözlenirken; toksikasyonlarda, enerji düzeyi yüksek rasyonlarla beslenme durumlarında ve depo yağlarının şiddetli mobilizasyonunda ise öncelikle I. bölgedeki hepatositlerde karaciğer yağlanması (büyük damlalı yağlanma) görülür (Tanyolaç, 1999).

Hepatositler, kandan aldıklarını işleyerek, yağların sindiriminde rol oynayan safrayı yaparlar. Bu nedenle hem metabolizma organı hem de ekzokrin bir bez konumundadır. Hepatositlerde yapılan safra, hücre içinde intraselüler safra kanalcıkları ile taşınarak hücre yüzeyine ulaşır. Hücre dışına çıkan safra, interselüler safra kanallarıyla lobçuğun periferine doğru akar. İnterselüler safra kılcallarının özel bir duvarı yoktur. Hepatositlerin oluklaşan yüzlerinin karşı karşıya gelmesiyle adeta bir kanalcık oluşur. Bu kanalcıkların çapları 0,5-1µm dir (Frappier, 2006). Hepatositlerin karşı karşıya gelen kısımlarında hücre membranları zonula okludensler ve desmozomlarla sıkıca birbirine bağlanırlar. Böylece safranın interselüler aralığa geçmesi engellenir. Safra, lopçuk dışına Hering kanalı ile taşınır ve lopçuklar arası safra kanalı olan duktus biliferus'a geçer. Bu kanalların birleşmesi ile porta hepatis'ten karaciğeri terk eden duktus hepatikus, safra kesesinden gelen duktus sistikus ile birleştikten sonra duktus koledokus adını alarak duodenumun başlangıç kısmına açılır (Tanyolaç, 1999). Safra, barsak lümeninden yağların emiliminde, konjuge billuribin, kolesterol, fosfolipidlerin oluşumunda, enterohepatik dolaşım yoluyla barsaklara Ig A'nın taşınmasında, hepatositlerde işlenen ağır metal ve ilaçların metabolik ürünlerinin atılması fonksiyonlarının gerçekleşmesinde rol oynar.

Hepatositlerin sitoplazması asidofilik yapıdadır, ancak dikkat çekici bazofilik cisimcikler içerir. Bu hücrelerin elektron mikroskobisinde, plazma proteinleri sentezinde önemli olan granüllü endoplazmik retikulumdan zengin olduğu, ayrıca; karbonhidrat ve yağ metabolizmasında, safra yapımında, ilaçların ve diğer toksik bileşiklerin katobolizmasında rol oynayan granülsüz endoplazmik retikulumu da bol miktarda içerdiği görülür. Hepatositlerde çoklu küçük Golgi kompleksleri bulunur, özellikle hücrenin periferinde safra kanalcığı yakınında yer alır. Membransel organellerden mitokondriyonlar, lizozomlar ve peroksizomlar da hepatositlerde oldukça çok sayıda görülmektedir (Fawcett ve Jensh, 2002).

Sinuzoid duvarını endotel hücreleri oluşturur. Duvar yapısına başka özel hücreler de katılır. Bunlar Kupffer'in yıldız hücreleri, pit hücreleri ve yağ depolayan (Ito) hücrelerdir. Kupffer'in yıldız hücreleri, partiküllerin, immun komplekslerin, hasarlı eritrositlerin ve endotoksinlerin ortadan kaldırılmasından sorumlu mononükleer fagositler sisteme ait makrofajlardır. Değişken şekilleri, hücre membranlarının girintili çıkıntılı özellikte olması, annüler lameller ve endositoz ile

ilgili gelişmiş yapılar içermeleri nedeniyle kolayca ayırt edilebilirler. Bir membranla çevrili mikropinositotik veziküller, makropinositotik vakuoller, spiral benzeri invaginasyonlar dikkat çekici özellikleridir. Zengin lizozomal yapıları hücre içi sindirim kapasitesinin yüksek olduğunu gösterir. Gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksleri nedeniyle aktif protein sentezi yapabilirler (Bouwens ve ark., 1986; Aktan ve ark., 2003).

Kupffer hücreleri, monokin ve sitokinler salgılayarak hepatositlerle işbirliği yaparlar (Gonzalez ve ark, 2002). Reseptörler bu işbirliğine aracılık ederler ve karaciğerin iltihabi reaksiyonlarında, karaciğerin fonksiyonunu yönlendirirler. Yangı ve karaciğer hasarlarında Kupffer hücreleri ile diğer karaciğer hücreleri arasındaki etkileşimde rol oynayan reseptörler, galaktozamin/N-asetil galaktozamin, laktat dehidrogenaz, karsinoembriyonik antijen, platelet aktivating factor, immunglobülin A, insülin, glukagon ve bakterial lipopolisakkarid reseptörleridir (Aktan ve ark., 2003).

Kupffer hücreleri yüzeyinde hem fibronektin ile kaplı partiküller ile insülin ve glukagon için; hem de bakteri, mantar ve virüs gibi yabancı hücreler için özel reseptörler bulunur. Taşıdıkları bu reseptörler aracılığıyla da; Fc, C3b, mannoz, galaktoz veya apolipoprotein B ihtiva eden unsurları kolayca fagositoz yolu ile hücre içine alırlar. Endositozla alınan unsurlar hızla lizozomlara taşınırlar ve metabolize edilirler. Yapılan fagositoz sonucu Kupffer hücrelerinde değişik faktörler salgılanır. Bunlar prostaglandinler, interlökin (IL), tümör nekroz faktör (TNF) ve değişik sitokinlerdir. Bu salgılar Kupffer hücrelerini etkilediği gibi, hepatositleri de etkileyebilmektedir. Bu nedenle yoğun bir fagositoz gerektiği zaman Kupffer hücre salgısının, hepatosit sitokrom P-450 mekanizmasını deprese ettiği ortaya konulmuştur (Azri ve Renton, 1987). Burada etkili faktörün IL-1 olduğu üzerinde durulmaktadır.

Sinüzoid duvarında yer alan diğer özel hücre tipi olan pit hücreleri karaciğerin doğal öldürücü (NK) hücreleridir. Doğal öldürücü hücreler, neoplastik dönüşümden sonra en hızlı antitümör aktivitesi gösteren hücrelerdir. Bu hücrelerin doğal öldürücü aktivitesi, tümör metastazlarının engellenmesi ve virusla infekte hücrelerin yok edilmesinde önem taşıyan bir immun mekanizmadır. Doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri) insan, hamster, rat, maymun, kedi, köpek, kuşlar gibi pek çok vertebralıdan izole edilmiştir. Kanın yanı sıra akciğerler, bağırsaklar, lenf nodülleri,

kemik iliği, dalak ve karaciğer dokularında bulunmaktadır (Vermijlen ve ark, 2002). Çeşitli morfolojik, immunolojik ve fonksiyonel farklılıkları da göz önünde bulundurularak karaciğer dokusunda yer alanlara özel olarak pit hücreleri denmektedir (Wisse ve ark, 1976; Vanderkerken ve ark, 1995; Luo ve ark, 1999; Vermijlen ve ark, 2002).

Pit hücreleri 1976 yılında, Wisse tarafından, rat karaciğerinin sinuzoid duvarında tanımlanmıştır. Üzüm çekirdeğine benzetilen sitoplazmik granüllerinden ötürü, meyve çekirdeği anlamına gelen 'pit' adı ile adlandırılmıştır. Bu hücreler karaciğer sinuzoidlerinin yanı sıra portal venin terminal kollarında da bulunur (Wisse ve ark, 1976). Pit hücreleri endotel ve Kupffer hücrelerinden sayıca daha azdır. Görülme sıklığı, ortalama olarak Kupffer hücrelerinin 1/10'i kadardır (Bouwens ve ark,1987).

Yine karaciğer sinuzoidlerine özgü bir diğer hücre türü de perisinüzoidal aralıkta (Disse aralığı) yer alan, yağ depolayan hücreler-fat storing cell ya da Ito hücreleri olarak bilinen perisinüzoidal hücrelerdir. Kupffer'in yıldız hücreleri ilk kez 1876 yılında Kupffer tarafından altın klorid boyama tekniği kullanılarak gösterilmiş ve şekilleri yıldıza benzetilerek "Sternzellen" adı ile (stern: yıldız) histoloji literatürüne girmiştir (Aktan ve ark., 2003). Kupffer bu hücrelerin önce perisinüzoidal aralıkta yer aldığını belirtmiş daha sonra aynı araştırmacı bu hücrelerin mürekkep boyasını hücre içine aldığını iddia etmiş ve bir çeşit endotelyal hücre olduğu kanaatine varmıştır. 1882 yılında Paul Rothe'de altın klorid boyama tekniği kullanarak bahsedilen hücrelerin yalnız memeli karaciğerinde değil kanatlı karaciğerinde de yer aldığını bildirmiştir (Wake, 2004).

Aschoff ise; 1924 yılında "Retiküloendotelyal sistem" (RES) kavramını geliştirmiş ve kolloidal boyaları alan hücrelerin tümünün aynı kökten geldiğini savunmuştur. 1970'de Eddie Wisse, sinüzoidal endotel hücrelerle Kupffer hücrelerinin elektron mikroskobisini incelemiştir. Bunu takiben 1972 'de Ralph van Furth mononükleer fagositler sistem adlı yeni bir teori geliştirerek, makrofajların dolaşım kanındaki monositlerin farklılaşması ile meydana geldiğini belirtmiştir. Bu sisteme giren hücrelerin ortak özellikleri kemik iliğinden köken alan monositlerden şekillenmeleri, vital boyaları hücre içine almaları, peroksidaz ve diğer lizozomal enzimlere karşı reaksiyon vermeleri, immunglobulin ve komplement için yüzey reseptörleri

taşımalarıdır. Günümüzde “Retiküloendotelyal sistem” teorisinin yerini mononükleer fagositler sistem kavramı almıştır.

1980’li yıllarda, von Kupffer’in 1876’da tanımladığı hücrelerin aslında karaciğerde A vitamini ve yağ depolanması ile ilgili hücreler olduğu farkedilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde, Kupffer’in yıldız hücreleri olarak değerlendirmiş olduğu bu hücreleri 1923’te Zimmermann’nın perisitler, 1951 ‘de Ito'nun “fat-storing cells”, 1958’de Suzuki'nin “interstisyel hücreler” ve 1980 ‘de Wake’in de yine “interstisyel hücreler” olarak adlandırdığı anlaşılmıştır (Wake, 2004).

Mononükleer fagositler sistem teorisinin anlaşılması ile, karaciğer sinüzoid duvarındaki makrofajlar olan yüksek fagositoz aktiviteli hücrelere, Kupffer’in anısına daha sonradan Kupffer’in yıldız hücreleri adı verilmiş ve Karl Wilhelm von Kupffer’in, fagositoz yaptığını sandığı ama aslında A vitamini ve yağ depolayan perisinüzoidal hücreler de 1951 ‘de Ito tarafından tanımlanmış olmaları nedeniyle Ito hücreleri veya “fat-storing cells-yağ depolayan hücreler” olarak belirtilmiştir (Wake, 2004).

1.2. Ito Hücreleri

Ito hücreleri, mezenşimal kökenli hücrelerdir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında değişik büyüklüklerde vitamin A içeren yağ damlacıkları yer alır. Normal bir karaciğerde yağ ve vitamin A’nın metabolizması ve depolanmasında görevli olan Ito hücreleri, patolojik durumlarda damlacıkları kaybederek kollajen üreten myofibroblast hücrelere dönüşürler (Bouwens ve ark., 1992). Tip 1 kollajenin sentezine ve salınımına ek olarak, Ito hücreleri ekstraselüler matriksin yapısında bulunan glikoproteinler, proteoglikanlar ve büyüme faktörlerini de salgılamaktadırlar (Kierszenbaum, 2006).

Normal bir karaciğerin ekstraselüler matriksinde yer alan glikoproteinler; laminin, fibronektin, elastin ve undulindir. Laminin üç alt birimden meydana gelen, 800 kDa ağırlığında bir glikoproteindir ve büyük vasküler yapıların bazal membranlarında, sinuzoidlerde ve fibrotik septalarda bulunur (Hahn ve ark., 1980). Fibronektin, her biri 220 kDa ağırlığında, birbirine disülfit bağları ile bağlanan üç alt birimden meydana gelir. Bazal membranlarda, Disse aralığında ve fibröz septalarda yer alır (Schuppan, 1990). Elastin, portal alan ve damar duvarlarında bulunur (Sonsuz ve

ark., 1992). Proteoglikanlar ise, bir protein iskeleti ile buna bağlı bir glikozaminoglikan molekülüyle, oligosakkarid molekülünden oluşurlar. İsimlendirilmeleri glikozaminoglikan molekülünün predominant disakkaritine göre yapılır. En önemlileri kondroitin sülfat, dermatan sülfat, keratan sülfat ve heparansülfattır (Poople, 1986). Proteoglikanlar, matriksin biomekanik özellikleri üzerinde etkilidir (Ruoslathi, 1988). Patolojik durumlarda kollajen birikimi ve ekstraselüler matriks bileşenleri karaciğer fibrozisine neden olacak şekilde artış gösterirler. Kupffer hücreleri tarafından salgılanan sitokinler de, Ito hücrelerinin kollajen sentezini uyarmakta ve Disse aralığında artmış olan kollajen lif birikimi ve ekstraselüler matriks; sinuzoidal endotel hücreler aralıklarında ve fenestralarda kayıplara neden olmaktadır. Fibrotik süreç ilerledikçe Ito hücreleri, sinuzoidlerin lümenlerini sıkarak daraltan ve damar direncini artıran miyofibroblastlara dönüşürler. Bu durumda portal venöz kanın akışına karşı karaciğer sinüzoidlerinde oluşan direnç artışı, portal hipertansiyona neden olur (Kierszenbaum, 2006). Tip I /Tip III kollajen oranı, normal bir karaciğerde birbirine oldukça yakın olmasına ve her biri total kollajen miktarının 1/3 ‘ünü oluşturmasına karşın, fibrotik bir karaciğerde Tip I kollajen miktarı Tip III’e göre 4 kat artış gösterir. (Rojkind ve ark., 1979; Rojkind ve Pence 1982).

1.3. Lipid Metabolizması

Organizmanın enerji deposu ve hücre membranlarının önemli yapısal unsurlarından olan lipidler, heterojen organik bileşiklerdir. Polar ve nonpolar olarak iki gruba ayrılırlar. Polar lipidler sınırlı da olsa suda çözünebilme özelliği gösterirler. Bu grup içerisinde kolesterol, yağ asitleri, glikosfingolipidler ve gliserofosfolipidler yer alır. Nonpolar lipidler ise, trigliseritler (triaçilgliserol) ve kolesterol esterleridir (Murray ve ark., 1993). Trigliseridler, yağ asitlerinin depo şeklidir. Bir gliserol molekülü ile esterleşmiş üç yağ asidi molekülünden oluşmaktadır. Kolesterol esterleri ise, plazmadaki kolesterolün uzun zincirli yağ asitleriyle esterleşmiş halidir. Plazmadaki kolesterolün üçte ikisi esterleşmiş halde bulunur. Hidrofobik özellikleri nedeniyle nonpolar lipidlerin plazmada taşınmaları özel lipid-protein kompleksleri ile mümkün olmaktadır. Nonpolar lipidlerin kan plazmasında taşınmalarını olanaklı kılan özel lipid-protein kompleksleri lipoproteinler olarak adlandırılır (Naito, 2003). Canlının lipid bileşiklerinden yararlanabilmesi için lipoproteinler aracılığı ile çeşitli doku ve

organlar arasında taşınan yapı taşı lipidler, karaciğer ve yağ dokularında lipid bileşiklerine dönüştürülürler.

Şilomikronlar ekzojen kaynaklı, yani besin yolu ile alınan lipidlerin transportundan sorumlu lipoproteinlerdir. Bunlar yağların emilimi sonrası ince barsak mukozasının epitel hücrelerinde üretilirler (Karagül ve ark., 2000). İnce barsaklarda safra tuzları tarafından emülsiyon haline getirilen trigliseritler, pankreas lipazı etkisiyle yağ asitleri ve monogliseridlere parçalanırlar. Kısa zincirli yağ asitleri direkt portal dolaşıma absorbe olurken, uzun zincirli yağ asitleri safra tuzları ile birleştiğinde suda eriyen miselleri oluşturur. Miseller barsak epitelinin mikrovillusları yoluyla apikal sitoplazmaya geçer. Epitel hücrelerinin granülsüz endoplazma retikulumu membranında bulunan enzimler, misellerden tekrar trigliseritleri sentezler. Ayrıca granülsüz endoplazmik retikulum keseciklerinde fosfolipidler ve kolesterol sentezi de yapılır. Yeni sentezlenen trigliseritler (yağ damlacıkları) Golgi aygıtına taşınır. Burada trigliseritler, fosfolipid, kolesterol esterleri ve protein molekülleri ile kombine olarak üzerlerinin membranla sarılmasıyla da şilomikron adı verilen besinlerle alınan trigliseridlerce zengin besin paketlerini oluştururlar. Şilomikronlar, enterositlerin bazo-lateralinden merkezi lenf yarığına ekzositoz yoluyla verilirler. Lenf dolaşımında ilerleyen şilomikronlar, duktus torasikus yoluyla ven dolaşımına karışırlar (Tanyolaç,1999; Noyan, 1999). Bu şekilde ekzojen lipidler kullanılmak veya depo edilmek üzere dokulara taşınırlar.

Şilomikronlar, lipoproteinler ve diğer maddelerin kan dolaşımından hepatositlere geçişinde, fenestralar filitre görevi görmektedir. Lipoproteinlerin sinuzoidlerde daima hareket halinde bulunan eritrositlerle itişip kakışma şeklindeki etkileşimleri sinuzoid duvarında basınç oluşturur ve lipoproteinlerin geçişini kolaylaştırır. Ancak fenestra çaplarından daha büyük şilomikronlar ise geçemeyip dolaşımda kalmaktadır (Wisse ve ark., 1985).

Şilomikronlar yağ dokusu ve karaciğer kapillarlarından geçerken dolaşım kanından uzaklaştırılırlar. Kapillar endotel membranında yer alan lipoprotein lipaz (LPL) enziminin etkisiyle şilomikronların trigliserit kısmı hidrolize olur. Şilomikronların yapısındaki Apo A-I ve Apo A-II apoproteinleri, yüksek yoğunluklu lipoproteinlerin (HDL) yapısında bulunan Apo C ve E apoproteinleri ile değişime uğrar. Kapillar damarlarda Apo C-II apoproteini lipoprotein lipazı aktive eder ve hidroliz işlemi

gerçekleşir. Trigliserit kısmı hidrolize olan şilomikronların geriye kalan bölümüne şilomikron artıkları denir (Naito, 2003; Redgrave, 2004; Anonim, 2009b). Açığa çıkan yağ asitleri ve gliserol dokular tarafından kullanılır, fazlaları yağ dokuda trigliseritlere dönüştürülerek depolanır. Şilomikron artıkları ise; karaciğere taşınır. Burada metabolize edilerek tamamen yıkılır veya hepatik trigliserit lipaz etkisiyle düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) oluştururlar (Karagül ve ark., 2000).

Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), kolesterol esterleri bakımından zengindirler. Yapılarında %80 lipid, %20 protein bulundururlar. İçerdikleri lipidin %50'si kolesterol, %9'u trigliserit, %21'i fosfolipitdir. Başlıca apolipoproteini, Apo B-100'dür. Çok az düzeyde Apo C ve Apo E' de içerebilmektedirler. Yoğunlukları 1.019-1.063 g/ml arasındadır. Elektroforezde beta bölgesinde yer alırlar (Naito, 2003). LDL'nin en önemli görevi, perifer dokulara kolesterolü taşımak ve bu dokularda kolesterol sentezini düzenlemektir (Mathews ve Holde, 1996). LDL kolesterol, sağlıklı bireylerde total plazma kolesterol düzeyinin yaklaşık 2/3'ünü oluşturur. LDL partiküllerinin plazmadan temizlenmesi, LDL reseptörlerine bağlı endositozis mekanizması ile gerçekleşir. LDL reseptörleri, endoplazmik retikulumda sentezlenir ve Golgi kompleksinde olgunlaşır. Olgunlaşmayı takiben reseptörler hücre yüzeyine göç eder ve klathrinle kaplanmış çukurlarda demetleşirler. LDL partikülü reseptörlerine bağlandığında; Apo B-100 apolipoproteini reseptör tarafından tanınır ve tüm LDL partikülü endositotik vezikül halinde hücre içine alınır. Oldukça fazla sayıda bu veziküllerin kaynaşması ile endozom şekillenir. Endozom membranındaki proton pompası endozom içi pH'yı 7 düzeyinden 5 düzeyine düşürür. Bu asidite artışı, LDL partikülünü reseptörlerinden ayırır. Bu durumun ardından endozom bir lizozom ile kaynaştığında, sekonder lizozom yapısı oluşur; bu esnada endozomun yapısındaki reseptör taşıyan klathrin kaplı kılıf da ayrılır ve hücre membranına geri döner. LDL'de sekonder lizozomlarda hidrolize uğrar. Hidroliz sonucu serbest kolesterol açığa çıkar (Mathews ve Holde, 1996; Voet ve Voet 2004). LDL'nin reseptör aracılığıyla plazmadan toplanıp, serbest kolesterol açığa çıkana kadar olan bir döngü 10 dakikada tamamlanmaktadır. Sağlıklı bireylerde plazmadaki LDL kolesterol düzeyi normale dönünceye kadar bu döngü tekrarlanmaktadır (Mathews ve Holde, 1996). Hidroliz sonucu açığa çıkan serbest kolesterol başlıca üç temel fonksiyonun regülasyonunda rol oynamaktadır.

1. Yeni endojen kolesterol sentezinin baskılanması. Bu durum kolesterol sentezinin hız sınırlayıcı enzimi olan HMG-KoA redüktazın inhibe edilmesi ile gerçekleşir. Enzim inhibisyonu, bu enzimin yapısındaki amino asitlerin transkripsiyonundan sorumlu genlerin baskılanması ve enzimin parçalanmasının hızlandırılması ile olmaktadır.
2. Açil-kolesterol açil transferaz (ACAT) enziminin aktive edilmesi. Kolesterolün fazlasının kolesterol esterine dönüştürülerek depolanmasında görevli hücre içi enzimdir.
3. Endojen kolesterolün aşırı birikiminin önlenmesi için, membran LDL reseptör sayısının düzenlenmesi.

Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) karaciğer, yağ dokusu, kaslar, ince barsaklar, adrenler ve dalakta metabolize olurlar. Kan kolesterolünün %70'ini taşırlar. Glikozillenme, oksidasyon, deasialiasyon gibi çeşitli modifikasyonlar geçirebilirler. Modifiye olan lipoproteinler ise; ateroskleroz gelişimine neden olmaktadır (Erden, 2004). Bu nedenledir ki; toplumda LDL kolesterol 'kötü kolesterol' olarak bilinmektedir.

Hücrelerimizde ve kan plazmasında biriken kolesterolden kurtulmanın tek yolu, onun karaciğere taşınmasıdır. Çünkü kolesterolün kimyasal bileşiminde esas yapı bir sterol çekirdeğidir ve bu sterol çekirdeği sadece karaciğerde metabolize edilebilmektedir. Bu nedenle, organizmada bu görevi yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) üstlenmiştir (Murray ve ark., 1993).

Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL), partikül çapı en küçük olan lipoprotein çeşitidir (9-12nm, 90-120 A^0). Yapılarında %50 lipid, %50 protein bulunmaktadır. İçerdikleri lipid bileşiklerinin de %20'si kolesterol, %30'u fosfolipidtir. Protein kısmın çok büyük bir bölümünü apolipoprotein A (Apo AI ve Apo AII) oluşturmaktadır. Ayrıca Apo C, Apo E ve Apo D apolipoproteinleri de, HDL'lerin yapısında çok az düzeyde bulunmaktadır. HDL partikülleri elektroforezde α-1 bölgesinde yer alır. Dansiteleri 1.063-1.210 g/ml arasındadır. HDL'ler homojen yapıda değildir. Dansiteleri 1.063-1.125 g/ml arasında olan HDL-2 ve dansitesi 1.125-1.210 g/ml arasında olan HDL-3 fraksiyonları mevcuttur (Naito, 2003).

Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL), karaciğer ve ince barsakta sentezlenmektedir ve bu partiküllerin fonksiyonlarını yerine getirirken bir olgunlaşma sürecinden geçmeleri söz konusudur. Bu süreç aşağıda belirtildiği şekilde gelişir. Olgunlaşmamış HDL'ler Apo A, serbest kolesterol ve disk şeklinde fosfolipid çift tabakasından oluşur. Dolaşımda HDL partikülleriyle birlikte sirküle olan plazma enzimi lesitin kolesterol açiltransferaz (LCAT), disk şeklindeki HDL'lerin yüzeyindeki Apo A moleküllerine bağlanır. Bu bağlantı enzimi aktive eder. LCAT, HDL partiküllerindeki fosfolipidlerden olan lesitinin 2. karbon atomuyla linoleik asit arasındaki ester bağını kırarak buraya kolesterolün bağlanmasını sağlar. Bu durumda serbest kolesterol, kolesterol esterlerine dönüşür. Olgunlaşmamış HDL'ler, LCAT enzimi aracılığıyla yapılarında kolesterol esterleri biriktirirler. Bu işlemle disk şeklindeki olgunlaşmamış HDL'ler küre şekline dönüşmeye başlar. HDL'lerin küre şeklindeki en küçük formuna HDL_3 adı verilir (Tall,1990; Anonim, 2009b). HDL_3'ler serbest kolesterolü esterleştirip gövdesinde biriktirmeye devam eder ve en şişkin halini ulaşır. Bu durumda HDL_3'ler HDL_{2a} dönüşmüş olur. Ardından bol miktarda kolesterol esteri taşıyan bu HDL_{2a} partikülleri, kolesteril ester transfer proteini (CETP) aracılığıyla yapılarındaki kolesterol esterlerini trigliseridlerle değiş-tokuş ederek HDL_{2b} formuna dönüşürler. Bu değiş-tokuş işlemi HDL_{2a} partikülleri ile; trigliseritlerden zengin lipoproteinler arasında gerçekleşir. Böylece, özellikle VLDL'ler başta olmak üzere, LDL'ler ve şilomikron artıklarına esterleşmiş kolesterol aktarılır. Bu işlemle esterleşmiş kolesterolün fazlasının dokulardan uzaklaştırılarak, karaciğere taşınması olanaklı hale gelir. Trigliseritlerden zengin hale gelmiş olan HDL_{2b}, içerdiği trigliseritlerin hepatositlerin yüzeyinde yer alan hepatik trigliserid lipaz (HTGL) enzimi etkisiyle hidrolize olmasıyla, en baştaki HDL_3 formuna dönüşür. Böylece HDL'lerin döngüsü tamamlanmış olur (Murray ve ark.,1993).

HDL partikülleri, hücre membranlarında ve diğer lipoproteinlerin yüzeylerinde bulunan serbest kolesterolü, belirtilen bu yerlerden toplayıp, esterleştirerek gövdesinde biriktirip karaciğere taşırlar. Bu duruma ters yönde kolesterol taşınması (reverse cholesterol transport) adı verilmektedir. HDL partiküllerinin çaplarının küçük olmasına ve bol miktarda kolesterol esteri taşımalarına karşın organizmanın lehine çalışması buradan ileri gelmektedir. Bu nedenle de toplumda iyi kolesterol olarak bilinmektedir (Murray ve ark.,1993; Naito, 2003; Biggerstaff ve Wooten, 2004).

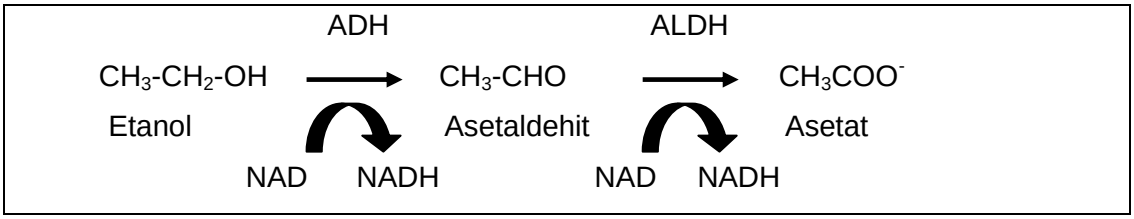
1.4. Alkol Metabolizması

Alkol terimi, doymuş bir hidrokarbon atomuna bağlı hidroksil grubundan oluşan geniş bir organik molekülü kapsar. Etil alkol, (CH_3CH_2OH); diğer bir değişle etanol en yaygın kullanılan alkol çeşididir. Aynı zamanda içki alkolüdür. Saf etanolün (yaklaşık %99,5'luk) erime/donma noktası, -114,1 ^oC, kaynama noktası 78,5 ^oC'dir. 20 ^oC'de saf etanolün +4 ^oC deki suya kıyasla özgül ağırlığı 0,789'dur (Tillonen, 2000). 1 gramının enerjisi 7,1 Kcal/g'dır (Lieber, 2000a). Bir tek içimlik alkollü içki ortalama 12 gram etanol içerir. Genel olarak, ortalama bir içki ile tek kadehte, 70-75 kg bir kişinin kan alkol düzeyi 15-20 mg/dl'dir.

Alkolün %10-20'si mideden, geri kalanı ince bağırsaklardan özellikle duodenum ve jejenumun üst kısımlarından basit difüzyon yoluyla emilir. Kan konsantrasyonu alkol alımından ortalama 45-60 dk sonra en yüksek seviyeye ulaşır. Alkol bütün vücut sıvılarına yayılır. Emilen alkolün %90'nı portal venler aracılığıyla karaciğere gelir ve karaciğerde metabolize olur, geri kalanı böbrek ve akciğerlerden atılır (Tillonen, 2000).

Alkol metabolizmasının başlıca yeri olan karaciğerde, alkolün parçalanmasında farklı yollar rol oynamaktadır. Bu metabolizmada en etkin rolü sitosolde yer alan alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi üstlenmiştir. ADH alkolü karaciğer hepatositlerinde oldukça toksik bir bileşik olan asetaldehite çevirir. Ardından aldehit dehidrojenaz enzimi (ALDH) de asetaldehiti asetata çevirir (Çizelge 1.1). Asetat ise hücre içinde karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında kullanlır. Alkol dehidrogenaz yolunda, nikotinamid adenozin dinükleotit (NAD^+) bileşiği koenzim görevi görmektedir ve dönüşümler sırasında açığa çıkan hidrojen atomlarını tutarak redükte formu olan NADH'a dönüşmektedir. Bu kimyasal reaksiyon alkol ve asetaldehitin karaciğer hepatositlerinde oksidasyonu olarak adlandırılmaktadır (Ponnappa ve Rubin, 2000).

Çizelge 1.1. Etanolün alkol dehidrojenaz yoluyla metabolizasyonu (Dolar, 2002).



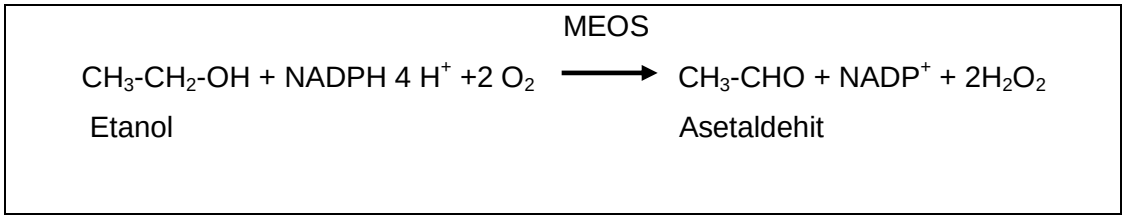
Etanol metabolizmasında rol alan enzimlerden biri olan ADH'ın 3 adet alt birimi bulunur. Bunlar alfa(α), beta (β) ve gama (γ) alt birimleridir. Her altbirim farklı bir gen tarafından kodlanır. Bu genler 4. kromozomun uzun kolunda lokalizedir (Smith ve ark, 1985). ADH1 geni alfa (α) alt birimini, ADH2 geni beta (β) alt birimini, ADH3 geni ise gama (γ) alt birimini kodlar. ADH enziminin gen polimorfizminden ADH2 geninin kodladığı β alt birimi sorumludur. ADH2 gen alleli β_1, β_2, β_3 olmak üzere 3 tip β alt birimini kodlar (Crabb ve ark, 1993). β_2 β_3 gen polimorfizmine sahip kişiler etanolü asetaldehite daha hızlı dönüştürürler. β_1 β_1 gen polimorfizmine sahip kişiler alkolü, asetaldehite β_1 β_2 'lere göre 100 kat, β_2 β_2 'lere göre ise 200 kat daha yavaş dönüştürür. β_3 β_3 gen polimorfizmine sahip kişilerin ADH enzimleri ise etanole en az afinite gösterir. Gastrik ADH; 3 izoenzim halinde bulunur. Gastrik ADH'ın etanole afinitesi düşük de olsa, etanol alımını takiben midede etanol düzeyi yüksek olacağı için bu enzimin de alkol metabolizmasında rolü olmaktadır (Hernandez ve ark, 1990; İlter ve Tekin, 2005).

Etanol metabolizmasında rol alan diğer bir enzim de ALDH'dır. Daha önceden belirtildiği üzere ALDH enzimi, asetaldehitin asetata dönüştürülmesinden sorumludur. Etanol metabolizmasından asıl sorumlu olan enzim ALDH2 enzimidir. ALDH2 enzimini kodlayan gen (ALDH2 geni) 12. kromozomda yer alır (Hsu ve ark.,1986). Normal allel ALDH2*1'dir. ALDH2 geninde meydana gelen nokta mutasyonu sonucu mutant ve dominant bir allel oluşur (ALDH2*2). ALDH2*2 gen alleli inaktif enzimi kodlarken, ALDH2*1 gen alleli aktif enzimi kodlar. Basit bir ifadeyle ALDH2*2 gen polimorfizmine sahip kişilerin ALDH enzimleri inaktiftir. Bu durum asetaldehitin asetata dönüşümünü yavaşlatacaktır. Kısaca ALDH2*2 gen polimorfizmi gösteren kişiler etanolü daha az tolere edebilecekleri için aşırı etanol alımı söz konusu olamayacaktır. Ancak, ALDH2*2 gen polimorfizmine sahip kişilerin ısrarla etanol alımına devam etmesi durumunda, asetaldehit miktarı daha yüksek olacağı için kronik karaciğer hastalığı gelişme riski yüksek olacaktır. Kısaca ALDH2*2 gen polimorfizmine sahip olmak bir taraftan alkolizmi engelleyici olması açısından avantaj sağlarken, diğer taraftan kronik etanol alımı durumunda dezavantaj oluşturacaktır (İlter ve Tekin, 2005). ALDH2*2 gen polimorfizmi beyaz ırkta ve Afrikalılarda saptanmamıştır (Goedde ve ark,1992; İlter ve Tekin, 2005). Dolayısıyla beyaz ırktaki etanol metabolizmasında ALDH gen polimorfizmi önem taşımaz. ADH gen polimorfizmi önemlidir. Diğer taraftan Asyalılarda ADH gen polimorfizminin de önemi olmakla beraber, esas olarak ALDH gen polimorfizmi

önem taşır. ALDH2*2 gen polimorfizmi Asyalılarda sıktır (Mizoi ve ark.,1985; İlter ve Tekin, 2005).

Etanol metabolizması daha az oranda mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS) tarafından sağlanır. MEOS, etanolü mikrozomal sitokrom P450 2E1 enzimi ile oksidasyona uğratır. Alkol dehidrogenazın etkisiyle, ortamda konsantrasyonu artan hidrojen iyonlarının bir kısmı da MEOS'un işleyişinde kullanılmaktadır (Çizelge 1.2) (Dolar, 2002).

Çizelge 1.2. Etanolün mikrozomal etanol oksitleyici sistem (MEOS) yoluyla metabolizasyonu (Dolar, 2002).



MEOS, kan ve dokulardaki etanol düzeyi yükseldiğinde devreye girmektedir. Kronik alkol tüketimi ve ratlarda alkol ile besleme yapılması enzimin aktifleşmesine sebep olur. Bu nedenle kronik alkolik hastalarda etanol oksidasyonu hızlanır (Grummer ve Edman, 1983; Ponnappa ve Rubin 2000).

Peroksizomlarda yer alan hücre içi antioksidan olan katalaz enzimi de etanolü okside etmektedir, ancak fizyolojik şartlarda alkol metabolizmasında önemli rolü bulunmamaktadır (İlter ve Tekin, 2005).

Etanolün toksik etkilerinden sorumlu metabolit olan asetaldehit, proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Hücrelerdeki mikrotubuler sistem asetaldehit tesiriyle bozulur ve protein atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda, su da tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Glutatyonun 3 amino asidinden biri olan L-sistein ile hemiasetaldehit teşkil ederek, glutatyon kaybına yol açar (Lieber, 1990). Asetaldehitin karaciğerde oluşturduğu zararlı etkiler çizelge 1.3'de belirtilmiştir.

Çizelge 1.3. Asetaldehitin Zararlı Etkileri

• Lizin ve diğer serbest amino asitlere bağlanarak enzim inhibisyonu • DNA onarımında azalma • Mikrotubuler protein atılımında bozulma • Toksik protein - asetaldehit antijenitesi • Sitokin salınımında artma • Mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması	• Plazma membranlarında ve mitokondriyonlarda oksijen kullanımında azalma ve serbest radikal artışı • Glutatyon mekanizmasında bozulma ve lipid peroksidayonu • Lipid aldehitlerde birikim • Hepatik kollajen sentezinin stimüle edilmesi ve buna bağlı olarak fibrozisin ilerletilmesi

(Lieber, 1990)

1.4.1. Alkole Bağlı Olarak Karaciğerde Gözlenen Değişiklikler

Etanol organizmada alkol dehidrojenaz yoluyla metabolize olurken reaktif oksijen türleri de üretilmektedir. NADH /NAD oranındaki belirgin artışın önemli metabolik sonucu olarak aktivitesi artan ksantin oksidaz serbest radikal oluşumuna yol açarken, ara ürün olarak oluşan asetaldehit de, ksantin oksidaz veya aldehit oksidaz aracılığı ile serbest radikaller oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca kronik alkol tüketiminde daha aktif hale geçen hepatik mikrozomal sitokrom P450-2E'nin indüksiyonu da hem süperoksit, hem de H_2O_2 üreten mikrozomlar ile; reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırmaktadır. Oluşan serbest radikallerin etkisi ile, organizmada hücre membran yapısında bulunan doymuş yağ asiti zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla lipid peroksidasyonu başlar. Lipid peroksidasyonu hepatoselüler hasara neden olur. Sitrik asit siklusunun aktivitesi azalır. Yağ asitlerinin normal oksidasyonunun azalmasına bağlı olarak trigliserid sentezi artar. Bu durumda karaciğer yağlanması ortaya çıkar. Lipid peroksidasyonu sonucu hepatositlerde, peroksidasyon ürünleri olan, malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal (4-HNE) düzeyi artış gösterir. Bu ürünler alkolik karaciğer hasarının patogenezinde tetikleyici bir rol oynar (Whitfield ve ark., 2001). Asetaldehit ve bu yeni kombinasyonlar, neoantijen etki göstererek immun cevaba yol açar ve sonuçta inflamatuar mekanizmaları başlatırlar. Kupffer hücrelerinden TNF-alfa, TGF-beta ve IL-6 salınır. TNF-alfa, direkt olarak karaciğer hücre nekrozuna neden olur, lökosit

adherens ve aktivasyonunu provake eder, hepatosit ve Kuppfer hücrelerinden IL-8 üretimini stimüle ederek, nötrofil kemotaksisine sebep olur. TGF-beta ve IL-6'da fibrozis gelişiminde rol alır. Asetaldehit, doğrudan İto hücrelerini aktive ederek kollajen artmasına yol açar. İntestinal endotoksinler ve neoantijen oluşumu Kupffer hücrelerini aktive ederek, Kupffer hücrelerinden salgılanan TGF-beta ile İto hücrelerinin uyarılmasına neden olur. Diyetteki çoklu doymamış yağlar, lipid peroksidasyonu yaparak ve lipid aldehitleri oluşturarak sitokrom yoluyla serbest oksijen radikallerini artırır, bir yandan da İto hücrelerini aktive eder. Sonuçta hücresel toksisite, yağlanma, fibrosiz ve alkolik hepatit tablosu oluşur (Jaeschke ve ark.2002; Lieber, 2004; You and Crabb, 2004).

Hipermetabolizmaya ve doku hipoksisine bağlı olarak, karaciğerde yağlanmanın en belirgin olduğu bölge III. bölgedir. Ortaya çıkan hipoksi hücre içi laktat miktarında artmaya yol açar ki, bu da fibrozisi tetikleyen bir olaydır (You ve Crabb, 2004). Alkolik yağlı karaciğer durumunun histopatolojisinde hücre infiltrasyonu gözlenmeden steatozis oluşmaktadır**.** Ancak bazı durumlarda daha çok polimorfonukleer hücrelerden oluşan daha seyrek olarak da mononukleer hücrelerin gözlendiği hücre infiltrasyonunun lobüler alanda yer aldığı da belirtilmektedir (Sonsuz, 2004). Hücre infiltrasyonu tablosunda hakim hücre tipini mononukleer hücrelerin oluşturması durumlarında yağlanma ile birlikte, diğer kronik karaciğer hastalıklarının varlığı da hesaba katılmalıdır (Sonsuz, 2004).

Yağlı karaciğer tablosu; etanol kullanımının bırakılması ile geriye dönebilen selim bir durumdur. Ancak yoğun alkol kullanımı ve beslenme bozukluğuna bağlı olarak ikinci evre olan alkolik hepatit gelişirse tedavi gerektirir. Gerekli tedavi yapılamazsa ve alkol kullanımı kesilmezse siroza kadar ilerleyebilir. Siroz gelişimi ise; son dönem karaciğer hastalığıdır, tedavi görmeyenlerde kısa sürede hastada portal hipertansiyon ile karaciğer yetmezliği gelişebilir ve ölüme yol açabilir (Dolar, 2002).

Karaciğerdeki yangı ve nekroz 6 ay-1 yıl kadar sürdüğü ve iyileşmeden devam ettiği zaman gelişen durum kronik hepatitir. İnflamasyonda yaygın olan hücreler lenfositlerdir. Hepatosit nekrozu temel bulgudur. Sıklıkla yağlı karaciğerde gözlenen histolojik değişikliklere fibrozis eşlik etmektedir (Hoofnagle ve Alter, 1984).

III. evre olan karaciğer sirozu parankim hasarı, fibroz ve nodül oluşumu ile birlikte, lobuler ve vasküler yapının bozulması ile karakterize, dönüşümsüz, diffuz karaciğer hastalığıdır. Hatırlatmak gerekirse, fibrozis durumunda lobuler ve vaskuler yapı korunmaktadır. Göze çarpan en önemli değişiklik bağ doku artışıdır. Alkolik sirozun histolojik tablosunda; hepatosit sayısı azalmış, nonparenkimal hücre sayısı ise 5 kat fazlasına kadar artmış olabilir. Bu durum, hepatositlerle sinüzoidler arasındaki karaciğer fonksiyonları için gerekli olan madde alış verişini bozar (Karagöz ve Haktanır, 2004).

1.5. Vitamin A Metabolizması

Retinol, retinil palmitat, retinil stearat, retinil oleat, retinoik asit metabolitleri, ve provitamin A karetonoidleri genellikle Vitamin A terimi altında anılırlar. A vitamini büyüme, iskelet sistemi ve dişlerin gelişimi, üreme, immun sistemin güçlenmesi, gece körlüğünün engellenmesi, mukoz membranların bütünlüğünün korunması gibi çeşitli fonksiyonları olan bir vitamindir. Gıdalarda ya provitamin A karotenoidleri ya da retinil esterleri şeklinde bulunur. Provitamin A karetonoidleri sebzelerden, retinil esterleri hayvansal gıdalardan sağlanır. Alınan retinil esterlerinin tümü, karetonoidlerin de bir kısmı ince barsaklarda retinole çevrilir (Blomhoff e ark., 1990, Harrison ve Hussain, 2001). Retinol, düşük moleküler ağırlıkta, yağda eriyen ve membranların yapısına katılabilen bir primer alkoldür. Hem ekstraselüler hem de intraselüler proteinlere bağlanabilir. Uzun zincirli yağ asitleri ile esterleşerek lipoproteinler içinde taşınabilir. Hücrelerde sitoplazmik lipid damlacıkları içinde depolanır (Natarajan ve ark., 2005).

Retinolün hücreler arasında transportu şilomikronlarla ve özelleşmiş proteinlerle (RBP: retinol bağlayan protein) gerçekleşir. Hepatositler şilomikronlardan aldıkları retinil esterlerin işlenmesinde ve RBP-retinol kompleksinin plazmaya verilmesinde önemli rol oynar. Şilomikronlar tarafından paketlenmiş retinil esterleri hepatositlerin yüzey reseptörleri tarafından tutulurlar (Blomhoff ve ark., 1992). Hepatositlerce retinil esterlerinin alımından sonra, bu hücrelerin membranına bağlı retinil ester hidrolaz (REH) aktivitesiyle hidrolize edilerek retinol oluşmaktadır (Blomhoff ve ark., 1991). Oluşan esterleşmiş retinol, hücresel retinol bağlayan protein tip I (CRBP-I) ve hücresel retinol bağlayan protein tip II (CRBP-II) ile ve de endositik veziküllerle granüllü ve granülsüz endoplazma retikulumuna taşınır.

Retinol, endoplazma retikulumuna ulaşınca RBP'ye bağlanır. Hepatositler RBP'yi sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir. Hücreye retinol alınması gerektiğinde RBP, retinolü kandan hücredeki CRBP-I'e taşır. Hücreden retinol salgılanması gerektiğinde ise CRBP-I, bu vitamini RBP'ye aktarır. Retinol RBP'ye tutunarak hepatositlerden dolaşım kanına verilir. Bu arada retinolün fazlası da hücre içi lipid damlacıklarında depolanmak üzere retinol açiltransferaz (ARAT) tarafından yeniden esterleştirilir. Hepatositlerden kana verilen RBP-retinol kompleksinin büyük bir kısmı Ito hücrelerince alınarak yağ damlacıklarında depolanır. Retinolün bu hücrelere alınması plazma RBP-retinol kompleksinden retinolün parakrin taşınımı ile gerçekleşir. Ito hücreleri tarafından yakalanamayan retinol ise, kan dolaşımına geçmektedir (Blomhoff ve ark., 1991).

Normal koşullarda memeli hayvanlarda ve insanda organizmadaki retinolün %50-80'ni karaciğerde depolanır. Ratlarda vitamin A metabolizması ile ilgili yapılan çalışmalarda, karaciğer doku örneklerindeki parenkim hücrelerinin seperasyonla birbirinden ayrıldığı durumda, karaciğerde depolanan toplam retinolün yaklaşık 30 nmol'ünün $/10^6$ Ito hücrelerinde, 0,5-0,8 nmol'ünün $/10^6$ hepatositlerde depolandığının tespit edildiği, endotel hücrelerinde ve Kupffer hücrelerinde depolanan retinolün ise önemsiz düzeyde olduğu bildirilmiştir (Blomhoff ve ark. 1985; Batres ve Olson, 1987; Blomhoff ve Wake, 1991).

Büyük çoğunluğu karaciğerde metabolize olan ve depolanan retinolün daha az miktarlarda olmak üzere böbrek, yağ dokusu, akciğer, dalak, beyin, mide, ince bağırsaklar, pankreas ve testiste de depolandığı bildirilmektedir (Natarajan ve ark., 2005).

Vitamin A'nın hücreye alınması, depolanması ve atılması bir denge halinde olduğundan, plazmadaki oranı daima sabit kalır. Fizyolojik durumlarlarda canlının kan plazma retinol konsantrasyonları pek değişmez. Vitamin A'nın yıkılma döngüsündeki metabolitler retinaldehit ve retinoik asit olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk aşamada retinol hücre içindeki retinol dehidrojenaz enzimi ile retinaldehite dönüşür. Bu dönüşümde NAD, kofaktör görevi görür ve NAD'a bağımlı aşama olarak bildirilmektedir. İkinci aşamada retinaldehit, retinaldehit oksidaz enzimi ile retinoik asite dönüşmektedir. Bu aşamada NAD'a gerek yoktur ve NAD'dan bağımsız aşama olarak belirtilmektedir. Retinoik asit, retinolün aktif metabolitidir ve retinole yeniden

dönüşmez. Retinoik asit çeşitli metabolitlere dönüşerek, safra, idrar, dışkı, ve ter yoluyla vücuttan atılır (Natarajan ve ark., 2005). Retinol ayrıca hepatik mikrozomlarda sitokrom P4502E1 yoluyla da metabolize olmaktadır (Leo and Lieber,1999; Seitz, 2000).

Aynı yolları kullanarak metabolize olan etanol ve retinol metabolizmaları arası etkileşim bulunmaktadır. Etanol ve retinoik asit prekürsörleri organizmada aynı metabolik yollarda substrat olmak için birbirleriyle yarışmaktadır (Leo and Lieber,1999). MEOS yolu için etanol varlığı retinol metabolizmasını yavaşlatacak toksik etki artış gösterecektir. ADH yolu için etanol varlığı, başta ADH1 olmak üzere tüm ADH enzimleri için yarışmalı inhibisyon durumu oluşturacaktır.

1.6. Alkole Bağlı Karaciğer Hastalığında Laboratuvar Testleri

Ratlarda kronik alkolizm oluşturulduğunda, alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), gamma-glutamil transpeptidaz (GGT) enzim aktiviteleri ile, total kolesterol ve total lipid düzeylerinde artış saptandığı bildirilmektedir. (Özcan ve Mengi, 1998). Enzim düzeyindeki artışın hücre harabiyetinden kaynaklandığı, transaminazların hepatositlerin direkt hasarı sonucunda kan dolaşımına geçtiği ve kandaki seviyelerinin yükseldiği belirtilmektedir (Özmen ve ark., 1988).

ALT ve AST kronik alkol tüketim belirleyicisi olarak rutin de sık kullanılmaktadır. Adlarından da anlaşılacağı üzere ALT ve AST, alanin ve aspartik asidin amino gruplarını α keto glutaratlara taşırlar. Böylece glutamat ve ALT ile pruvat ve AST ile oksalosetat oluşur. B6 vitamini her iki enzimin de kofaktörüdür (Li ve ark., 2004). AST karaciğerde olduğu kadar kalp, kas, beyin, pankreas, böbrek, akciğer, nötrofiller ve eritrositlerde de yoğun oarak bulunmaktadır. Buna karşılık ALT yalnızca karaciğerde yoğundur. ALT sitoplazmik, AST ise, mitokondrial bir enzimdir. ALT düzeyi yükselmesi hepatosit membran hasarı olduğunu, AST düzeyi artışı ise; mitokondrilerin durumdan etkilendiğini, mitokondriyal membran hasarının oluştuğunu gösterir. Bu nedenle AST düzeyi daha geç artış gösterir ama, kronik alkol kullanılması durumunda AST deki artış daha yüksek olmaktadır (Bogin ve ark., 1986).

Alkol kullanımını saptamada kullanılan biyokimyasal belirleyicilerden biri de GGT enzimidir. Bu enzimin karaciğer, böbrek, pankreas ve prostatta yoğun olarak bulunduğu bildirilmiştir. GGT hücre zarından amino asitlerin geçişi ve glutatyonun metabolizması gibi bazı fizyolojik foksiyonların yerine getirilmesine katkıda bulunmaktadır. Kronik alkol kullanımı sırasında serum GGT düzeylerinin sıklıkla arttığı bildirilmektedir. Bu artışın GGT yapımının artması ve/veya kronik alkol alımının karaciğer hücrelerini tahrip ederek GGT sızıntısı oluşturmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Rosman ve Lieber, 1990).

Bu çalışmanın amaçları:

içme suları ile 12 hafta son değer olarak %30 düzeyine ulaşılan etanolün verilmesi ile kronik alkolizm oluşturulan ratlarda;

etanolün belirtilen süre ve düzeyde içme suları ile uygulanması durumunda;

- hepatositler, endotel hücreleri ve perisinüzoidal hücrelerde meydana getirdiği yapısal değişikliklerin incelenmesi,

- ve çalışmanın sonlandırılmasına 2 hafta kala uygulanan retinolün bu değişiklikleri nasıl etkilediğinin ışık ve elektron mikroskobik olarak araştırılması,

- araştırmadan elde edilecek ışık ve elektron mikroskobik bulgular ile, histoloji ve histopatoloji alanlarına bilimsel katkıda bulunulacağının düşünülmesidir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada materyal olarak, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Araştırma merkezinden sağlanan 120-150 gr ağırlığında, 20 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 25.05.2007 tarih ve 07/37 sayılı kararı ile gerçekleştirildi. Ratların bakım ve beslemesi Komutanlığın Tıbbi Histoloji-Embriyoloji Anadal Başkanlığı Laboratuvarlarında yapıldı. Ratlar laboratuvara getirilmelerinden itibaren bir hafta süreyle ad libitum beslenerek, ortama alışmaları sağlandı. Bir haftanın sonunda tartım yapılarak gruplar oluşturuldu. Deneme ve kontrol gruplarının kuyruk venlerinden alınan kanlar 3500 devirde 15 dk santrifüj edildi, serumları çıkarıldı. Serum örneklerinde AST/ALT/GGT ve çeşitli biyokimyasal analizler yapıldı. Biyokimyasal sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS 16.0 paket programı kullanıldı. Çalışma süresince hayvanlar ad libitum olarak %24 ham protein, 2650 kcal/kg metabolik enerjili, Türk Standartları Enstitüsü'nce laboratuvar hayvanları yemleri için belirlenmiş olan standartlara uygun pelet yem** ile beslendi

Hayvanlar kontrol ve deneme grupları şeklinde 10'arlı iki ana gruba, her ana grup da kendi arasında 5'erli iki alt gruba ayrıldı (Çizelge 2.1). Kontrol ve deneme gruplarına ait alt grupların birine çalışmanın sonlandırılmasına iki hafta kala subkutan 50.000 IU/ml vitamin A palmitat* enjekte edildi (Ergün, 2000).

Çalışma, deneme gruplarının içme sularına %2 düzeyinde etanol katılarak başlatıldı (Sarphie ve ark., 1996). İçme sularına katılan etanol düzeyi, her 2 günde bir %2 artırılarak %30 düzeyine ulaşıldı ve bu düzeyde sabitlendi. Deneme gruplarında yer alan ratlara 12 haftalık besleme periyodunun bitimine kadar içme suları ile %30'luk etil alkol verilmeye devam edildi.

Çalışma süresince; deneme ve kontrol gruplarının aldıkları günlük kalori düzeyini sabit tutmak için; alkolden gelen enerji hesaplanarak, kontrol gruplarının içme sularına alkolden gelen kalori değerini sağlayacak kadar sakkaroz ilave edildi.

---

* Vitamin A palmitat- DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti.

**Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'ndan 25.06.19997 beyan tarih ve 69.03.238 beyan no ile izinli pelet yem

Çizelge 2.1. Kontrol ve Deneme gruplarına uygulanan işlemler ve grup kodları

Kontrol	**Deneme**
(K1) Şekerli su verilen kontrol grubu	**(D1) Alkol verilen deneme grubu**
(K2) Şekerli su + Vitamin A uygulanan kontrol grubu	**(D2) Alkol verilen + Vitamin A uygulanan deneme grubu**

Hesaplamalar aşağıda belirtilen biçimde yapıldı. Her hafta tartımlar yapılarak canlı ağırlık artışları kaydedildi. Zutphen ve ark., (2003) ratların ortalama günlük su tüketimleri 10-12 ml/100 g canlı ağırlık/gün olarak belirtmektedir. Bu çalışmada da ratların su tüketimleri tespit edilerek Çizelge 2.2. oluşturuldu.

Deneme grubuna eklenen alkolden gelen enerji düzeyinin hesaplanması:

120 gr canlı ağırlığındaki ratlar, % 2 alkol içeren içme sularından 12 ml /gün içtiklerinde;

Etil alkolün 1000 ml'si; 790 gr olduğu için:

- ***Ratların aldığı alkollü içme suyu miktarı: 12mlx790gr/1000ml=9,48 gr'dır.***

Almış oldukları % 2'lik etil alkolden gelen enerji miktarı:

- ***7,1 kcal/gr x 2/100 x 9,48 gr = 1,346 kcal/gün olur.***

Enerji dengelemek için kontrol gruplarının içme sularına eklenecek sakkaroz miktarlarının hesaplanması:

1gr sakkarozdan gelen enerji: 3,94 kcal

- ***1 gr x 1,346 kcal/gün / 3,94 kcal/gr = 0,34 gr/gün***

Katılması gereken toplam sakkaroz miktarı

- 0,34gr/gün x 5 (bir kafeste bulunan ve aynı suluktan su içen rat sayısı) =1,7 gr/gün olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 2.2. Deneme ve kontrol gruplarının aldıkları günlük kalori düzeyini sabit tutmak için; deneme grubuna eklenen alkolden gelen enerji hesaplanarak, kontrol gruplarının içme sularına alkolden gelen kalori değerini sağlayacak kadar ilave edilen sakkaroz miktarları (g) ve ratların kabul edilen ortalama günlük su tüketimleri (ml/gün/rat).

Ratların içme sularına katılan alkol düzeyleri	Ratların içme sularına katılan sakkaroz miktarları, g	Ratların ortalama günlük su tüketimi, ml/gün/rat
%2	1,7	12
%4	3,7	13
%6	5,9	14
%8	8,5	15
%10	11	16
%12	15	18
%14	20	20
%16	20	18
%18	20	16
%20	21	15
%22	23	15
%24	25	15
%26	26	14
%28	28	14
%30	30	14

Belirlenen 12 haftalık besleme periyodunun bitiminde ratlar ketamin–ksilazin anestezisi altındayken kalplerinden kan, karaciğerlerinden doku örnekleri alındı. Kan örneklerine AST/ALT/GGT karaciğer enzim testleri ve çeşitli biyokimyasal testler, doku örneklerine ise ışık ve elektron mikroskobik incelemeler için aşağıdaki işlemler yapıldı.

2.1. Işık Mikroskobik İncelemeler

Karaciğerin çeşitli yerlerinden alınan doku örnekleri, formol-alkol ve %10 formol-kalsiyum solüsyonlarında tespit edildiler (Bancroft ve Cook, 1984). Formol alkol'de tespit edilenler dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek paraplastta bloklandılar. Bloklardan alınan 5 µm'lik kesitlere genel histolojik

incelemeler için Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama tekniği (Crossmon, 1937), hepatositlerdeki glikojeni göstermek için Best Carmine boyama reaksiyonu (Bancroft ve Gamble, 2002), nötral mukosubstans için Periodic Acid Schiff (PAS) (Culling ve ark., 1985) reaksiyonu, glikojenin enzimatik kontrolü için Diastaz/Best Carmine ve Diastaz/PAS reaksiyonları yapıldı. Bağ doku elemanlarını ortaya koymak için, Gordon ve Sweets retikulin metodu (Culling ve ark, 1985) uygulandı.

Diğer taraftan, % 10 formol-kalsiyum solüsyonunda + 4 °C'de ve karanlıkta 24 saat süreyle tespit edilen doku örneklerinden 10 µm kalınlığında kriyostat kesitleri alındı. Bu kesitlerin bir bölümüne yağları demonstre etmek amacıyla Sudan Black B (Kiernan, 1999) ve Oil Red O (Kiernan, 1999) boyamaları, diğer bölümüne vitamin A depolayan hücrelerin lokalizasyonunu göstermek için altın impregnasyonu yapıldı (Aştı, 1982, Ergün, 2000). Elde edilen preparatlar Leica DM 2500 model araştırma mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

2.2. Elektron Mikroskobik İncelemeler

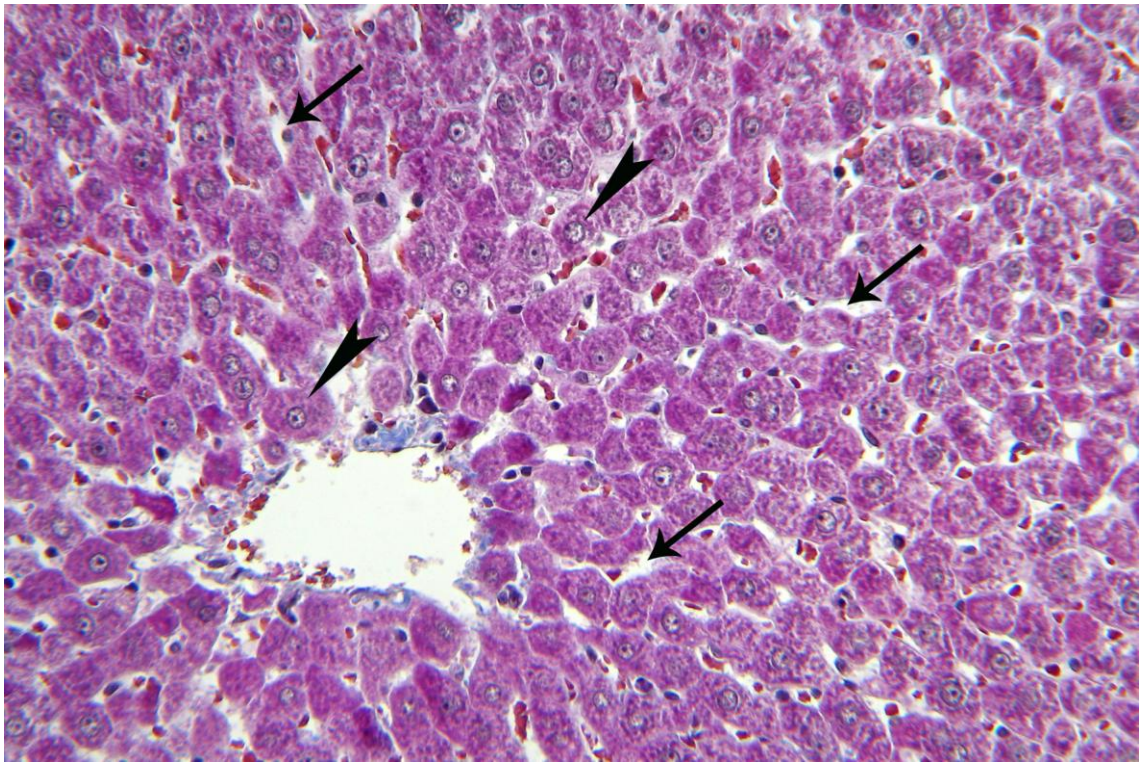
Elektron mikroskobik incelemeler için alınan doku örnekleri Karnovsky (1965) yöntemine göre gluteraldehit–paraformaldehit (pH 7.4) ön tespitinde 24 saat bekletildikten sonra kakodilat tamponunda yıkanarak ozmik asitte ikinci kez tespit edildi. İkinci tespitten sonra dokular %1'lik uranil asetat solüsyonunda iki saat tutulup dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek Araldit M'de bloklandılar. Bu bloklardan alınan yarı ince kesitlere toluidine blue boyaması yapıldı, uygun bölgeler işaretlendi ve 400-600 A^0 kalınlığında ince kesitler alındı. Uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandıktan (Veneable ve Coggeshall, 1965) sonra Carl Zeiss EM 9 S-2 model transmission elektron mikroskopta incelenerek fotoğrafları çekildi.

3. BULGULAR

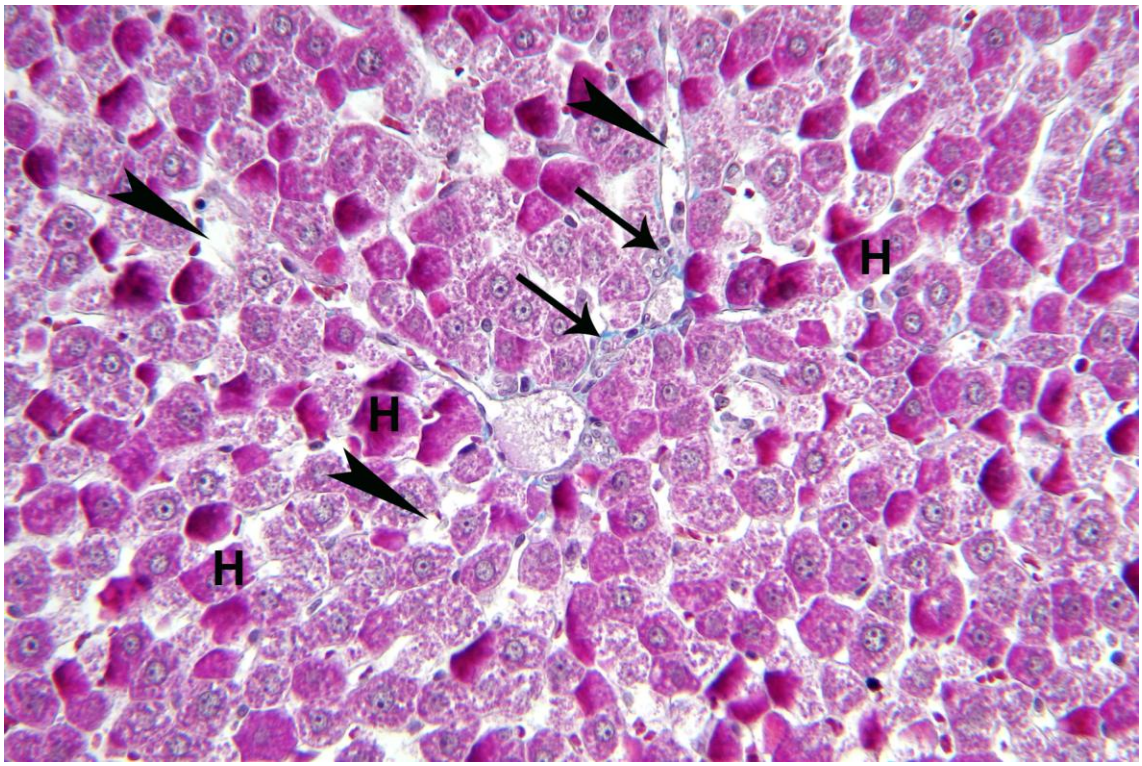
3.1. Işık Mikroskobik Bulgular

Şekerli su verilen kontrol grubuna (K1) ait hayvanların üçlü boyama yapılmış karaciğer kesitlerinde, organın parankiminin birbirleriyle anastomozlaşan poligonal şekilli, çift sıralı epitel hücre kordonlarından oluştuğu (Şekil 3.1), hepatositlerin yuvarlak ve iri olan ökromatik çekirdeklerinin çoğunlukla hücrenin ortalarına yakın yerleştiği, çekirdekçiğin de belirgin olduğu saptandı. Epitel hücre kordonları arasındaki sinuzoidler normal genişlikteydi.

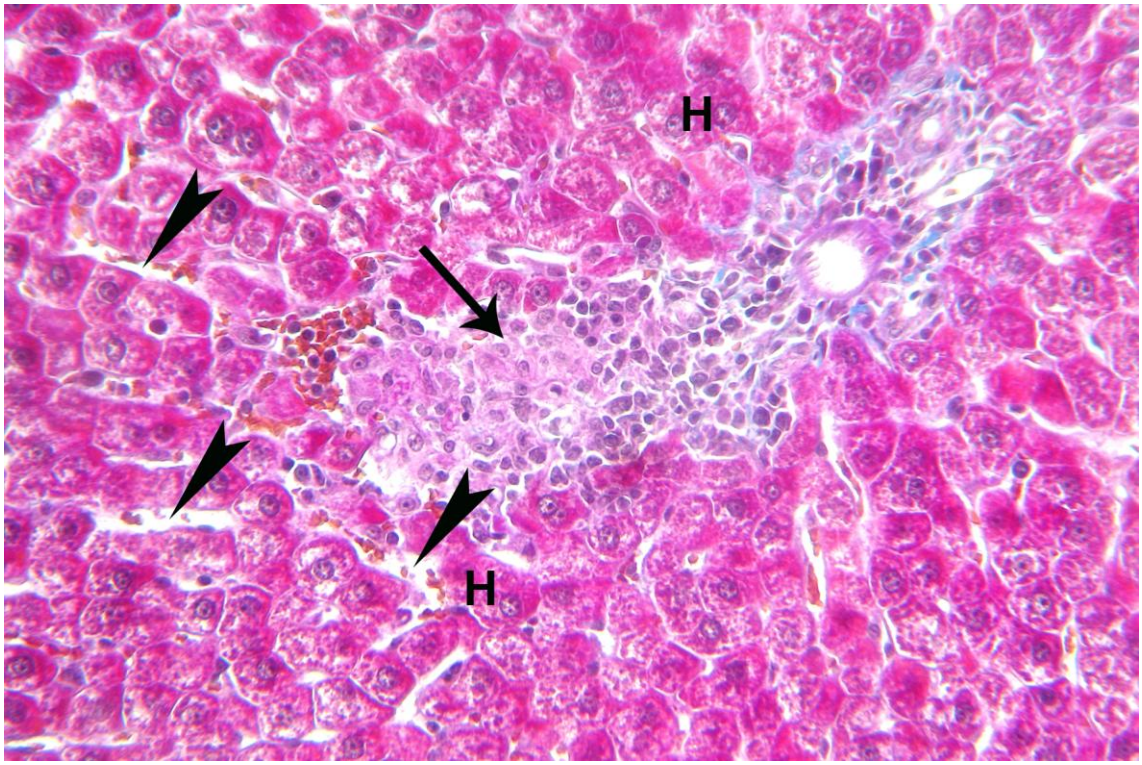
İçme sularına alkol katılan deneme grubunun (D1) üçlü boyama yapılmış karaciğer kesitlerinde (Şekil 3.2), hepatositlerde şişme, perivenüler kalınlaşma ile sinüzoidlerde genişleme görüldü.



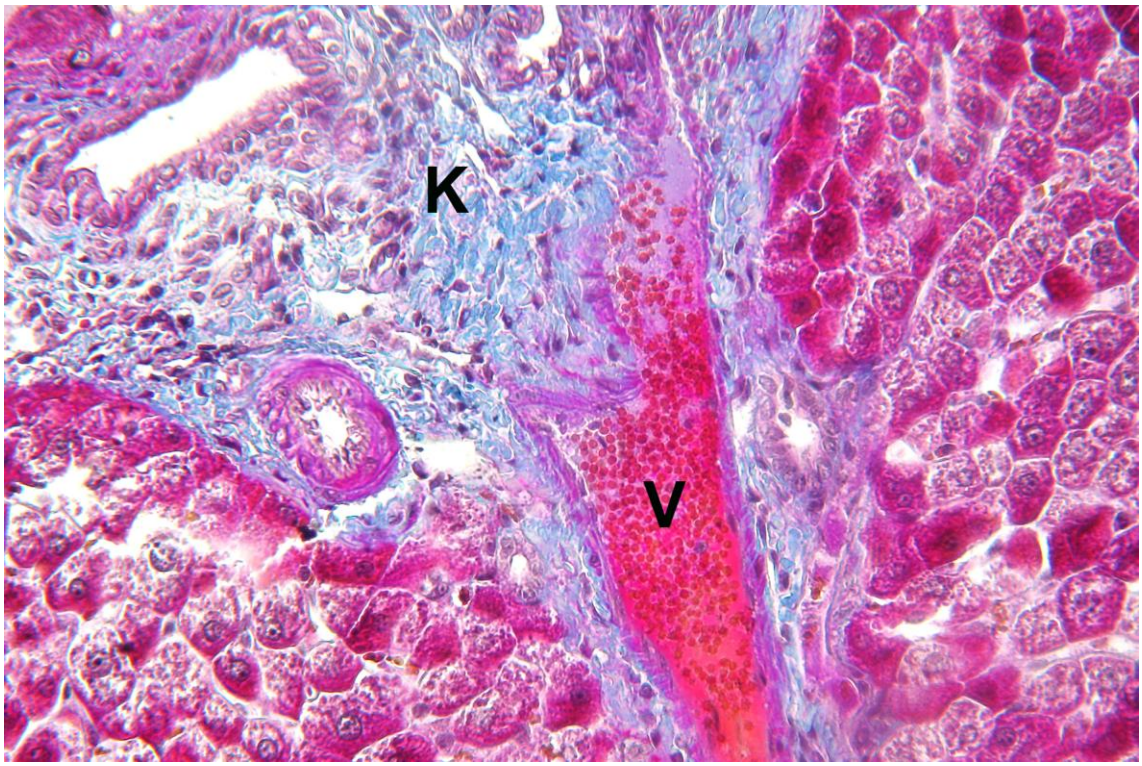
Şekil 3.1. Şekerli su verilen kontrol grubu, **hepatositler, sinuzoidler.** Ok başları: hepatositler, Oklar: sinuzoidler. Üçlü boyama X550.



Şekil 3.2. Alkol verilen deneme grubu, **perivenüler kalınlaşma, sinuzoidlerde genişleme.** Oklar: perivenüler kalınlaşma, Ok başı: sinüzoidlerde genişleme H: hepatositlerde şişme. Üçlü boyama. X550.



Şekil 3.3. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, mononükleer hücre infiltrasyonu. H: hepatositlerde şişme, Ok başı: sinüzoidlerde genişleme, Ok: hücre infiltrasyonu. Üçlü boyama. X550.

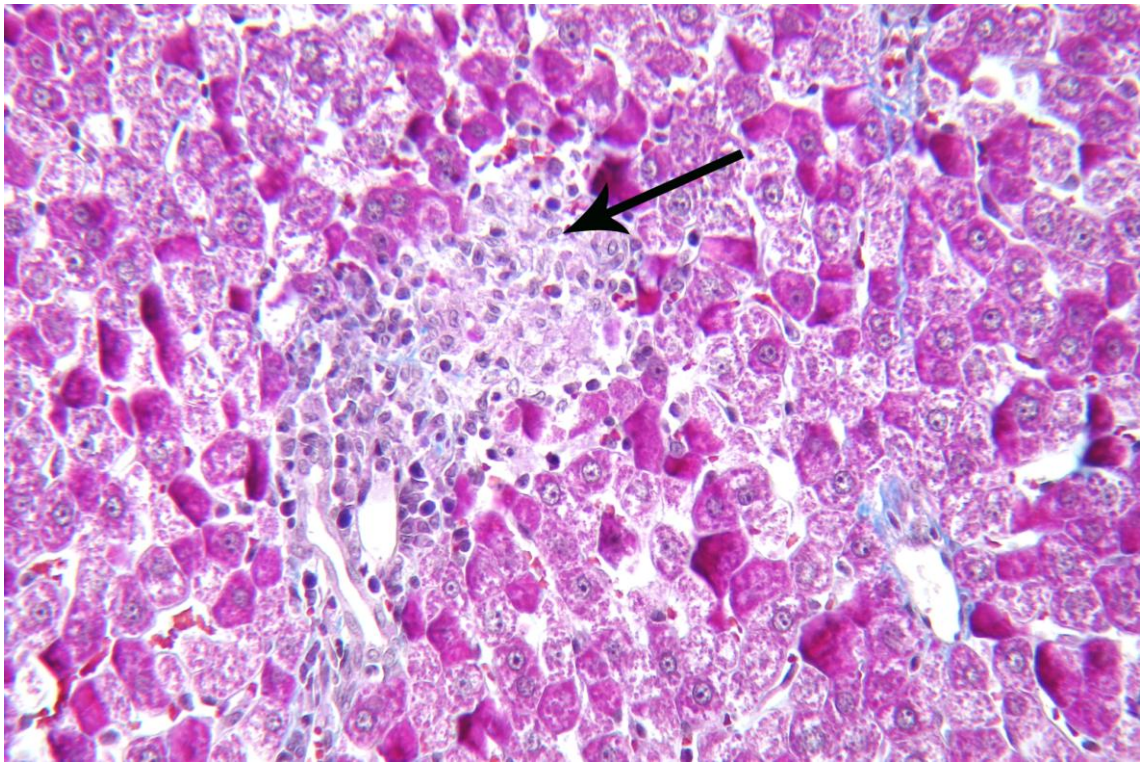


Şekil 3.4. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, Kiernan aralığı. K: Kiernan aralığı, V: eritrositlerle dolu V. interlobularis. Üçlü boyama. X550.

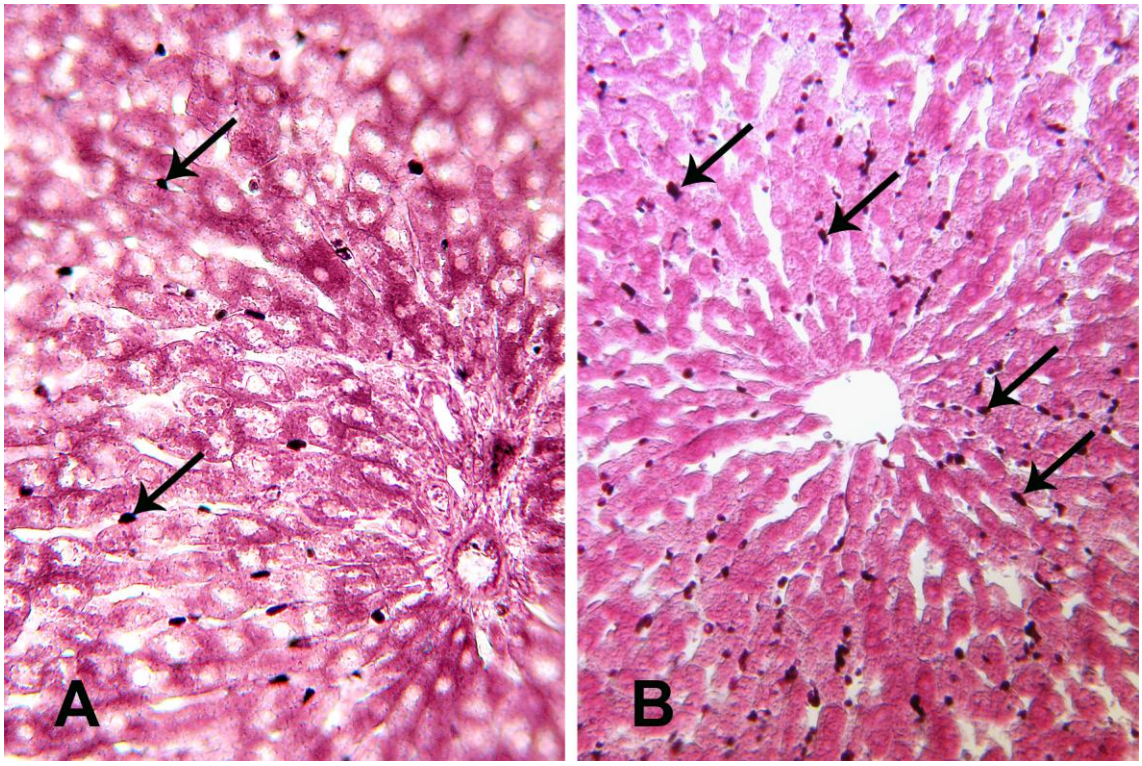
İçme suları ile alkol verilen ve vitamin A enjeksiyonu yapılan deneme grubunda (D2) (Şekil 3.3); hepatositlerde şişme, hücre kordonlarında bozulma, sinüzoidlerde genişleme ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile karşılaşıldı (Şekil 3.3). Kiernan aralığında belirgin bağ dokusu artışı vardı. Venalar eritrositlerle doluydu ve duvarı kalınlaşmıştı (Şekil 3.4). Sinüzoidlerde yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 3.5).

Şekerli su verilen kontrol grubunun altın klorid boyamasında perisinuzoidal hücreler spesifik reaksiyon verdiler (Şekil 3.6A). Şekerli su ve vitamin A enjeksiyonu yapılan kontrol grubunda ise; perisinüzoidal hücre sayısının artmış olduğu gözlendi (Şekil 3.6B).

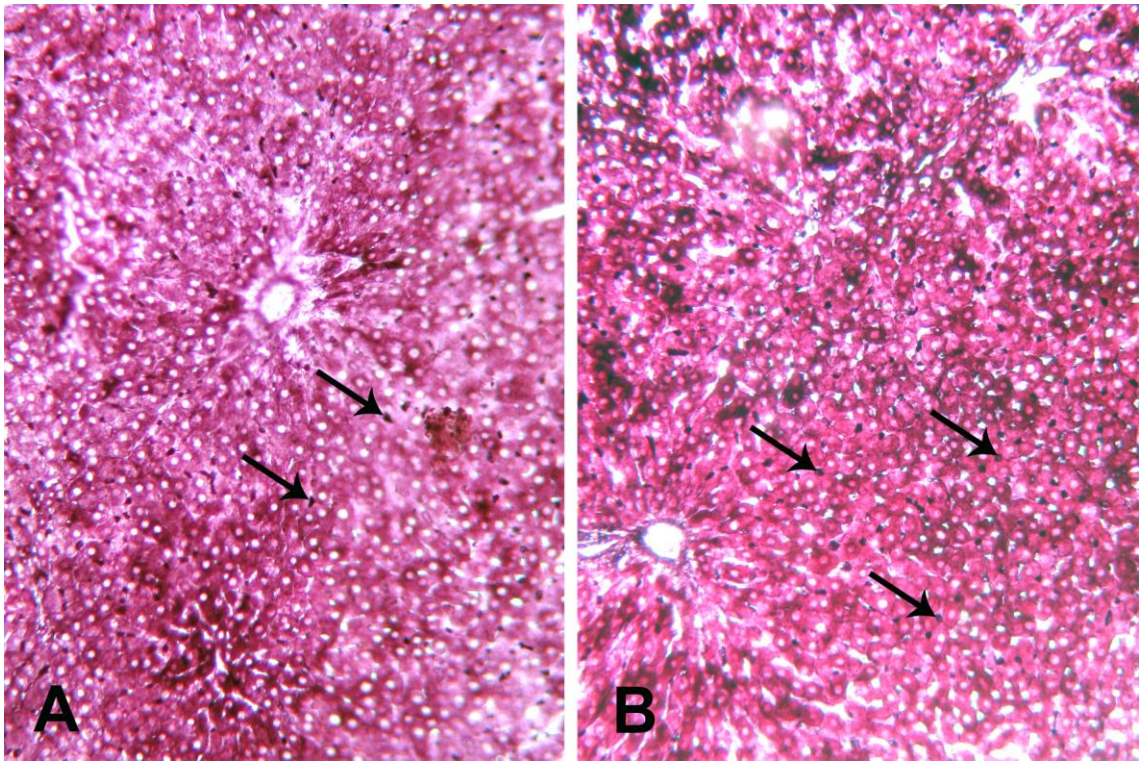
Alkol ile birlikte vitamin A enjeksiyonu yapılan deneme grubunda altın klorür pozitif hücrelerin sayısı (Şekil 3.7B), sadece alkol verilen gruba göre (Şekil 3.7A) daha fazla, şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubuna göre ise daha azdı.



Şekil 3.5. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, mononükleer hücre infiltrasyonu. Ok: Mononükleer hücre infiltrasyonu. Üçlü boyama. X550.



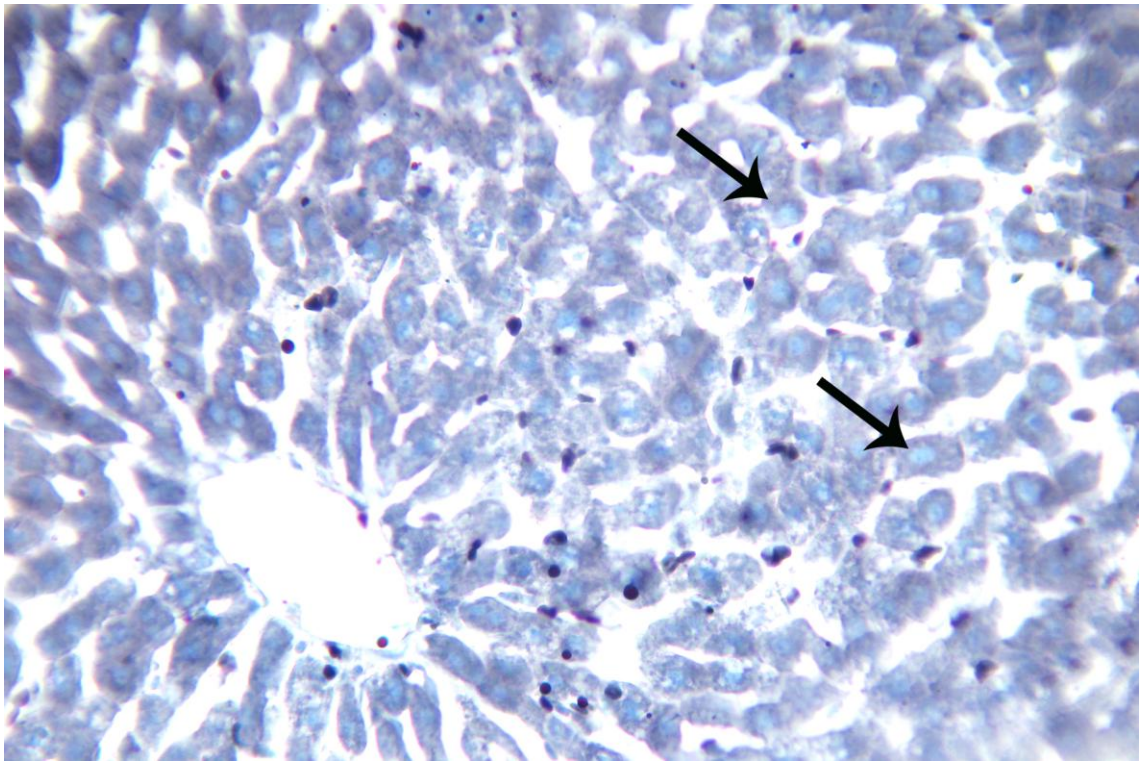
Şekil 3.6. Şekerli su verilen kontrol grubu (A), şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu (B), altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler. Oklar: altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler. Altın klorür. X300.



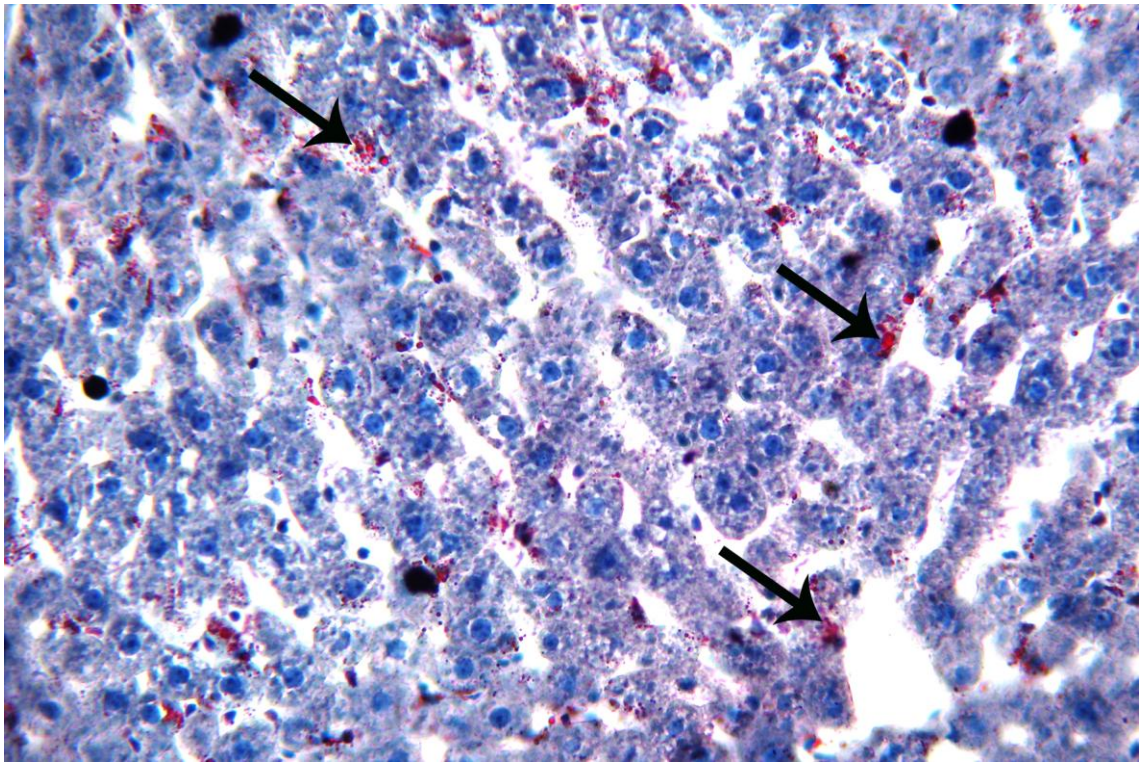
Şekil 3.7. Alkol verilen deneme grubu (A), alkol ve vitamin A verilen deneme grubu (B), altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler. Oklar: altın klorür pozitif perisinuzoidal hücreler. Altın klorür. X150.

Yağları demonstre etmek amacıyla yapılan Oil Red O boyamasında, şekerli su verilen kontrol grubunda (K1) hepatositlerde (Şekil 3.8) ve perisinuzoidal hücrelerde herhangi bir reaksiyon gözlenmezken, şekerli su ile birlikte vitamin A verilen kontrol grubundaki (K2) hepatositlerde yer yer Oil Red O pozitif lipid damlacıklarına rastlandı. (Şekil 3.9).

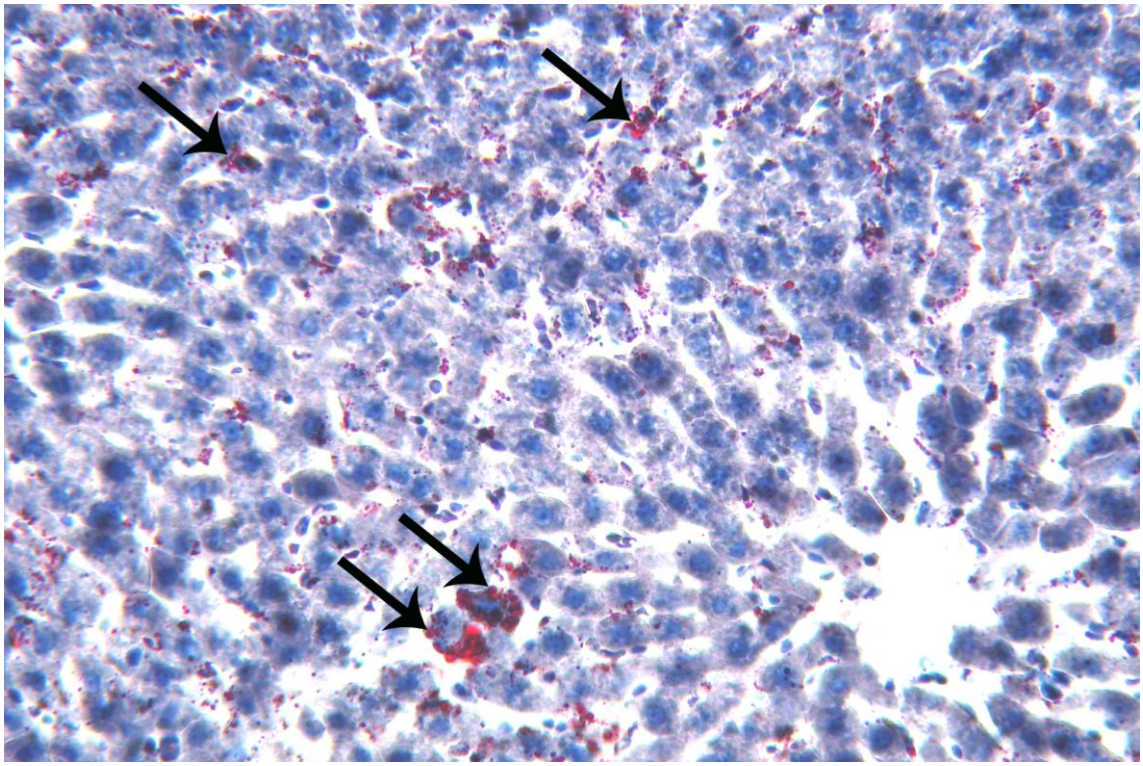
Deneme gruplarına baktığımızda; alkol verilen deneme grubuna (D1) ait karaciğer kriyostat kesitleri (Şekil 3.10) kontrol gruplarıyla (Şekil 3.8, 3.9) karşılaştırıldığında hepatositlerdeki Oil Red O pozitif lipid damlacıklarının arttığı, hem alkol verilen hem de vitamin A enjeksiyonu uygulanan deneme grubunda (D2) ise (Şekil 3.11), yağlanmanın D1 grubuna göre daha da fazla olduğu gözlendi.



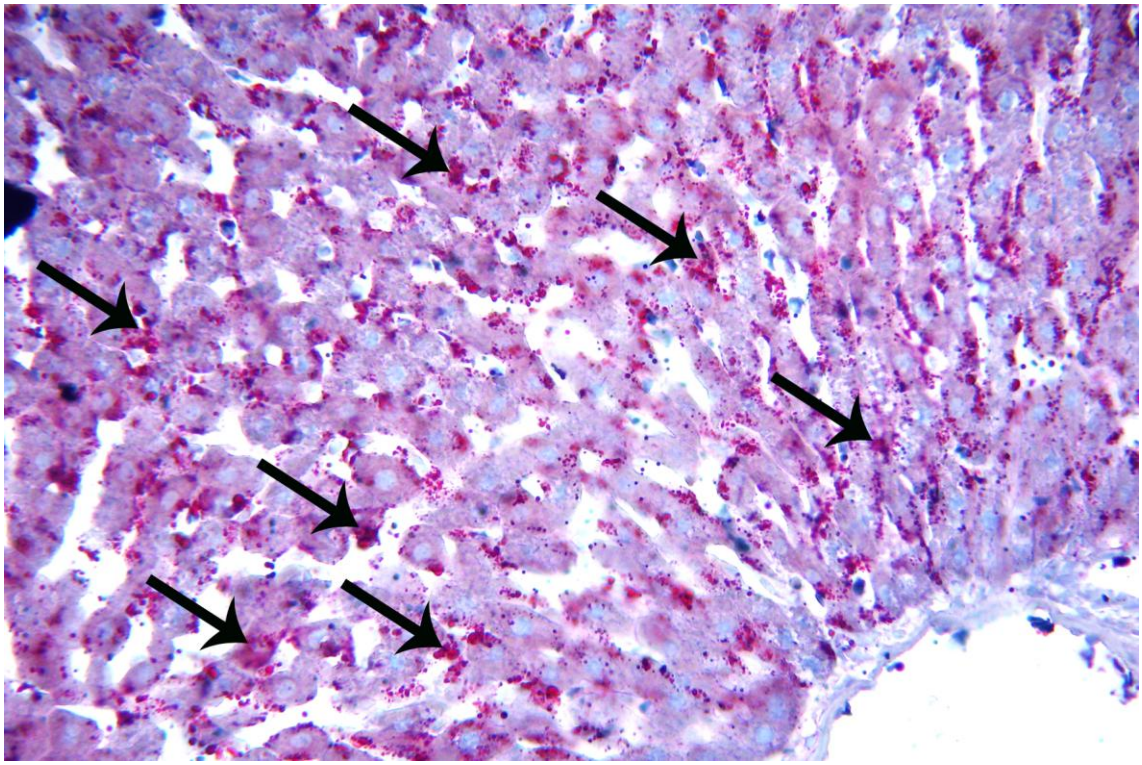
Şekil 3.8. Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerde Oil Red O negatif reaksiyon. Oklar: hepatositlerde Oil Red O negatif reaksiyon, Oil Red O. X550.



Şekil 3.9. Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X550.

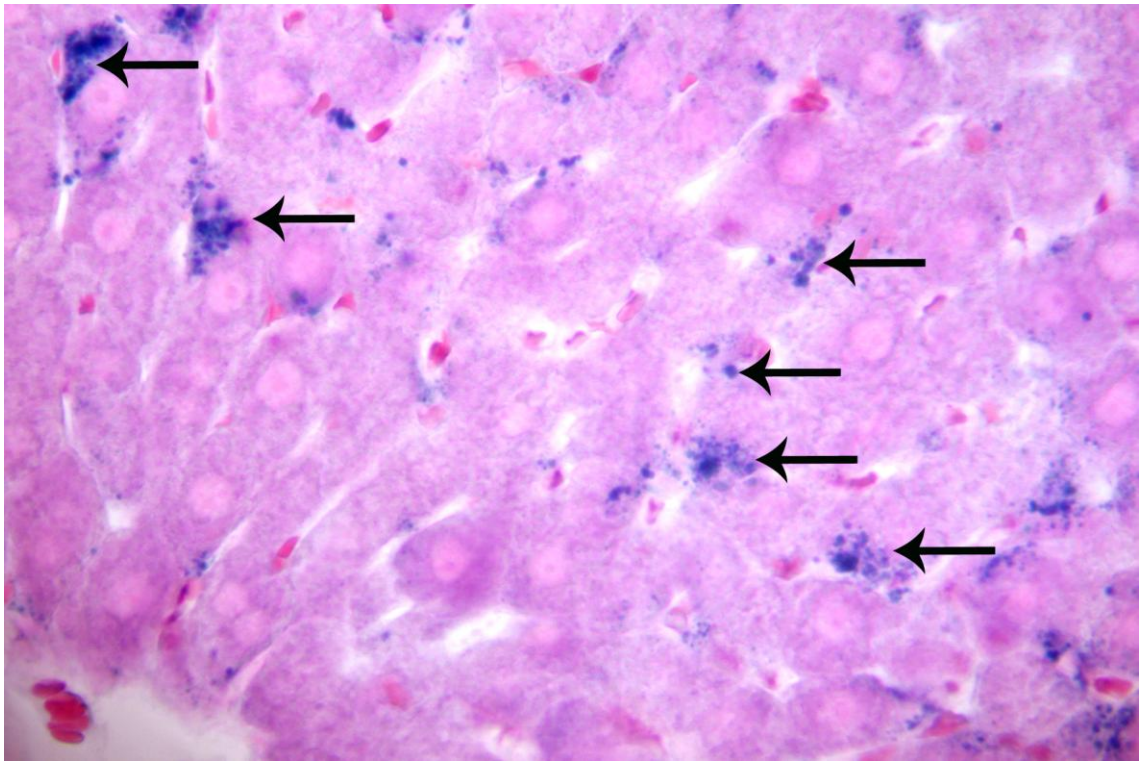


Şekil 3.10. Alkol verilen deneme grubu, hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X550.



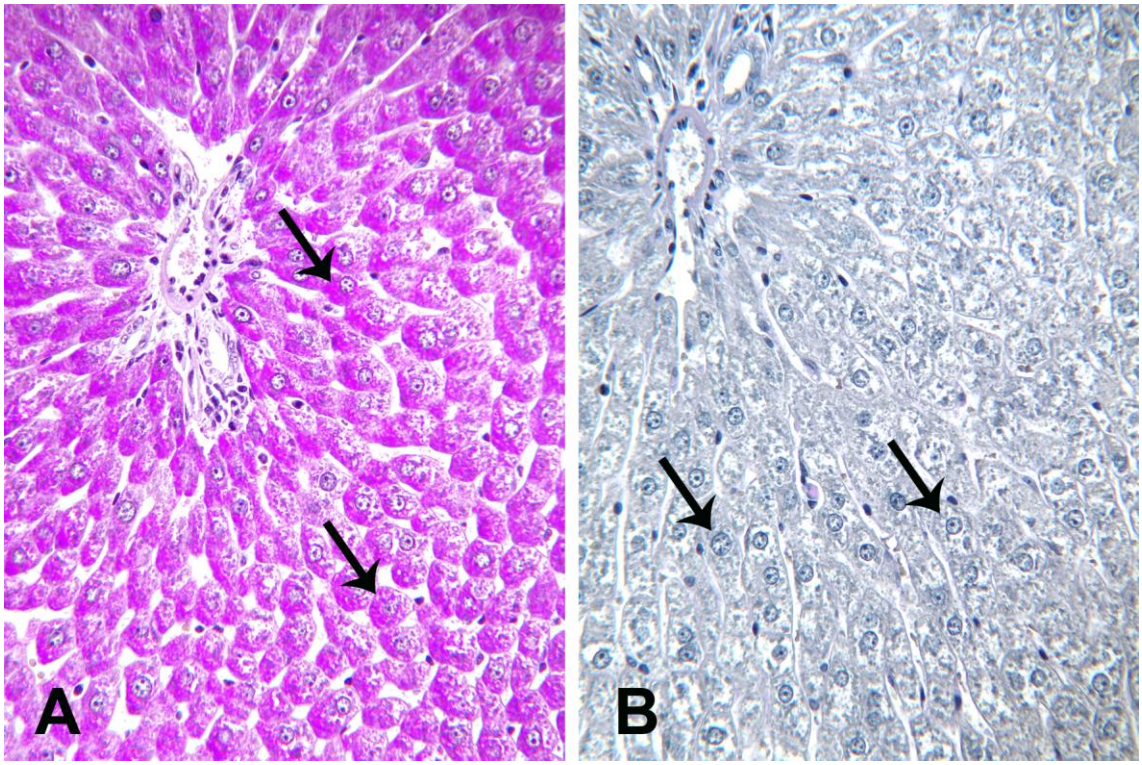
Şekil 3.11. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oklar: hepatositlerde Oil Red O pozitif lipid damlacıkları. Oil Red O. X550.

Yağların demostrasyonunda kullanılan Sudan Black B boyamasının sonuçları da Oil Red O reaksiyonu ile paralellik gösteriyordu. Kontrol ve deneme grupları içerisindeki en fazla yağlanma alkol ve vitamin A verilenlerdeydi (Şekil 3.12).

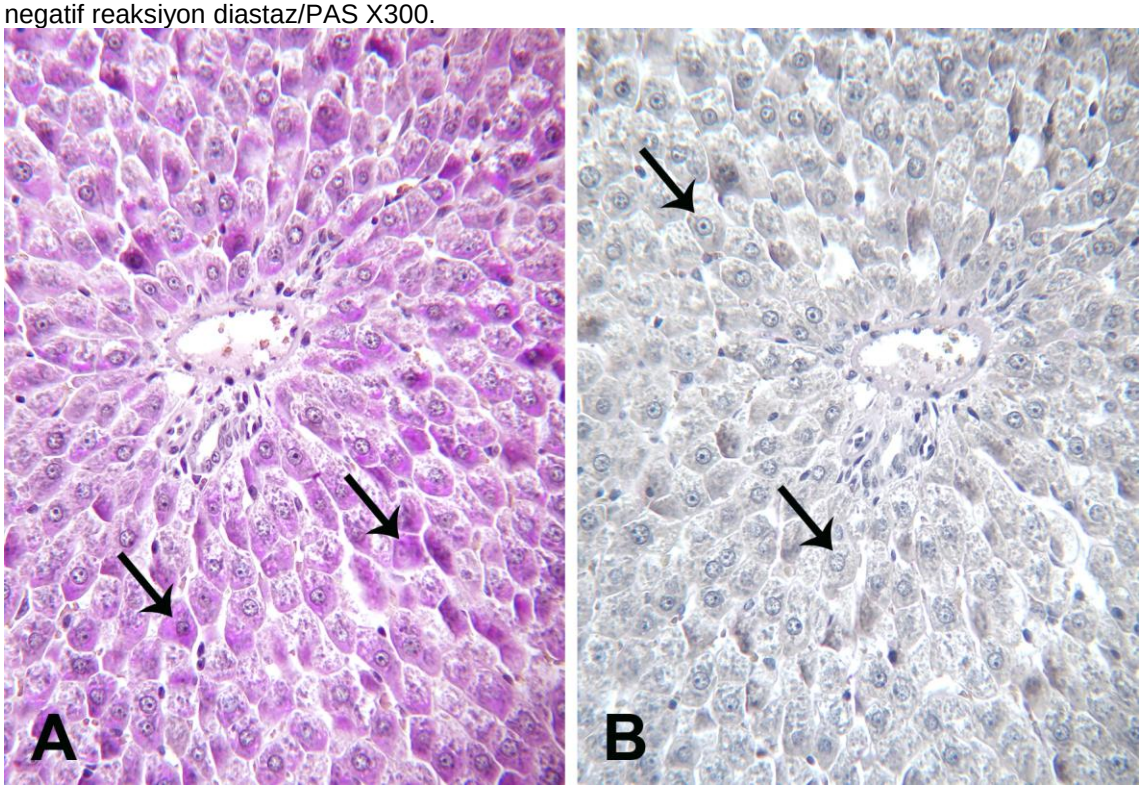


Şekil 3.12. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatositlerde Sudan Black B pozitif lipid damlacıkları. Oklar: hepatositlerde Sudan Black B pozitif lipid damlacıkları. Sudan Black B. X1100.

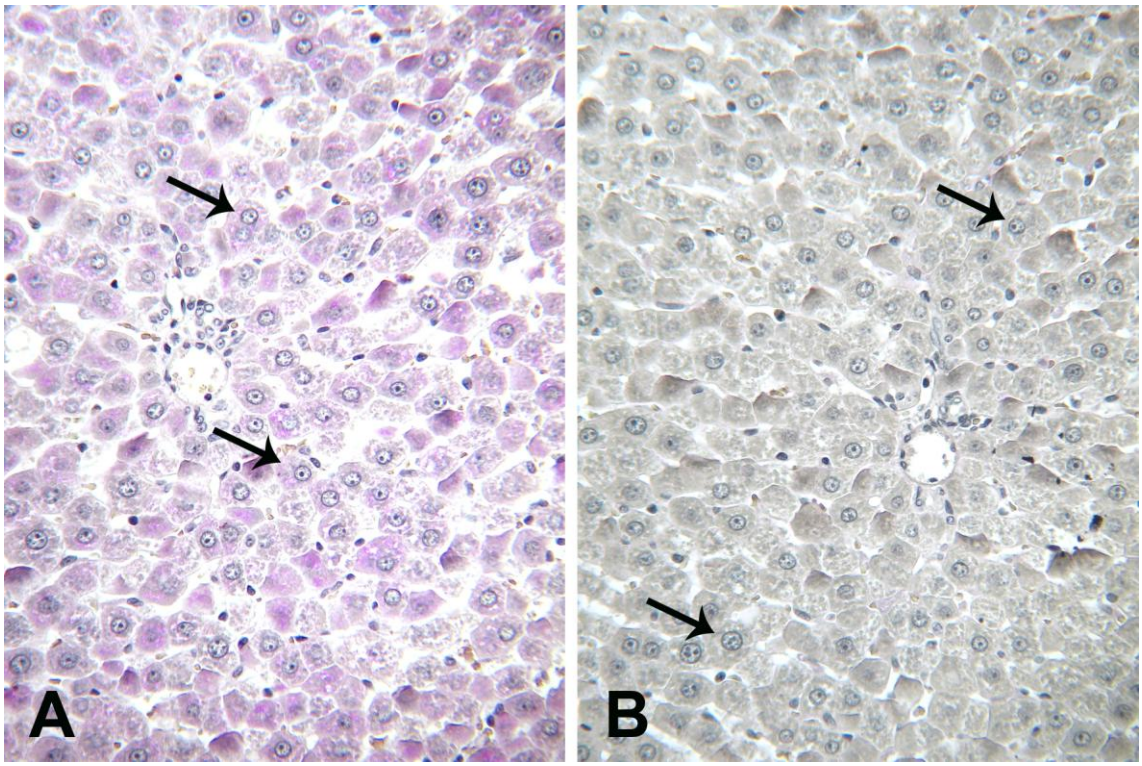
Nötr mukosubstansın tespiti için yapılan PAS boyamasında, K1 grubundaki hepatositlerde kuvvetli PAS pozitif (Şekil 3.13), K2 grubunda PAS pozitif (Şekil 3.14), D1 grubunda (Şekil 3.15) zayıf PAS pozitif, D2 grubunda ise (Şekil 3.16) çok zayıf PAS pozitif reaksiyonlar ile karşılaşıldı.



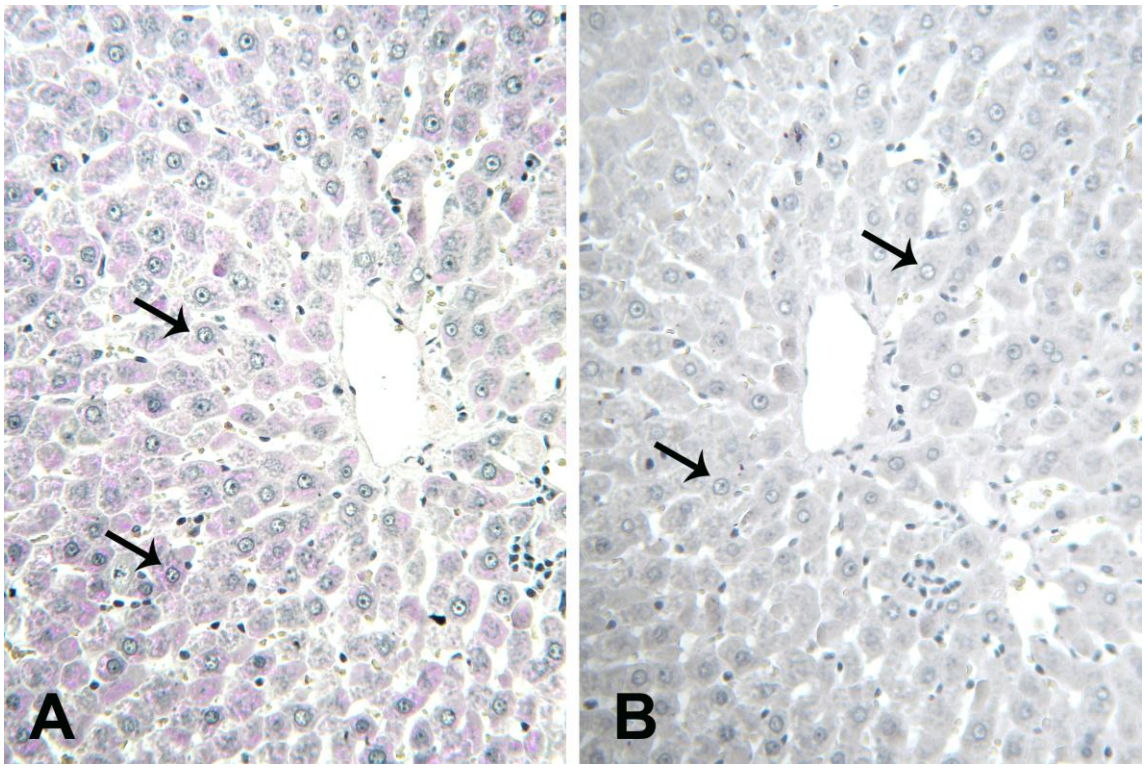
Şekil 3.13. Şekerli su verilen kontrol grubu, A: hepatositlerde kuvvetli PAS pozitif reaksiyon. Oklar: hepatositlerde kuvvetli PAS pozitif reaksiyon PAS X300. **B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon**. Oklar: hepatositlerde PAS negatif reaksiyon diastaz/PAS X300.



Şekil 3.14. Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, A: hepatositlerde PAS pozitif reaksiyon. Oklar: hepatositlerde PAS pozitif reaksiyon. PAS. X 300. **B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon** Oklar: hepatositlerde PAS negatif reaksiyon diastaz/PAS**.** X300.

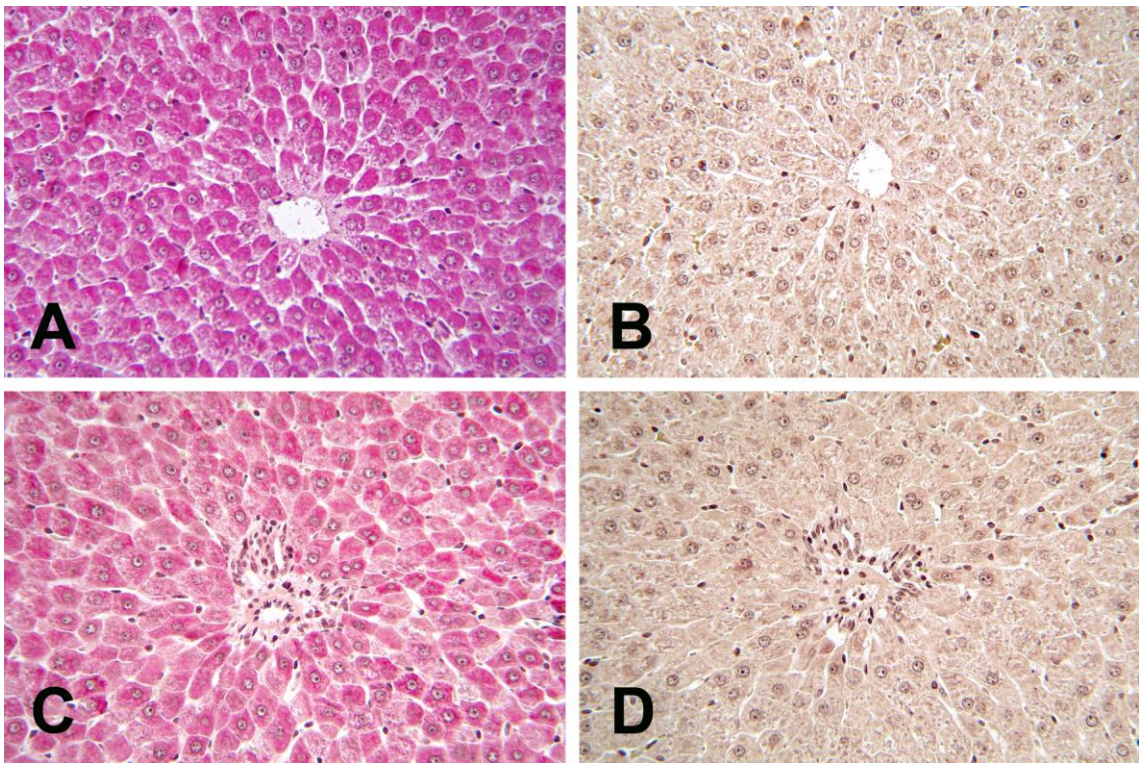


Şekil 3.15. Alkol verilen deneme grubu, A: **hepatositlerde zayıf PAS pozitif reaksiyon**. Oklar: hepatositlerde zayıf PAS pozitif reaksiyon, PAS. X300. **B: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon.** Oklar: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon, diastaz/PAS. X300.



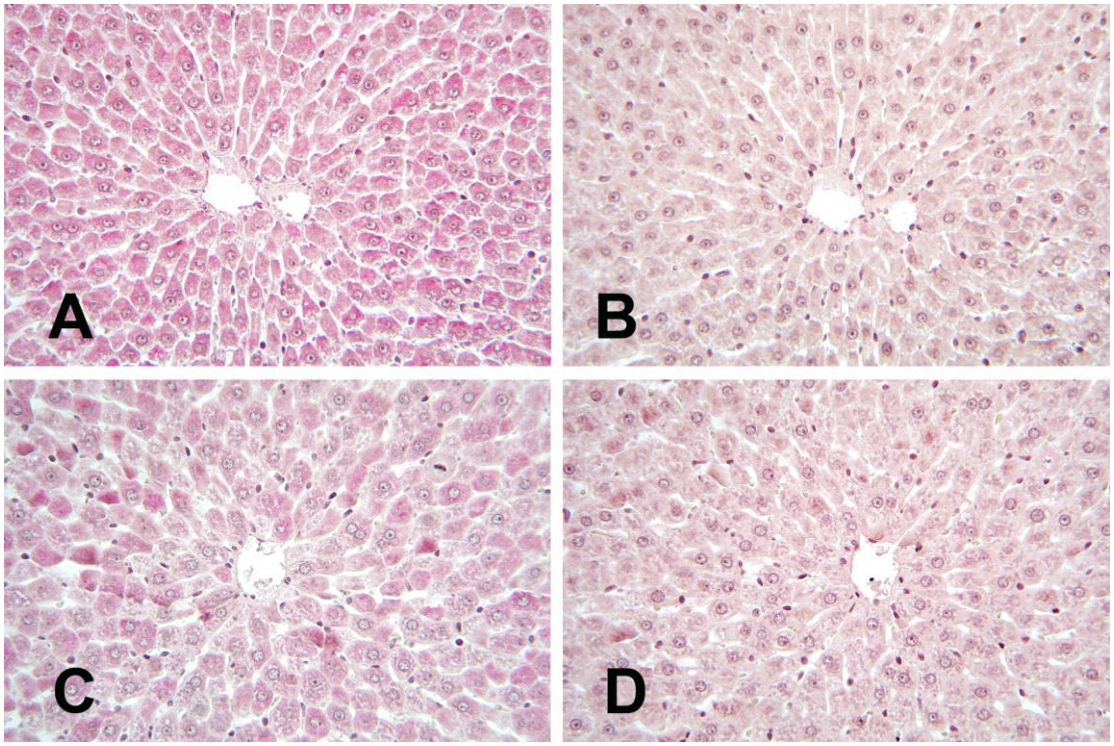
Şekil 3.16. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, A: hepatositlerde çok zayıf PAS pozitif reaksiyon. Oklar: hepatositlerde çok zayıf PAS pozitif reaksiyon, PAS. X300. B: **diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon.** Oklar: diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde PAS negatif reaksiyon, diastaz/PAS. X300

Karaciğerde glikojen demonstrasyonu için kullanılan Best Karmin metodu da PAS boyamasıyla aynı sonuçları verdi. Reaksiyonun şiddeti kontrol gruplarından deneme gruplarına doğru gidildikçe azalıyordu (K1>K2>D1>D2) (Şekil 3.17, 3.18)

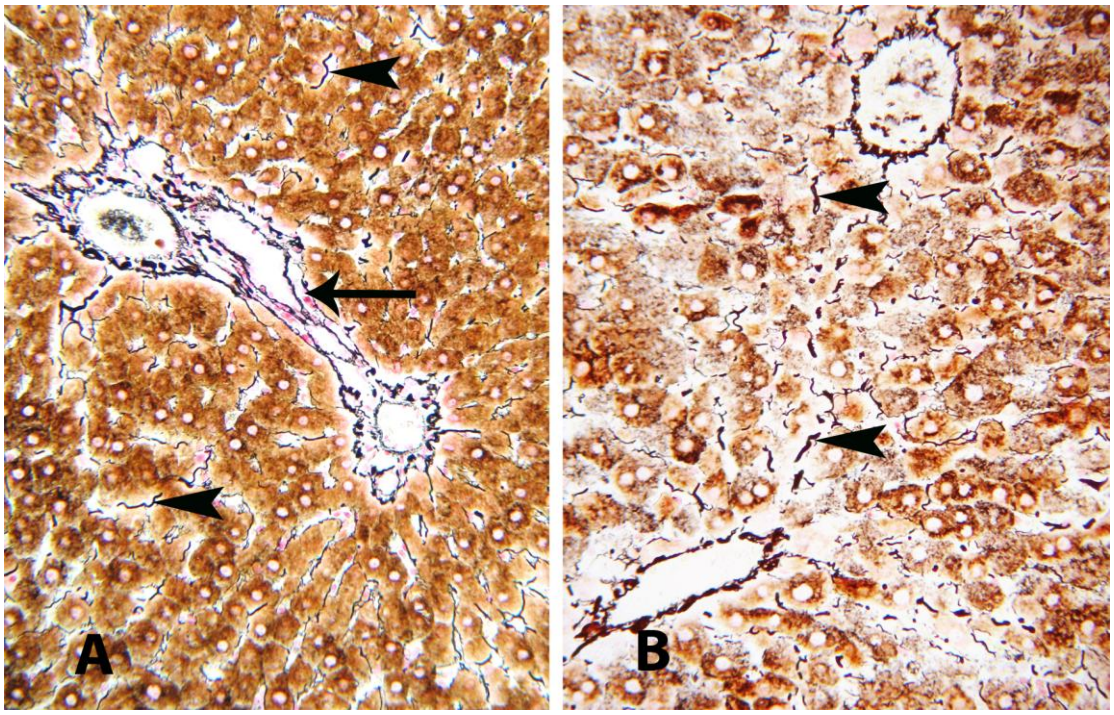


Şekil 3.17. A, B: Şekerli su verilen kontrol grubu, A : Hepatositlerde Best karmin kuvvetli pozitif reaksiyon, Best karmin. X200. B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X200.
C, D: Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, C: Hepatositlerde Best karmin pozitif reaksiyon, Best karmin. X200. D: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X200.

Karaciğere yapısal destek veren ve organın elastikiyetini sağlayan retikulum ipliklerinin karaciğer dokusundaki yerleşimini ortaya koymak amacıyla Gordon ve Sweets retikulin metodu uygulandı. Işık mikroskobunda bu yöntemle retiküler lifler siyah renkte izlendi. Kontrol gruplarında retikulum ipliklerinin yoğun olarak portal aralıkta, V. centralis duvarında ve karaciğer parankim hücreleri ile sinüzoidlerin çevresinde bulundukları ve V. centralis çevresinde birbirleriyle anastomozlaşan bir ağ yapısı oluşturdukları saptandı (Şekil 3.19). Deneme gruplarında da kontrol grubu ile benzer bulgular gözlendi, Gordon and Sweets retikulin metodu ile belirgin retikulum iplikleri artışı izlenmedi.



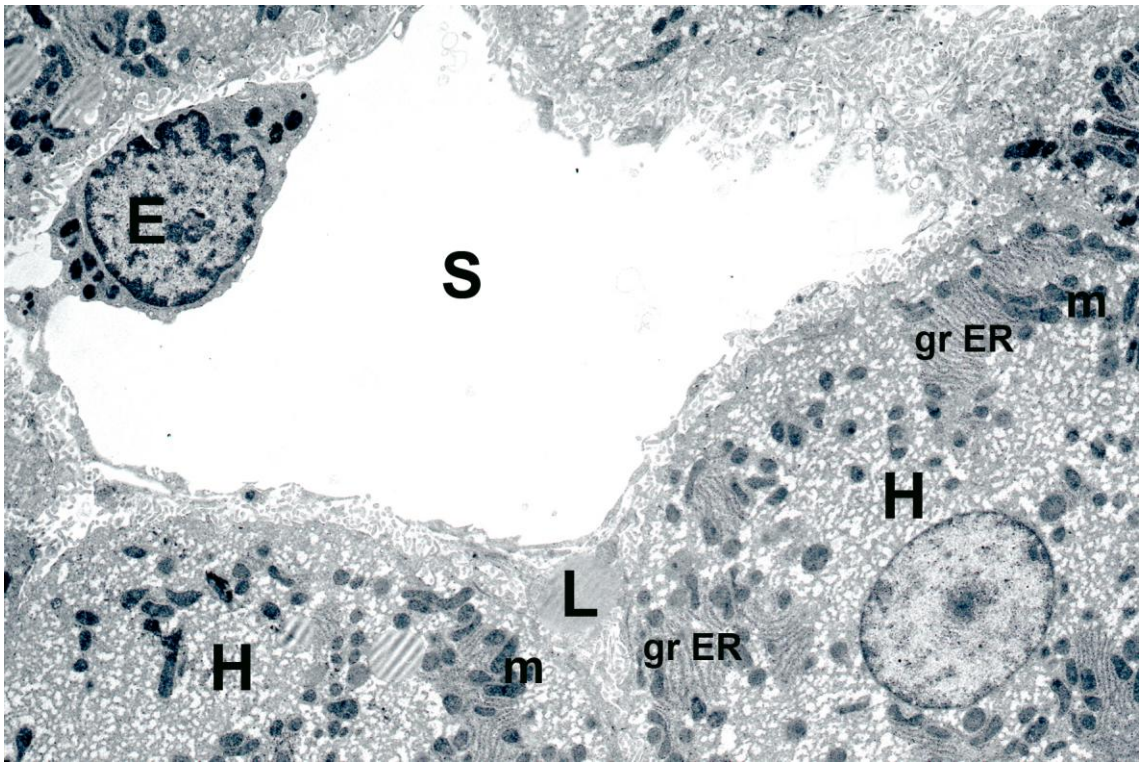
Şekil 3.18. A, B: Alkol verilen deneme grubu, A: Hepatositlerde Best karmin zayıf pozitif reaksiyon, Best karmin. X 200. B: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X 200.
C, D: Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, C: Hepatositlerde Best karmin çok zayıf pozitif reaksiyon, Best karmin. X 200. D: Diastaz sindiriminden sonra hepatositlerde Best karmin negatif reaksiyon, diastaz/Best karmin. X 200.



Şekil 3.19. A:Şekerli su verilen kontrol grubu, B: Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu. Ok: Portal bölge, Ok başları: hepatositler ve sinuzoidler çevresindeki retiküler lifler. Gordon ve Sweets retikülin tekniği. X300.

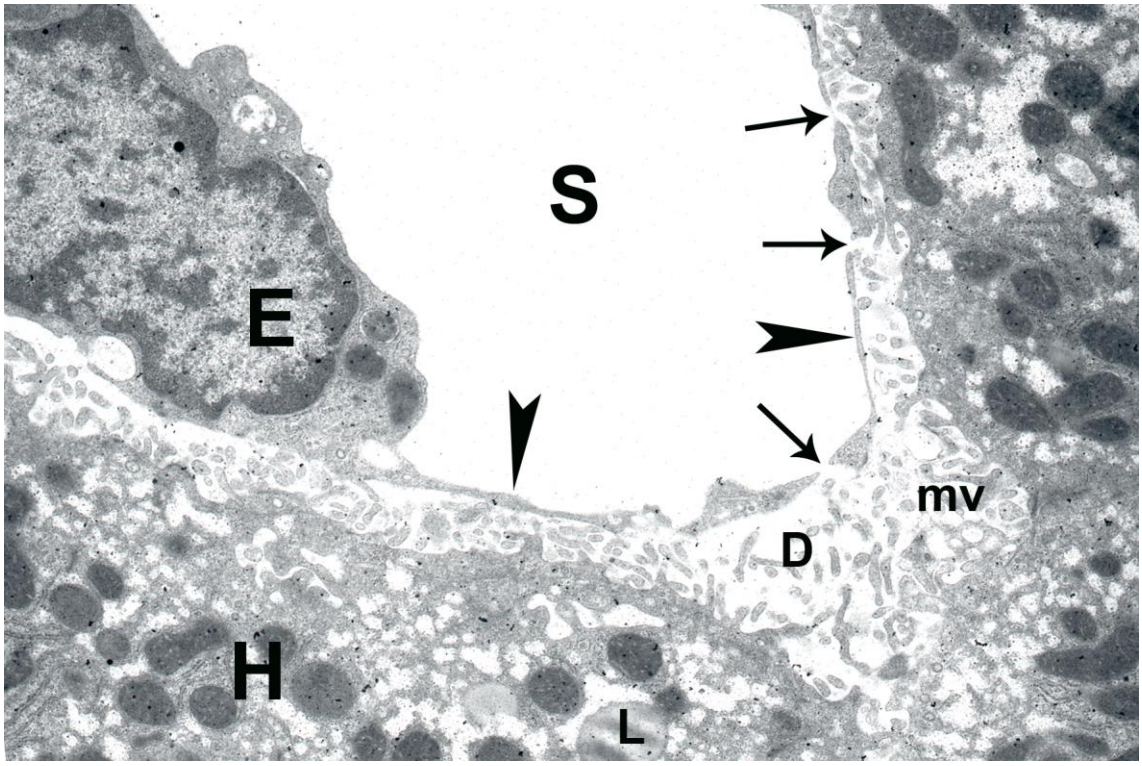
3.2. Elektron Mikroskobik Bulgular

Kontrol gruplarının elektron mikroskopisinde, hepatositlerin organellerden zengin olduğu görüldü. Çok sayıda mitokondriyonlara, ribozomlara ve bol endoplazmik retikuluma rastlandı. Lipid damlacıkları ise çok az sayıdaydı. (Şekil 3.20). Sinuzoidler genellikle boş olup endotel hücreleri ve bunların ince sitoplazmik uzantılarıyla çevriliydi. Bu uzantılar, hepatositlerin mikrovillusları ile temas halindeydi ve oldukça dar olan perisinuzoidal aralığı (Disse aralığı) oluşturuyordu. Endotel hücrelerin ince sitoplazmik uzantıları yer yer küçük çaplı fenestralarla kesintiye uğramıştı (Şekil 3.21).

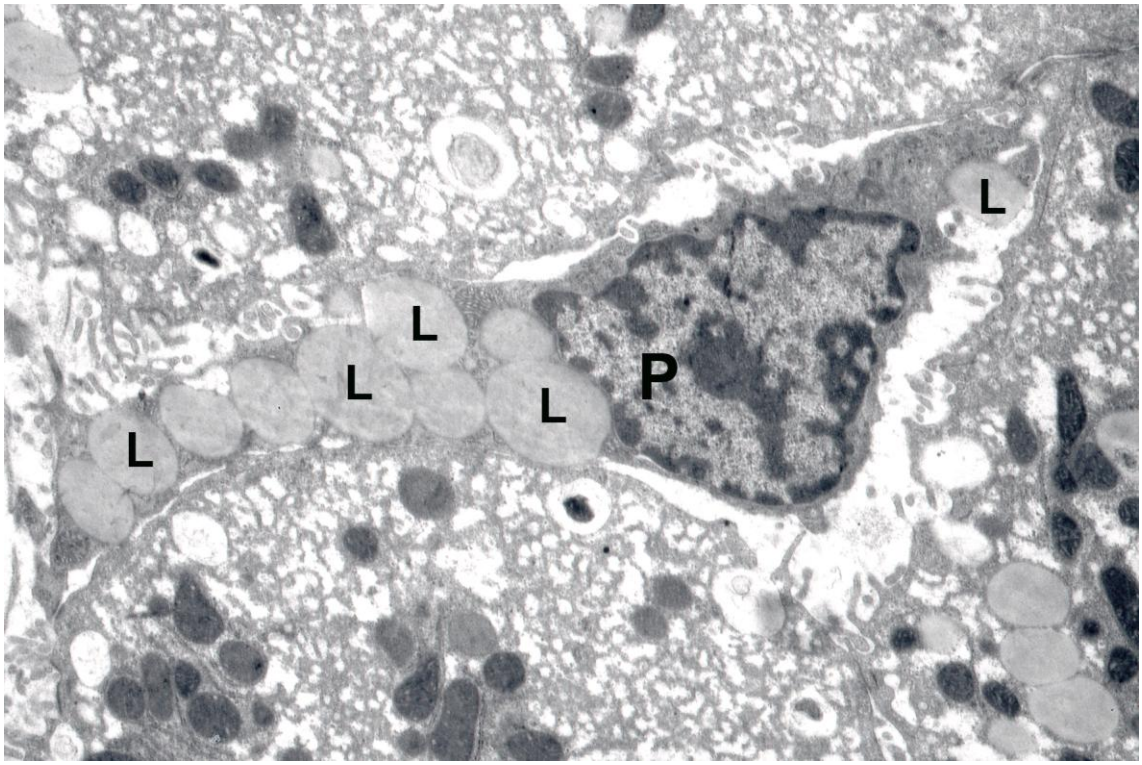


Şekil 3.20. Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerin genel görünümü, sinuzoid. H: hepatositler, S: sinuzoid, E: endotel hücresi, m: mitokondriyonlar, grER: granüllü endoplazmik retikulum, L: lipid damlacığı. X4965.

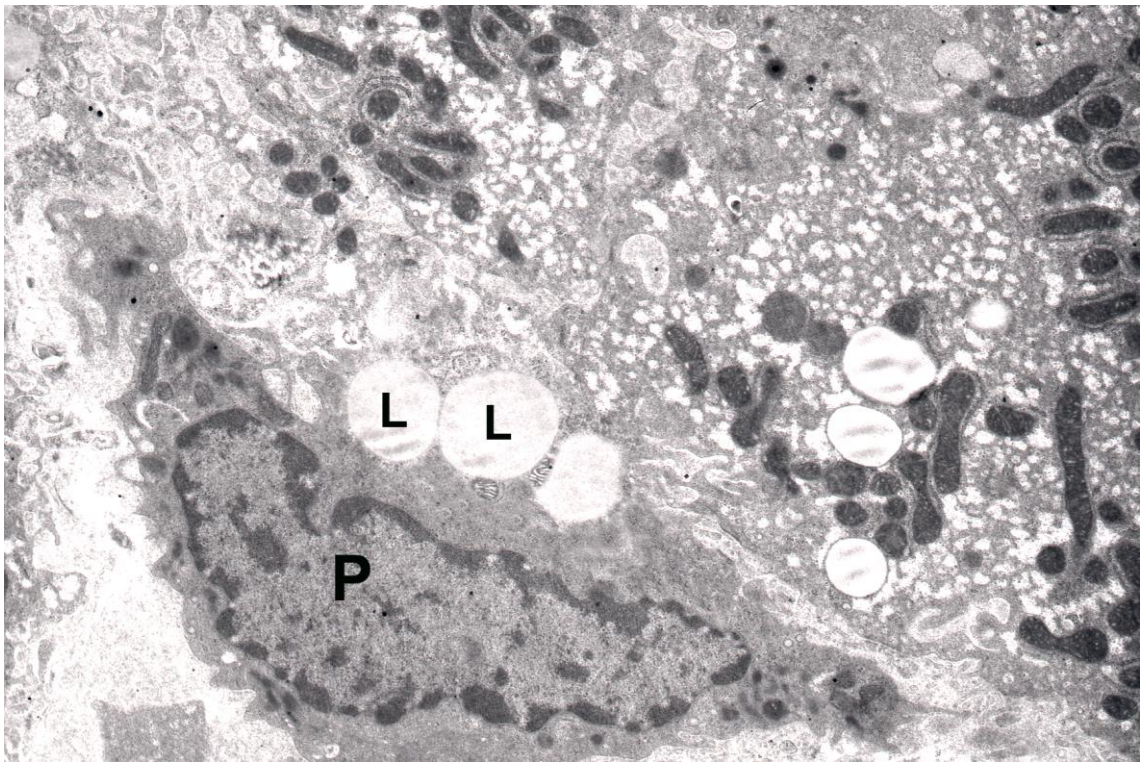
Şekerli su verilen kontrol grubunda (K1), sitoplazmasında az sayıda lipid damlacığı içeren perisinuzoidal hücrelere rastlanırken, şekerli su ile birlikte vitamin A verilen kontrol grubunda (K2) hem bu hücrelerin hem de sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının miktarında dikkati çeken artışlar gözlendi (Şekil 3.22) Deneme gruplarında ise söz konusu hücreler ile içerdikleri lipid damlacıkları miktarı, K2 kontrol grubuna göre belirgin olarak azalmıştı (Şekil 3.23).



Şekil 3.21. Şekerli su verilen kontrol grubu, endotel hücresi ve fenestalar. E: endotel hücresi, Ok başları: endotel hücresinin ince sitoplazmilk uzantıları, Oklar: fenestralar, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, H: hepatosit, mv: hepatosite ait mikrovilluslar, L: lipid damlacığı. X11150.



Şekil 3.22. Şekerli su ve vitamin A verilen kontrol grubu, perisinuzoidal hücre ve perisinuzoidal hücredeki çok sayıdaki lipid damlacıkları. P: perisinuzoidal hücre, L: perisinuzoidal hücrede çok sayıdaki lipid damlacıkları. X12285.

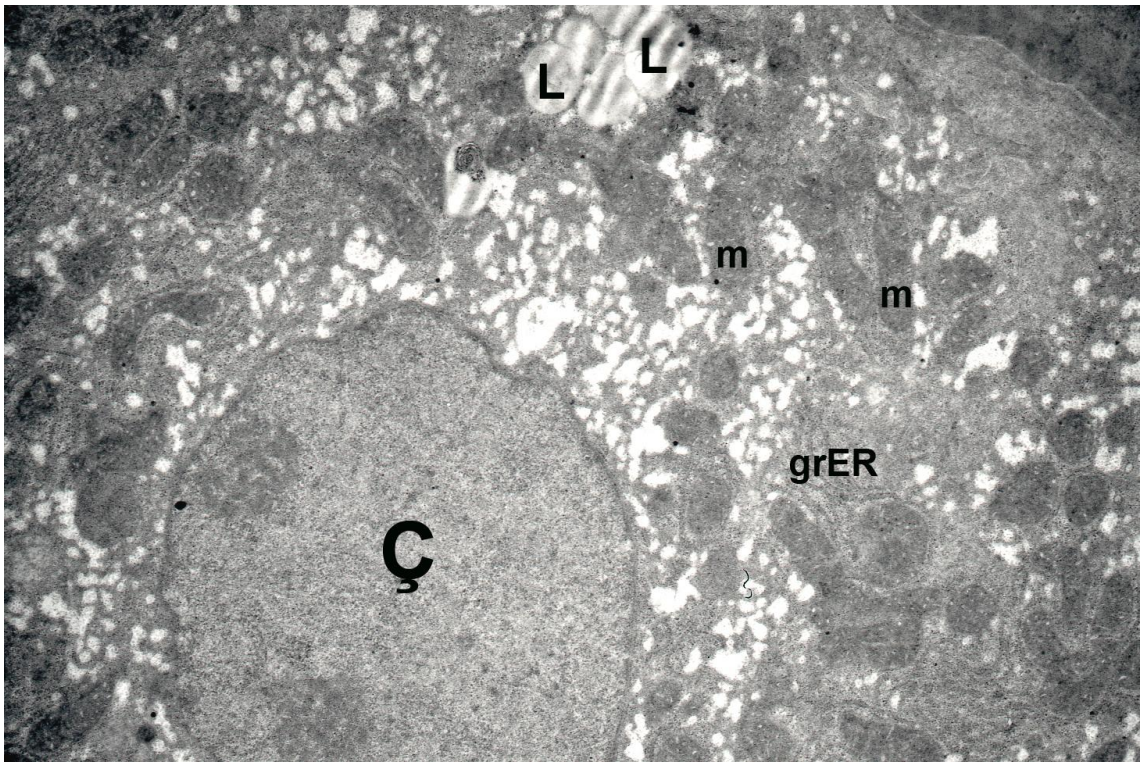


Şekil 3.23. Alkol verilen deneme grubu, perisinuzoidal hücre ve perisinuzoidal hücredeki az sayıdaki lipid damlacıkları. P: perisinuzoidal hücre, L: perisinuzoidal hücrede az sayıdaki lipid damlacıkları. X8530.

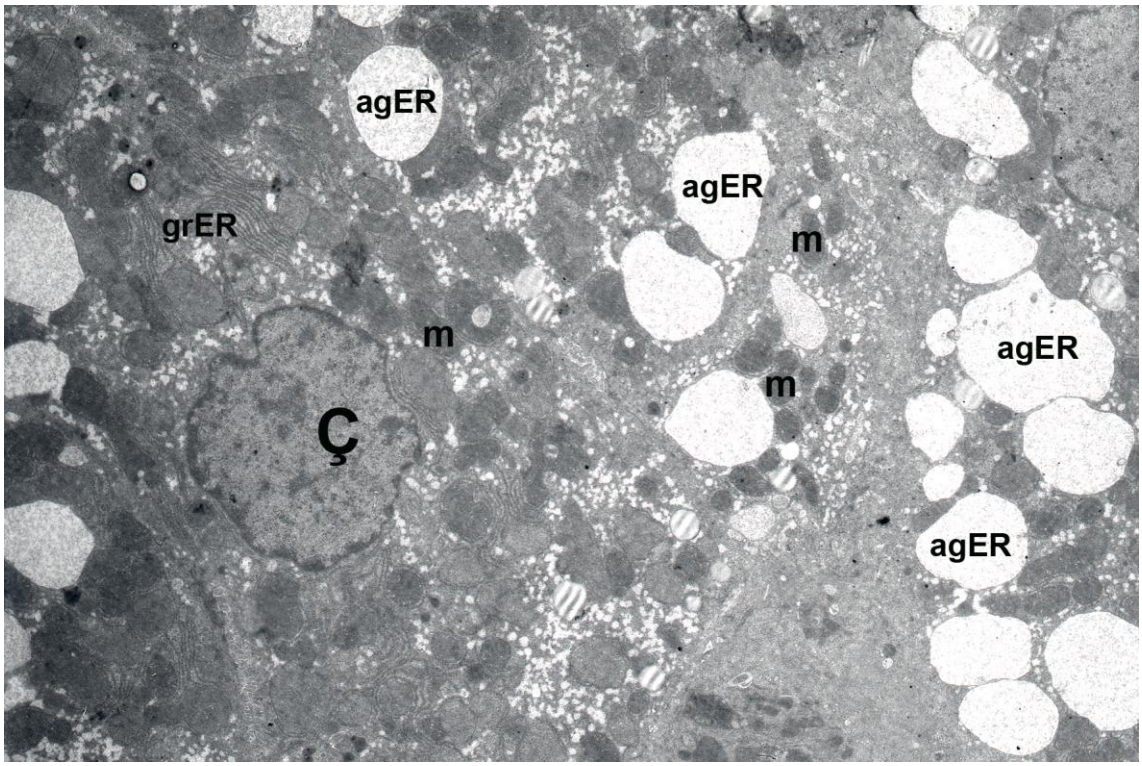
Deneme gruplarında buğulu görünen hepatositlere (Şekil 3.24, 3.25) sıklıkla rastlandı. Hepatositler, kontrol gruplarından farklı olarak kenarları düzensiz şekilli çekirdeklere ve bulanık görünen mitokondriyonlara sahipti.

Bütün deneme gruplarına ait ince kesitlerde hepatositlerin sitoplazmalarında bol miktarda küçük çaplı lipid damlacıkları görüldü (Şekil 3.26).

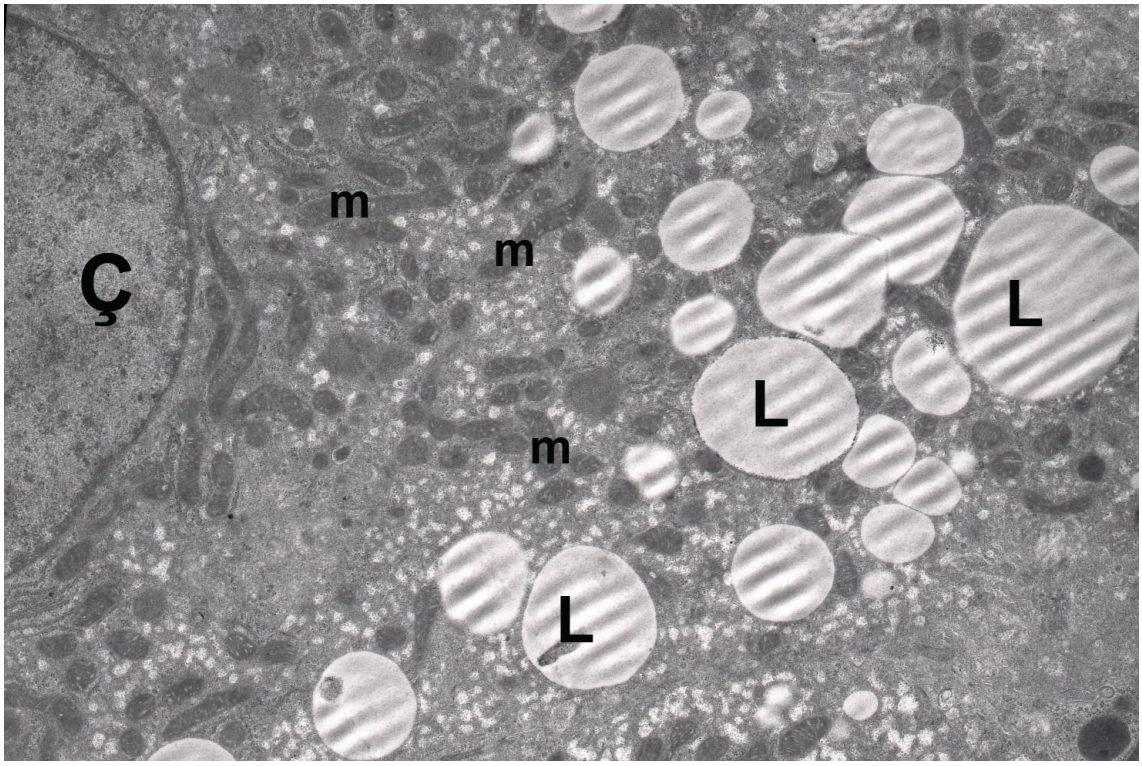
Kontrol gruplarında hepatositler granüllü endoplazmik retikulumdan (grER) zenginken, (Şekil 3.27, 3.29) deneme gruplarında azalmıştı ve agranüler endoplazmik retikulumda (agER) genişlemeler belirginleşti (Şekil 3.25, 3.28, 3.30). Aynı büyültmelerdeki kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında (Şekil 3.27) deneme gruplarında mega mitokondriyon oluşumu dikkati çekti (Şekil 3.28, 3.29, 3.30).



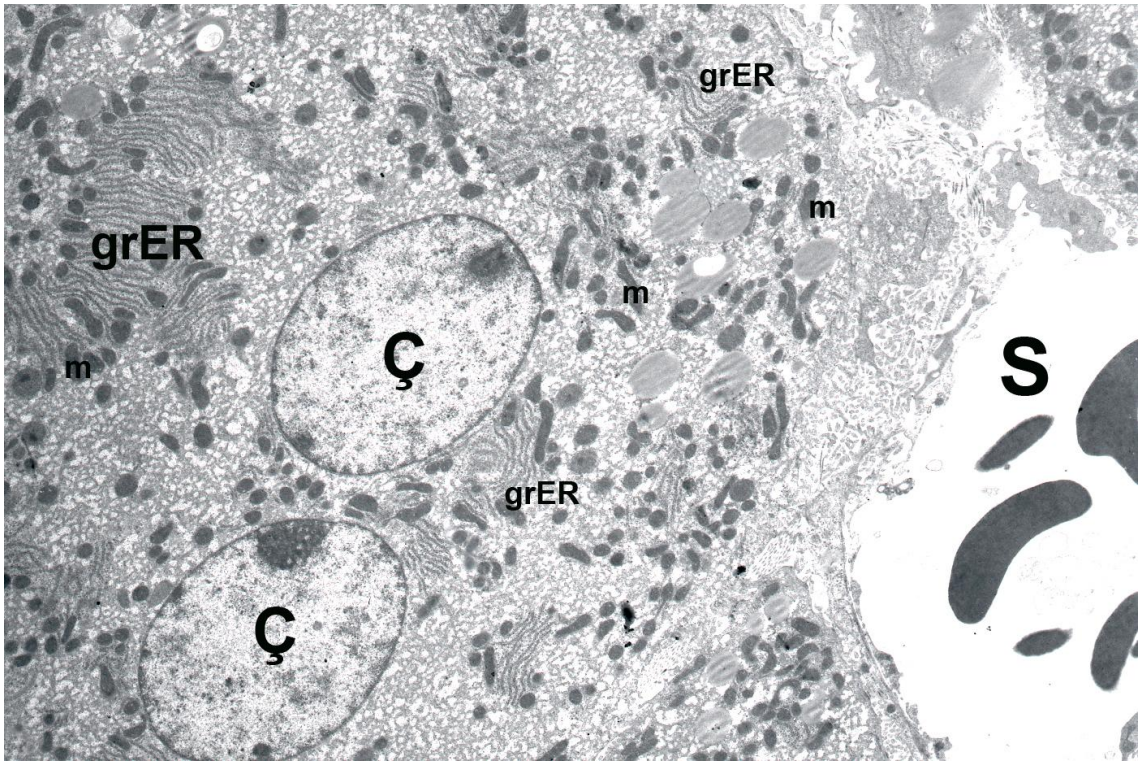
Şekil 3.24. Alkol verilen deneme grubu, buğulu görünen hepatosit. m: mitokondriyonlar, Ç:düzensiz şekilli hepatosit çekirdeği, L: lipid damlacıkları X10800.



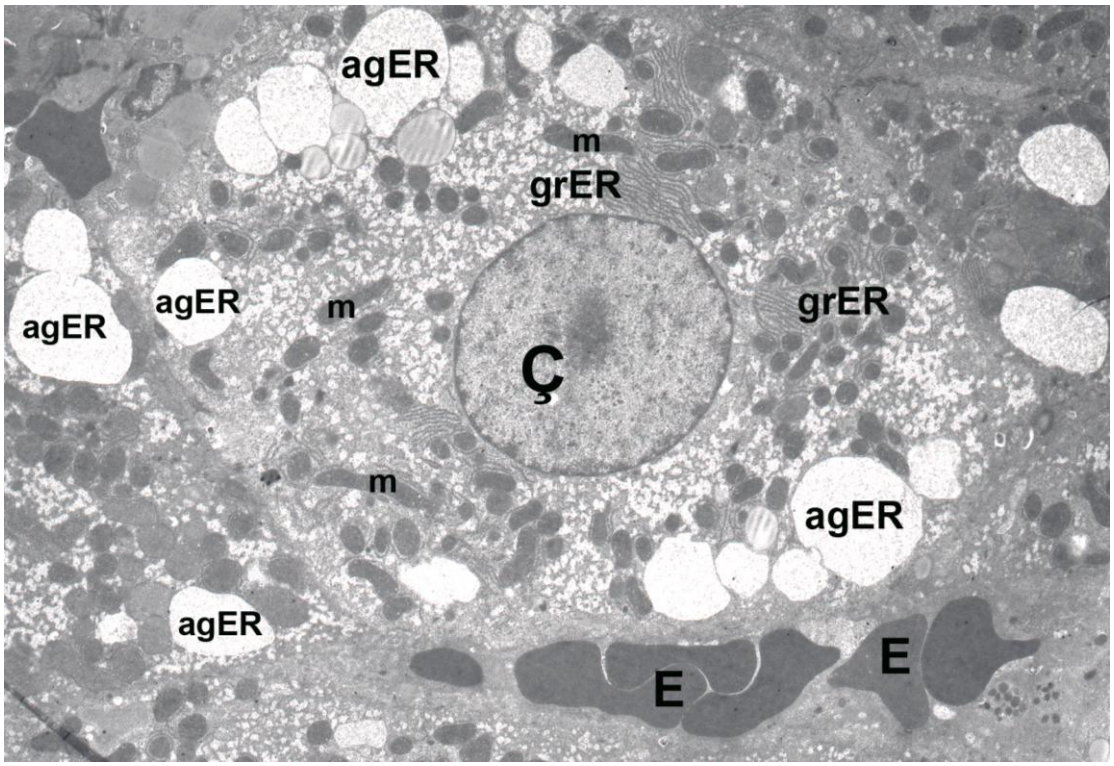
Şekil 3.25. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, buğulu görünen hepatosit. m: mitokondriyonlar, Ç: düzensiz şekilli hepatosit çekirdeği, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum. X4500.



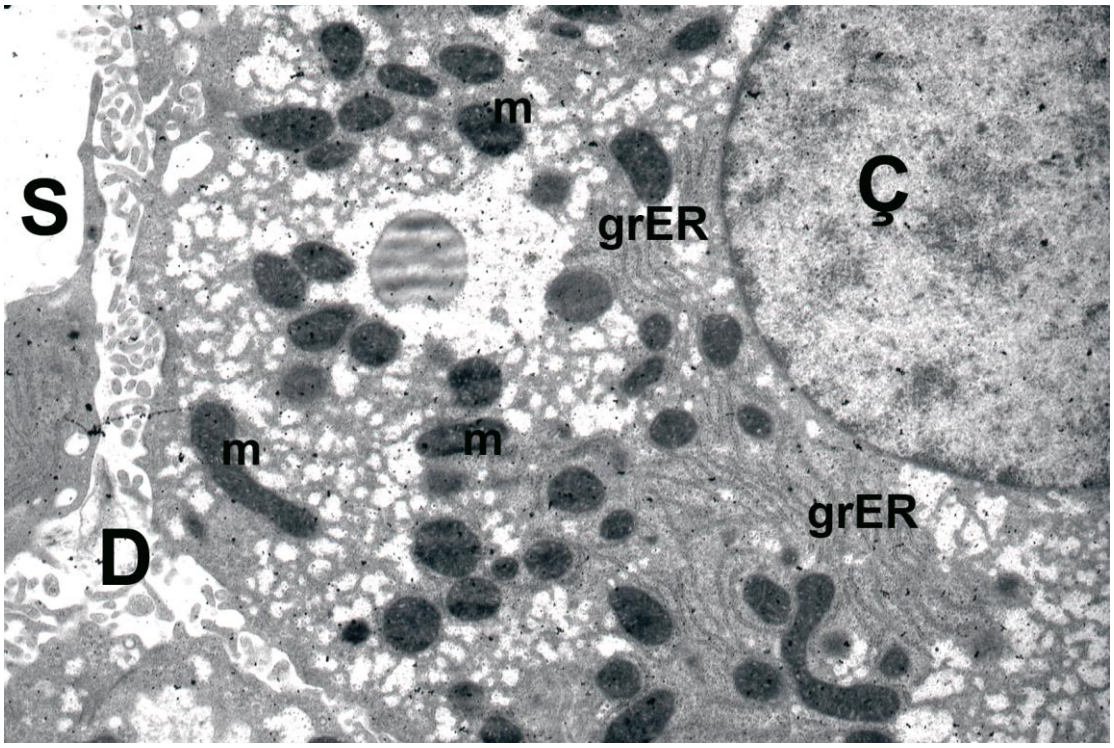
Şekil 3.26. Alkol verilen deneme grubu, hepatositte bol miktardaki lipid damlacıkları. L: hepatositte bol miktardaki lipid damlacıkları, Ç: hepatosit çekirdeği, m: mitokondriyonlar. X10400.



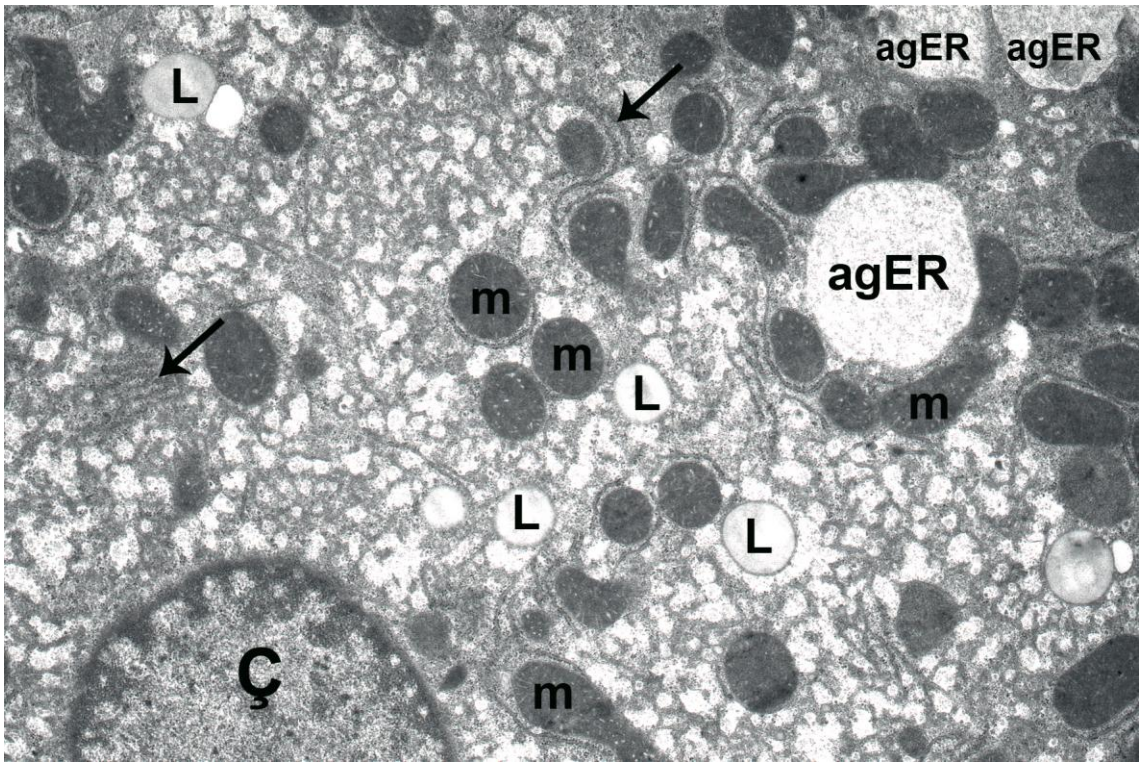
Şekil 3.27. Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositlerin genel görünümü. grER: granüllü endoplazmik retikulum, M: mitokondriyon, Ç: hepatosit çekirdeği, S: sinuzoid. X4500.



Şekil 3.28. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, **hepatositin genel görünümü.** grER: granüllü endoplazmik retikulum, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, Ç: hepatosit çekirdeği, E: sinuzoidlerde çok sayıdaki eritrositler. X4500.



Şekil 3.29. Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatosite ait organeller. grER: granüllü endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, Ç: hepatosit çekirdeği, S: sinuzoid, D: Disse aralığı. X10500.

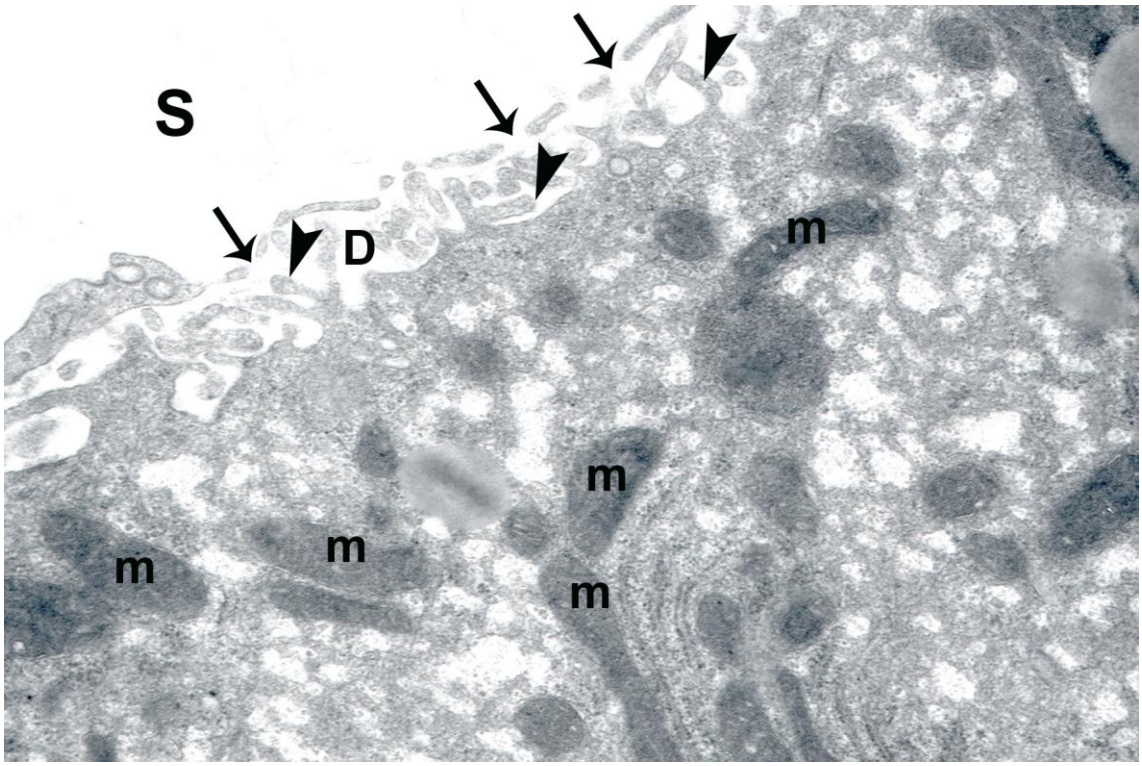


Şekil 3.30. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatosite ait organeller. Oklar: granüllü endoplazmik retikulum, agER: genişlemiş agranüler endoplazmik retikulum, m: mega mitokondriyonlar, L: lipid damlacıkları, Ç: hepatosit çekirdeği. X10500.

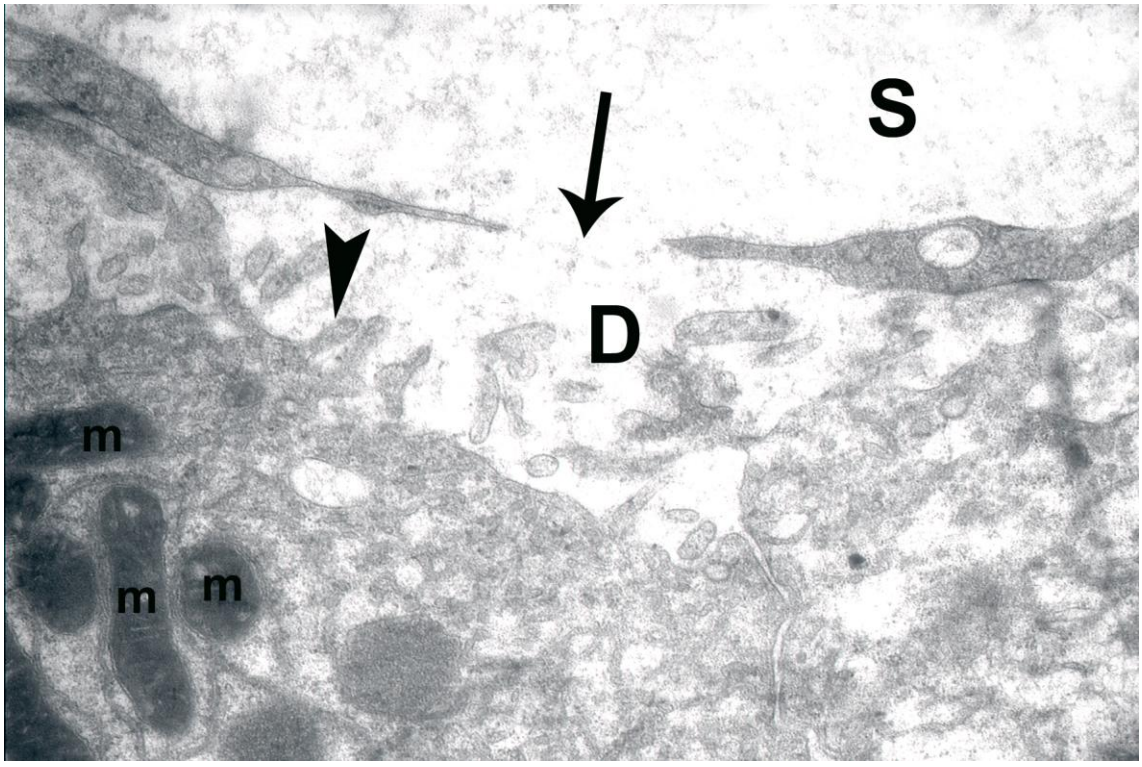
Deneme gruplarında endotel hücre fenestraları (Şekil 3.32, 3.33), kontrol gruplarıyla (Şekil 3.31) karşılaştırıldıklarında genişlemişti. Alkol verilen deneme grubunda hepatosit mikrovillusları kontrol gruplarına göre azalırken (Şekil 3.32), alkol ve vitamin A verilen deneme grubunda (Şekil 3.33) bu azalma oldukça telafi edilmişti.

Kontrol gruplarında sinüzoidlerin içi boş ya da az sayıda eritrosit içeriyordu (Şekil 3.20, 3.21, 3.27). Deneme gruplarında ise eritrositlerle doluydu (Şekil 3.28, 3.34). Ayrıca deneme gruplarında alkole bağlı olarak Disse aralığında genişleme ile beraber (Şekil 3.35, 3.37, 3.38) bol miktarda kollogen ipliklere rastlandı (Şekil 3.35, 3.36, 3.37, 3.38). Hepatositlerin hemen yanında, sitoplazmasında bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum bulunan fibroblastlar ve sinuzoidler içinde kollagen iplikler görüldü (Şekil 3.36).

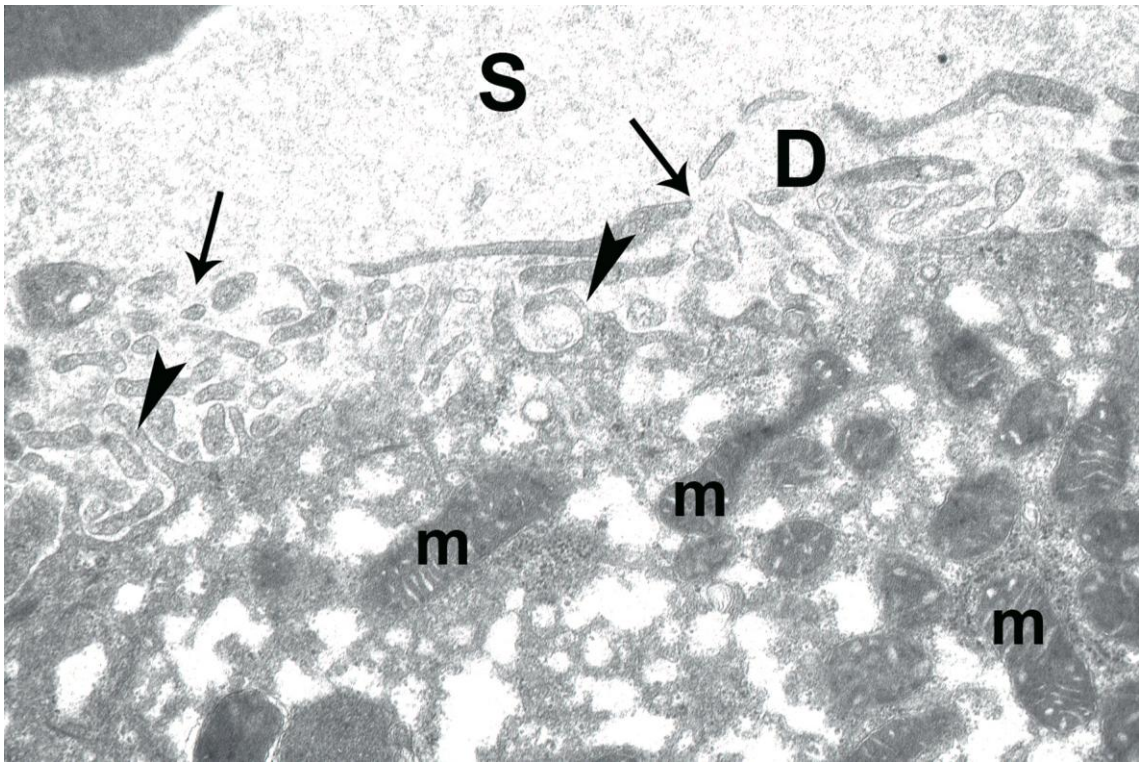
Alkol ve vitamin A'nın birlikte verdiği deneme grubundaki kollagen iplik artışı, sadece alkol verilen deneme grubundakinden daha fazlaydı.



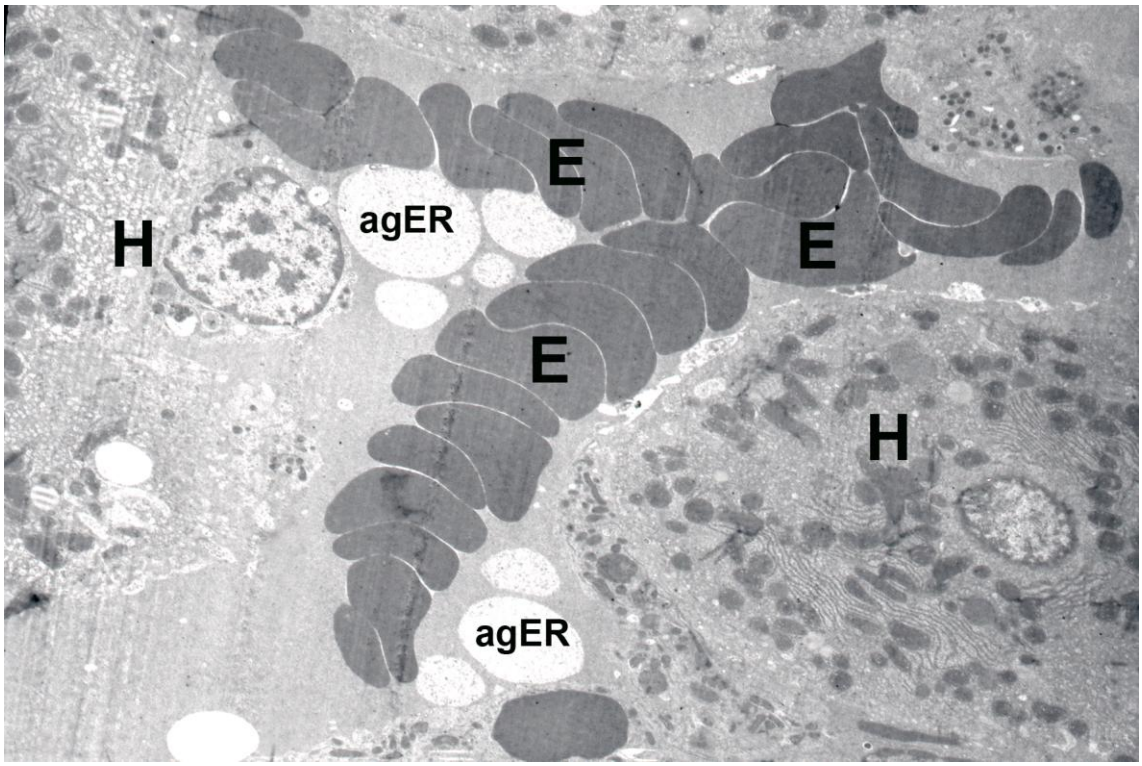
Şekil 3.31. Şekerli su verilen kontrol grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü. Oklar: fenestralar, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başları: mikrovilluslar, m: mitokondriyonlar. X 22800.



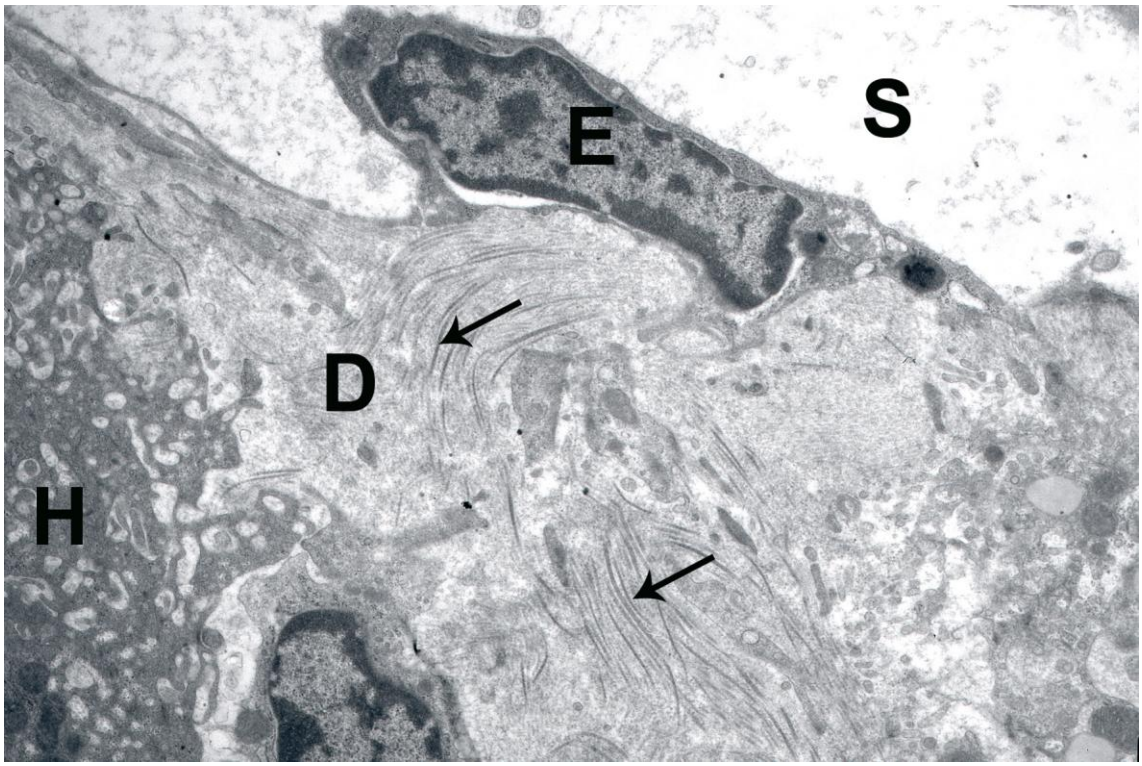
Şekil 3.32. Alkol verilen deneme grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü. Ok: fenestrada genişleme, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başı: mikrovilluslarda azalma, m: mitokondriyonlar. X 22800.



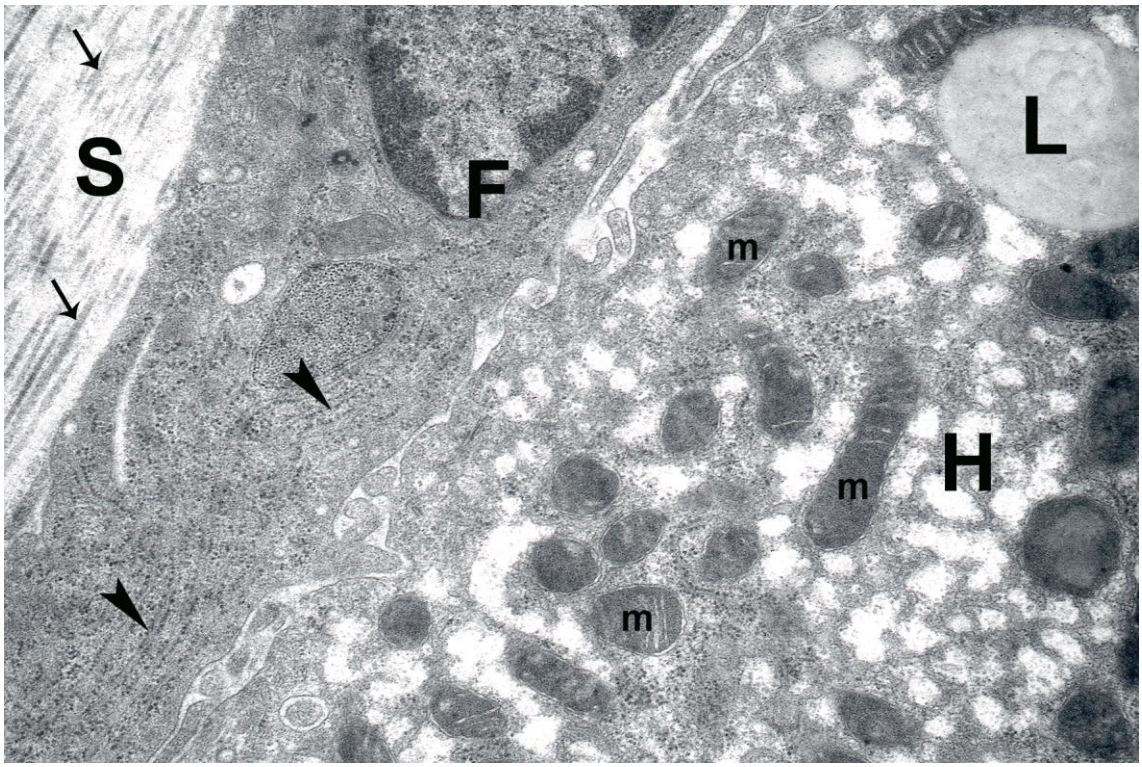
Şekil 3.33. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, hepatositin sinuzoide bakan yüzü. Ok: fenestrada genişleme, S: sinuzoid, D: Disse aralığı, Ok başları: mikrovilluslar, M: mitokondriyonlar, X 22800.



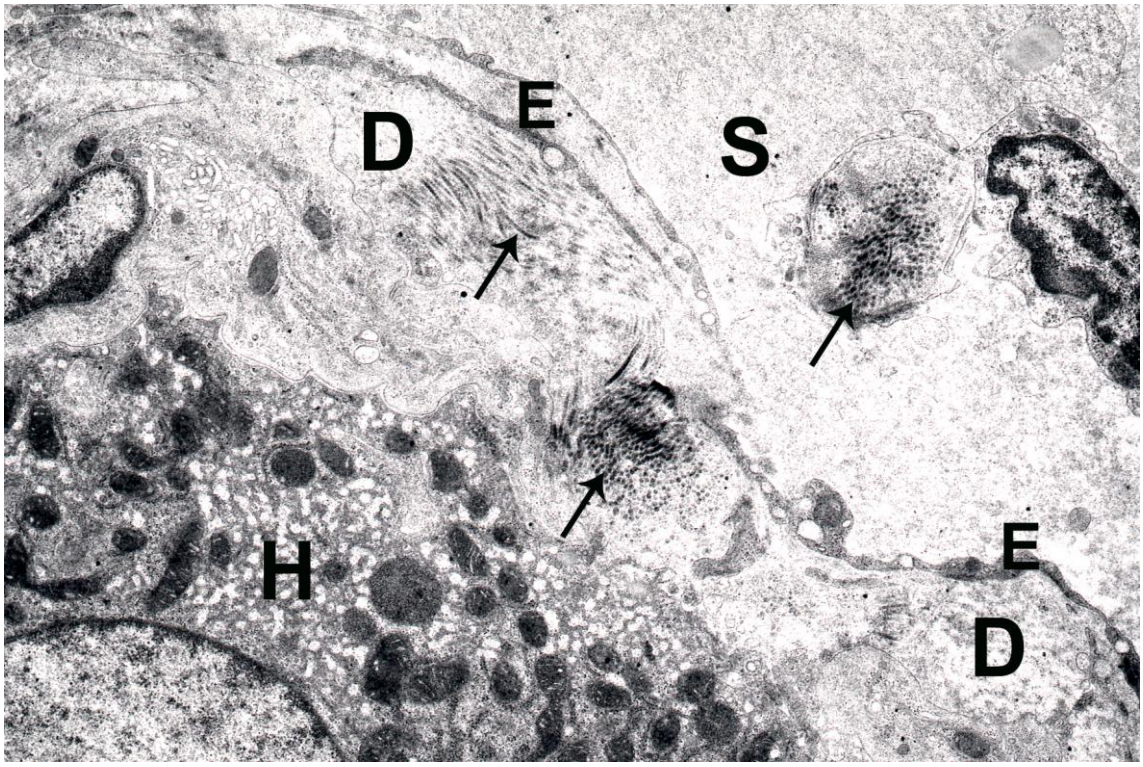
Şekil 3.34. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, sinuzoidlerde bol miktarda bulunan eritrositler. E**:** sinuzoidlerde bol miktarda bulunan eritrositler, H:hepatositler, agER: agranüler endoplazmik retikulum. X4320.



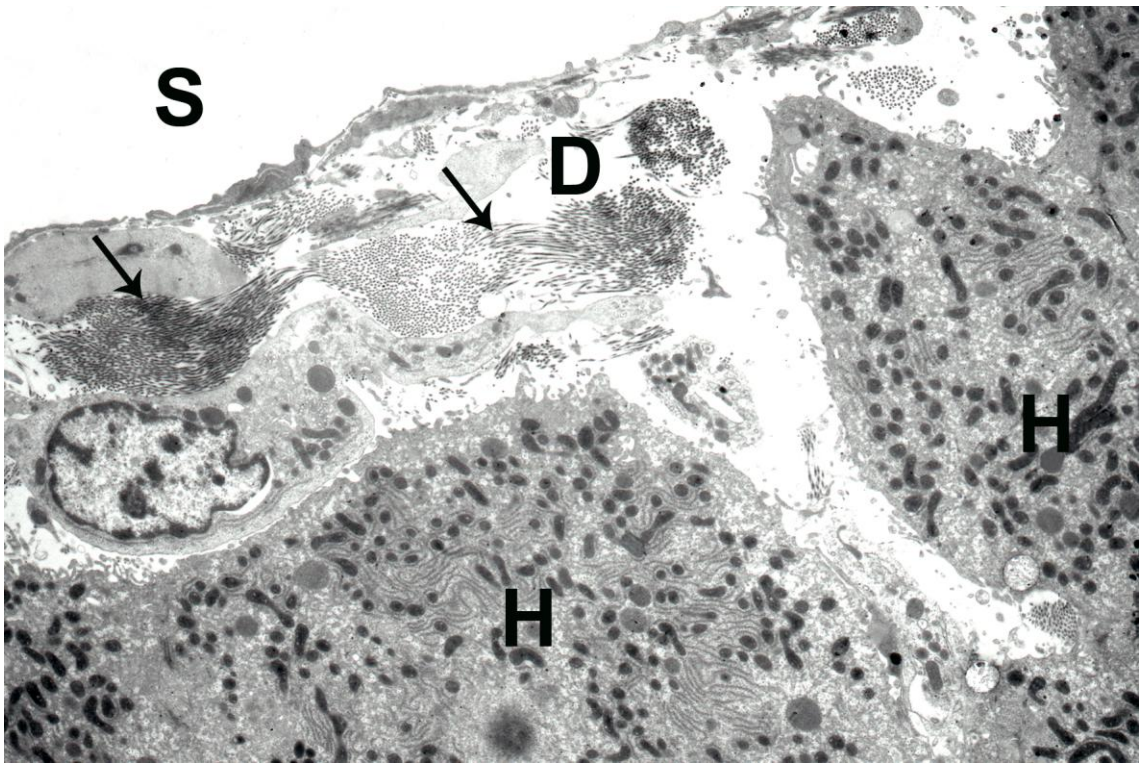
Şekil 3.35. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, karaciğer parankimi. Oklar: kollagen ipliklerde artış, D: genişlemiş Disse aralığı, E: endotel hücresi, S: sinuzoid, H: hepatosit. X10390.



Şekil 3.36. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubu, Disse aralığında fibroblast ve sinuzoidde kollajen iplikler. H:hepatosit, S: sinuzoid, m: mitokondriyonlar, L: lipid damlacığı, F: fibroblast, Ok başları: fibroblast sitoplazmasında bol miktarda görülen granüllü endoplazmik retikulum, Oklar: kollagen iplikler. X22925.



Şekil 3.37. Alkol verilen deneme grubu, karaciğer parankimi. S: sinuzoid, E: endotel hücrelerinin sitoplazmik uzantıları, D: genişlemiş Disse aralığı, Oklar: kollagen iplikler, H: hepatosit. X12750.



Şekil 3.38. Alkol verilen deneme grubu, karaciğer parankimi. S: sinuzoid, D: genişlemiş Disse aralığı, Oklar: kollagen iplikler, H: hepatositler. X4750.

3.3. İstatistiksel Bulgular

Kontrol ve deneme gruplarında bakılan biyokimyasal paremetrelerin değerlerine ait istatistiksel hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için varyans analiz metodu, gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için de Duncan testi uygulandı. Bu amaçla SPSS (Statistical Package for the Social Sciences 16.0) paket programından yararlanıldı. Gruplardan elde edilen değerler kendi arasında karşılaştırıldığında p< 0,05'e göre istatistiksel olarak anlamlı oldukları görüldü.

Çizelge 3.1. Kontrol ve deneme grupları kan serumlarına ait biyokimyasal paremetrelerin istatiksel değerlendirilmesi.

Gruplar	**Kontrol 1 (K1) N=5**	**Kontrol 2 (K2) N=5**	**Deneme (D1) N=5**	**Deneme (D2) N=5**	**F**
Testler	**X ± Sx**	**X ± Sx**	**X ± Sx**	**X ± Sx**	
Glukoz mg/dl	**303,2^{a}±18,29**	**274,2^{a}±17,90**	**162,00^{b}±5,83**	**126,60^{b}±4,64**	**115,96**
AST U/l	**202,40^{de}±33,93**	**157,80^{e}±10,26**	**253,60^{d}±13,20**	**328,2^{c}±18,6**	**25,18**
ALT U/l	**123,2^{f}±9,18**	**94,00^{g}±4,84**	**60,00^{h}±2,73**	**47,6^{h}±3,90**	**101,16**
GGT U/l	**2,2^{k}± 0,37**	**2,8^{k}±037**	**5,4^{j}±0,74**	**3,8^{jk}±0,86**	**6,93**
Total Kolesterol mg/dl	**44,8^{n}±3,41**	**56,8^{n}±2,72**	**78,4^{m}±8,84**	**79,4^{m}±8,94**	**17,38**
Trigliserit mg/dl	**34,6^{s}±0,74**	**93,2^{r}±7,86**	**171^{p}±14,8**	**198^{p}±10,8**	**162,21**
Total Protein g/dl	**6,88^{t}±0,33**	**6,38^{t}±0,18**	**2,98^{v}±0,58**	**4,8^{u}±0,58**	**22,41**
Albümin g/dl	**3,50^{x}±0,04**	**3,52^{x}±0,58**	**1,41^{z}±0,34**	**2,92^{y}±0,11**	**21,73**

*p<0,05

Çizelge 3.1'den elde edilen sonuçlara göre kontrol grupları ve deneme gruplarının glukoz değerleri karşılaştırıldığında; deneme gruplarında glukoz değerlerinin daha düşük olduğu görüldü. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark ortaya çıktı.

AST değerlerine baktığımızda, hem kontrol ve deneme grupları arasında hem de D1 ve D2 deneme gruplarının kendi arasında $p<0,05$'e göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlendi. ALT değerlerini karşılaştırdığımızda ise, deneme gruplarında azalma olduğu görüldü. Yine deneme grupları kendi arasında kıyaslandığında, alkol ve Vitamin A verilen grupta (D2) ALT değerlerindeki azalış daha fazlaydı. Ancak, D1 ve D2 deneme gruplarından elde edilen ALT değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Diğer bir karaciğer fonksiyon testi olan GGT, deneme gruplarında artış gösterdi. Grupların GGT değerleri kıyaslandığında istatistiksel açıdan sadece alkol verilen D1 deneme grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir artış ile karşılaşıldı (Çizelge 3.1).

Grupların total kolesterol seviyeleri karşılaştırıldığında deneme gruplarında, kontrol grubuna göre artış olduğu görüldü. Trigliserit seviyelerinin Vitamin A enjeksiyonu uygulanan K2 grubunda K1'e göre artmıştı. Deneme gruplarının trigliserid değerlerinin de kontrol gruplarına göre artış gösterdiği görüldü. Deneme gruplarında gözlenen artış istatistiksel açıdan anlamlı idi.

Karaciğerin sentez yeteneğini gösteren testlerden olan serum total protein ve albümin değerlerinin deneme gruplarında azaldığı görüldü. Kontrol gruplarında ölçülen değerler arasında bir fark gözlenmezken, deneme gruplarında ölçülen değerler istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış gösterdi. Deneme grupları kendi arasında kıyaslandığında alkol verilen grupta (D1), alkol ve vitamin A verilen gruba (D2) göre azalma daha fazlaydı.

4. TARTIŞMA

Alkol kullanılarak yapılan çalışmalar genellikle gastrik gavaj (Asworth ve ark.1965; Sarphie ve ark.,1995; Perfumi ve ark., 2001; Cester ve ark., 2005; Wang ve ark., 2005) alkolün intraperitoneal enjeksiyonu (Badawy ve ark.1989; Darbra ve ark., 2002) veya içme suyularına katılması (Adachi ve ark., 1991; Keegan ve ark.,1995; Brzoska ve ark., 2003) şeklinde olmaktadır. Sağlıklı ve normal beslenen bir rata 2 g/kg/gün veya daha az dozlarda verilen etanolün sabit ve sınırlı bir hızda okside edildiği fakat belirli bir süre 3 g/kg/gün ve daha yukarı dozda verilen etanolün ise kronik etki oluşturduğu bildirilmektedir (Lieber ve ark. 1989). Sarphie ve ark., (1996)'da belirli bir günlük alkol alım dozunu bir grup rata gastrik gavajla, diğer bir gruba da içme sularıyla vererek yaptıkları araştırmalarında; her iki grupta da benzer bulgular ile karşılaştıklarını ve oluşan yapısal değişiklilkleri araştırmak için ratlara içme suyu ile alkol verilmesinin uygun ve ucuz bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da, ratlara içme suları yoluyla alkol verilerek kronik alkolizm oluşturuldu.

Brzoska ve ark. (2003) bir grup rata %10 etanol ve diğer bir gruba da 50 mg/l kadminyum vererek yapmış oldukları 12 haftalık bir çalışmada; etanol verilen grupta karaciğerin trabeküler yapısı ile 2. ve 3. bölgesindeki hepatositlerde bozulmalar gözlendiğini belirtmişlerdir. Wang ve ark., (2005) ilk 4 hafta %40, 4-12. haftalar arasında %50 alkolü gastrik gavajla vererek yaptıkları çalışmada; 12. hafta sonunda hepatositlerin buğulu bir görünüm aldığını, altıgen yapısını ve hücre membranlarını kaybetmiş hepatositlere rastlandığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada, içme sularına alkol katılan deneme grubunun (D1) üçlü boyama yapılmış karaciğer kesitlerinde hepatositlerde şişme ve bozulmalar tespit edilirken, içme suları ile alkol verilen ve vitamin A enjeksiyonu yapılan deneme grubunda (D2) hepatositlerdeki şişmenin yanı sıra hücre kordonlarında bozulma ve hücre infiltrasyonu ile karşılaşılmıştır.

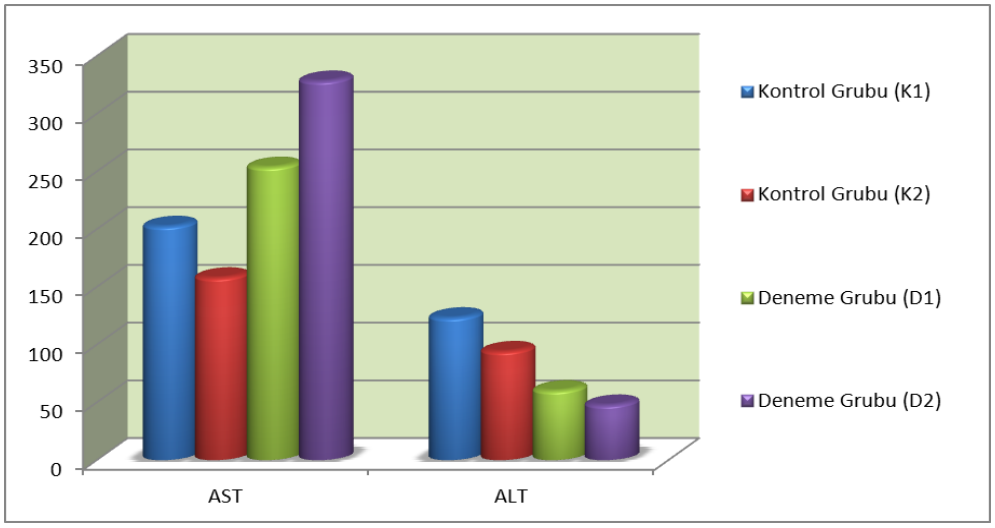
Bu çalışmada kriyostat kesitlerine uygulanan Oil Red O ve Sudan Black (B) boyamalarında deneme gruplarında intrasitoplazmik ve mikroveziküler yağlanmanın gözlenmiş olması, alkolün yol açtığı oksidatif stres nedeniyle oluşan reaktif oksijen türlerinin hepatositlerdeki mitokondriyal proteinlere, lipidlere ve mitokondriyon DNA'sına zarar vermesi sonucu; β oksidasyonu kısıtlanması ve bu duruma bağlı

olarak oluşan zayıf mitokondriyal oksidasyonun, esterleşmemiş yağ asitlerinin hepatositlerin sitoplazmalarında birikerek intrasitoplazmik ve mikroveziküler yağlanmaya sebep olması ile açıklanmıştır (Jaeschke ve ark., 2002). Keegan ve ark., (1995) ile Wang ve ark., (2005) araştırmalarında uzun dönem alkol uygulamaları sonucu steatosis-yağlı değişiklik tablosunun oluştuğundan bahsetmektedir. Lieber, (2000b) hepatik lobulün perisentral bölgesinde oluşan perivenüler hipoksiye bağlı olarak yağlanmanın öncelikle bu bölgede şiddetlendiğini belirtmektedir. Çalışmada Oil Red O ve Sudan Black (B) boyamalarında yağlanmanın D2 grubunda, D1 grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. Deneme gruplarına vitamin A enjeksiyonu hem hepatositlerdeki yağlanmayı şiddetlendirdi hem de perisinuzoidal hücrelerin (Ito hücreleri) sayısını artırdı. Artan perisinuzoidal hücrelerin bir bölümünün fibroblastlara dönüştüğü düşünüldüğünden hepatositlerin yağlanmaktan kurtulamadığı kanısına varıldı.

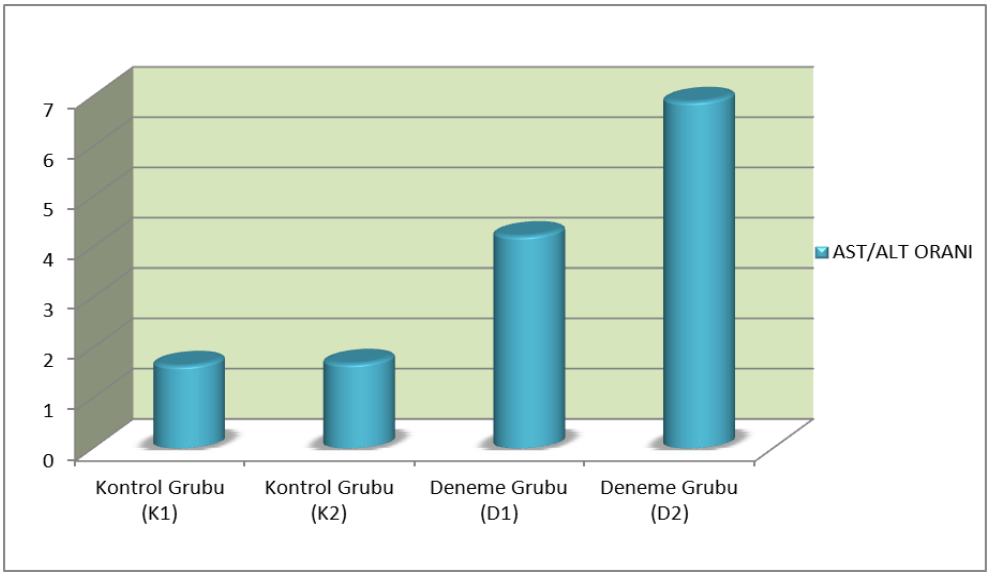
Ashworth ve ark. (1965) akut etanol intoksikasyonu oluşturarak gerçekleştirdikleri çalışmada, yapmış oldukları PAS boyaması sonucu hepatosit sitoplazmalarında glikojen granüllerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada kronik alkol alımı durumunda, uygulanan PAS ve Best Karmin boyamalarında deneme grupları hepatositlerinde daha zayıf pozitif reaksiyonların görülmesi ile alkolün glikojen depolanmasını azalttığı saptandı. İstatistiksel olarak da deneme gruplarında serum glikoz seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. PAS ve Best Karmin boyamalarında alkol ve vitamin A verilen grupta (D2), sadece alkol verilen gruptan (D1) daha az glikojen depolandığı görülmüştür.

Yapılan çalışmada deneme gruplarındaki ratların serum AST düzeylerinde artış, ALT düzeylerinde ise azalma saptanmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4.1). Panteghini ve Bais, (2008) kronik alkol alımında AST ve ALT yapımı için gerekli olan pridoksal-5-fosfatın eksikliği söz konusu olduğunu ve bu durumda karaciğerdeki lokalizasyonu daha fazla olduğu için, hepatik ALT düzeyinin daha fazla düşerek AST/ALT oranın yükselmesine neden olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmada da deneme gruplarındaki AST/ALT oranları Panteghini ve Bais, (2008)'in görüşleri ile uyumlu şekilde dikkat çekici bir artış göstermiştir (Şekil 4.2). Normalde ise, AST/ALT oranı 1'dir. Genellikle AST/ALT oranı 1.5'den büyük ise karaciğer hasarının alkole bağlı olduğu, 1'den küçük ise alkol kullanımına bağlı olmadığı düşünülmelidir (Li ve ark., 2004). Şekil 4.2 değerlendirildiğinde deneme gruplarındaki AST/ALT oranlarından

karaciğer hasarının alkole bağlı olduğu anlaşılmaktadır. Dan ve ark., (2005) bir çalışmalarında kronik alkolik hale getirilen ratlara vitamin A verilmesinin hepatotoksik olabileceğini belirtmişlerdir. D2 grubunun AST değerlerinde D1 grubuna göre istatistiki açıdan anlamlı bir artışın olması, ve yine ALT değerlerinin D1 grubuna göre daha fazla azalması, Dan ve ark. (2005) bulgularına benzer şekilde D2 grubunda hepatoselüler hasarın daha şiddetli olduğunu göstermektedir. Şekil 4.1'de kontrol ve deneme gruplarından elde edilen AST ve ALT değerlerinin dağılımı ve Şekil 4.2'de gruplara göre AST/ALT oranları görülmektedir.



Şekil 4.1. Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen AST ve ALT değerlerinin dağılımı.



Şekil 4.2. Kontrol ve deneme gruplarının AST/ALT oranları.

Diğer biyokimyasal parametrelerden serum albümin değerinin deneme gruplarında azalması, hepatositlerde albümin sentezinin bozulduğunu göstermektedir. Evcil hayvanlarda serum toplam protein değeri 5-8 g/dl olduğu ve serum total protein içeriğinin yaklaşık yarısını albümin oluşturduğu (Karagül ve ark., 2000) için albümin düzeyindeki azalmaya paralel olarak serum total protein düzeyinin azalma göstermesi de anlamlıdır. Deneme gruplarının elektron mikroskopisinde, hepatositlerde gözlenen grER azalması, protein sentezinin sekteye uğramasını histolojik olarak açıklamaktadır. Yine deneme gruplarında GGT enzimi düzeyindeki artış da hepatoselüler hasarı ortaya koymaktadır.

Deneme gruplarının elektron mikroskopisinde, buğulu görülen hepatositler ve kenarları düzensiz şekilli çekirdekler, Wang ve ark., (2005)'nın çalışmalarıyla uyumludur. Yine; hepatositlerinde gözlenen agranüler endoplazmik retikulum keseciklerinde (agER) genişlemeler ve granüllü endoplazmik retikulumda (grER) azalma bulguları Keegan ve ark., (1995) ile Wang ve ark., (2005)'nın çalışmaları ile benzerlik göstermektedir. AgER kesecikleri lipidleri sentezlediği gibi, alkolün parçalanmasında (detoksifikasyon) görev alan enzimleri de içerir (Sağlam ve ark. 2001). Dolayısıyla deneme gruplarında bu membransel organelde dikkati çeken genişlemelere sıklıkla rastlanması doğaldır.

Tespit edilen megamitokondriyonlar durumu Adachi ve ark. (1991)'nın 12 hafta %32 etanolü içme suları ile vererek yapmış oldukları çalışmaları ile örtüşmektedir. Keegan ve ark.(1995)'da çalışmalarında 'kupa şekilli mitokondriyonlar' tabiri ile çapı 2,5 µm' ye ulaşan şişmiş mitokondriyonlarla karşılaştıklarını vurgulamaktadır. Yine Wang ve ark., (2005)'da mitokondriyonların genişleyip sayıca arttığını, ancak kristalarının zayıfladığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada gözlenen megamitokondri bulgusuyla, belirtilen süre ve dozda verilen etanolün mitokondriyonları etkilediği anlaşılmaktadır. Mitokondriyonların etkilenmesi durumu da mitokondriyal bir enzim olan AST düzeyinin deneme gruplarındaki artışına açıklık getirmektedir.

Sarphie ve ark. (1995) gastrik gavaj yöntemi ile yapmış oldukları 14 haftalık çalışma sonucunda endotelyal hücrelerin fenestra çaplarının kontrol grubunda 100-200 nm arasında iken; alkol verilen grupta genişleyerek 1 µm'yi aşan boşluklu bir ağ görüntüsü aldığını belirtmektedir. Yine Sarphie ve ark. (1996)'nın bir gruba gastrik gavaj, bir gruba da içme suları ile alkol vererek yaptıkları 14 haftalık diğer bir

çalışmalarında fenestra çaplarının genişlediğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada da belirtilenlerle uyumlu olarak deneme gruplarında fenestra çaplarının genişlediği görülmüştür. Alkol uygulaması sonucu görülen yağlanmanın nedenlerinden bir diğerinin de, şilomikronlar için elek olma işlevini yitiren genişlemiş endotelyal fenestralardan küçük çaplı şilomikronlarla beraber büyük çaplı olanların da kolaylıkla Disse aralığından hepatositlere geçmesi gösterilebilir.

Seifert ve ark. (1991)'nın 2 farklı rat ırkında, uzun dönem alkol ve yüksek vitamin A içeren diyet uyguladıkları çalışmalarında, yapılan biyokimyasal testler sonucunda bir ırkta hipertrigliseridemi gözleyip, total kolesterol ve fosfolipid düzeylerinin değişmediğini, diğer ırkta ise; total kolesterol ve fosfolipid düzeylerinin artıp, trigliserid düzeyinin değişmediğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada deneme gruplarına ait kan trigliserid ve total kolesterol değerlerinin istatistiksel analizinde, anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ayrıca deneme gruplarının yağ boyamalarında ve ince kesitlerinde, hepatositlerin sitoplazmalarında bol miktarda küçük çaplı lipid damlacıkları görülmesi hipertrigliseridemi tablosunu doğrulamaktadır. Hiperkolesterolemi durumunun da ratların ırkına, lipoprotein metabolizmasındaki değişikliklere ve hepatositlerdeki yıkıma bağlı olarak veya sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür.

Keegan ve ark., (1995) ratların içme sularına alkol ilave ederek yürüttükleri 29 hafta süren ve son değer olarak %40'lık alkol düzeyine ulaşılan çalışmalarında, yapılan retikulum boyaması sonucu, terminal hepatik venülün hepatik lobüle girdiği septada erken terminal hepatik venüler sklerozis gözlendiğini belirtmişlerdir. Işık mikroskopta belirttikleri düzeyde alkole maruz kalma durumunda 25 hafta ve üzerinde fibrozisin ilk evrelerinin gözlenmeye başladığını bildirmişlerdir. 12 hafta süren ve araştırma sonunda %30 alkol düzeyine ulaşılan bu çalışmada uygulanan retikulum boyamasında, retikulum iplikleri artışı gözlenmemiştir.

Seitz, (2000) ve Dan ve ark., (2005) kronik alkol tüketiminin, karaciğerdeki vitamin A depolarını boşalttığını bildirmektedir. Sato ve Liber (1981)'da Habeş maymunlarında enerji ihtiyaçlarının %50'sinin alkolden karşılandığı sıvı bir diyetle beslenmeleri durumunda yağlı karaciğer durumunun 4 ayda geliştiğini; bu durumda karaciğerdeki vitamin A konsantrasyonunda %59 azalma olduğunu belirtmişlerdir. Fibrozis ve sirozis durumlarının ise, 24-84 ay beslemede gözlendiğini ve bu sürede

karaciğer vitamin A konsantrasyonunda %95'lik azalma olduğunu bildirmişlerdir. Natarajan ve ark. (2005) ise, karbon tetraklorid ve thioacetamide kullanarak sirozis gelişimi indüklenen ratlarda, karaciğer ve serumdaki retinoid seviyelerinin değişimini HPLC ile ölçerek tespit ettikleri çalışmalarında; karaciğerde retinaldehit ve toplam retinolün düştüğünü, retinoik asit seviyesininse yükseldiğini görmüşlerdir. Ayrıca retinoid metabolizmasında rol alan retinaldehit oksidaz, retinaldehit dehidrogenaz ve retinaldehit redüktaz enzimlerinin aktivitelerinin de azaldığını bildirmişlerdir. Bu durumlara paralel olarak, serumda ise, retinol ve retinaldehit seviyelerinin yükseldiği ve retinoik asit seviyesinin düştüğü de bildirilmektedir. Belirtilen durumlar sonucunda sirozis gelişimi sırasında, retinoid metabolitlerinin karaciğer ve kan serumu arasında karşılıklı transferinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da deneme gruplarında, perisinüzoidal hücrelerin (Ito Hücreleri) azalmasına bağlı olarak kontrol gruplarına göre vitamin A depolanmasının azalmış olduğu sonucuna varıldı.

Wang ve ark., (2005), ilk 4 hafta %40, 4-12. haftalar arasında %50 alkolün gastrik gavajla verilmesi ile yapılan çalışmalarında, ışık mikroskopla nekroz ve hafif fibrozis gözlendiğini bildirmektedir. Yapılan çalışmada Wang ve ark., (2005)'nın çalışmalarına benzer olarak yer yer yıkımlanmış hepatositler gözlenmiştir. Ayrıca alkol ve vitamin A verilen grupta (D2), aşırı kollagen iplik artışı tespit edilmiştir. Leo ve Lieber (1983) kronik alkol tüketiminde diyete vitamin A eklenmesinin mitokondriyal hasarı artırdığını, nekroz ve fibrozisi şiddetlendirdiğini belirtmişlerdir. Seifert ve ark. (1991) ise; iki farklı rat ırkına alkol ve yüksek miktarlarda vitamin A vererek yürüttükleri 16 aylık biyokimyasal çalışmalarında, kronik alkolik ratların diyetine aşırı miktarlarda vitamin A eklenmesinin karaciğer fibrozisini artırmadığı sonucuna varmışlardır. Dan ve ark. (2005)'da günlük 100.000 IU düzeyinden fazla vitamin A alınmasının hepatotoksik olduğunu ve belirtilen yüksek doz kullanım haftalar-aylar sürdüğünde karaciğer sirozu gelişeceğini bildirmiştir. Kronik alkol tüketiminde genellikle ticari katkılarda bulunan 7500-10.000 IU/gün vitamin A düzeyinin bile uzun süreli kullanıldığında karaciğer hasarı gelişiminde etkili olacağını eklemişlerdir. Yine Dan ve ark., (2005) alkolik ve kontrol amaçlı izokalorik diyetlerle beslenen ratların karaciğerlerinden ekstrakte edilen polar retinol metabolitlerin, primer rat hepatositleri ve HepG2 kültüre edilmiş hücreleri üzerindeki etkilerini açıklamak için yaptıkları çalışmalarında; polar retinol metabolitlerin her iki hücre tipinde de morfolojik değişikliklerle yansıyan belirgin sitotoksiteye neden olduğunu bildirmişlerdir. Alkol ile indüklenebilen sitokrom P4502E1 mekanizması sonucu

üretilen polar retinol metabolitlerin, apopitozis mekanizmasını uyararak karaciğer hasarını şiddetlendirdiğini belirtmişlerdir. Apopitozis ile hücre ölümlerinin meydana gelişindeki sınırlandırıcı basamağın sitokrom P4502E1 mekanizmasında substrat olan etanol ve retinolün azaltılmasıyla ilişkili olduğu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, alkol ve vitamin A verilen gruptan (D2) alınan kesitlere uygulanan üçlü boyamada, Kiernan aralığında kollagen iplik artışından kaynaklanan genişleme ile elektron mikrograflarda Disse aralığında bol miktarda gözlenen kollagen iplikler yüksek dozda vitamin A enjeksiyonunun fibrozisi artırdığı konusundaki görüşleri desteklemektedir. Karaciğer hasarı durumunda, vitamin A'nın serum ve karaciğerdeki yüksek düzeylerinin, gelişebilecek fibrozis ve sirozis oluşumunda 1) hepatik retinolün, lipid peroksidasyonunu artırarak, fibrozisin artışına neden olabileceği, 2) retinoik asitin, Ito hücrelerinin fibroblastlara farklılaşma mekanizmasında uyarıcı olabileceği, 3) retinoik asitin, kollojen sentezini regüle edebileceği ve ekstraselüler matriks polimerlerinin sentezine yol açabileceği ve toksisite artışının bu durumlardan kaynaklanabileceği olmak üzere 3 ana mekanizma akla geldi. Çalışmanın elektron mikroskop incelemelerinde, deneme gruplarında kollajen ipliklerin gözlenmesini kendi içinde kıyasladığımızda; alkol ve vitamin A verilen grupta (D2), alkol verilen gruba (D1) göre kollajen ipliklere daha yoğun rastlanması nedeniyle uygulanan 50.000 IU vitamin A düzeyinin kollajen iplikleri ve fibrozisi artırdığı kanısına varıldı. (D2) grubunda sinuzoidlerdeki Ito hücrelerinin bir bölümünün fibroblastlara farklılaşmış olabileceği de düşünüldü. Ayrıca D1 grubunda hepatosit mikrovilluslarının kontrol gruplarına ve D2 grubuna göre azalmış olması, ancak; D2 grubunda azalmanın D1 grubuna göre telafi edilmiş olduğunun görülmesi, uygulama dozunun olumlu etkisinin de bulunduğunu ortaya çıkardı.

5. SONUÇ

Ratlara içme suları ile 12 hafta etil alkol verilen ve % 30 etil alkol düzeyine ulaşılan çalışmada, içme sularına alkol katılan deneme grubunun (D1) üçlü boyamasında, hepatositlerde şişme, perivenüler kalınlaşma ve sinüzoidlerde genişleme tespit edildi. İçme suları ile alkol verilen ve vitamin A enjeksiyonu yapılan deneme grubunda (D2) hücre infiltrasyonu ile karşılaşıldı. Kiernan aralığında bağ dokusu artışı gözlendi. Oil Red O boyamasında makro ve mikroveziküler olarak görülebilen ancak daha çok mikroveziküler tipte olan yağlanma tablosu ile karşılaşıldı. Yağlanmanın kontrol gruplarına göre deneme gruplarında arttığı, ayrıca deneme grupları kendi arasında karşılaştırıldığında; hem alkol verilen hem de vitamin A enjeksiyonu uygulananlarda (D2) yağlanmanın, sadece alkol verilen deneme grubuna (D1) göre daha fazla olduğu belirlendi. Kan total kolesterol ve trigliserid değerleri de istatistiksel olarak deneme gruplarında daha yüksekti.

Yapılan Best Karmin ve PAS boyamalarında kontrol gruplarından deneme gruplarına doğru gidildikçe hepatosit sitoplazmalarında glikojen depolanmasının gittikçe azaldığı tespit edildi. (K1>K2>D1>D2) İstatistiksel olarak da deneme gruplarında serum glikoz seviyesinin düştüğü görüldü. Alkolün ve vitamin A enjeksiyonunun glikojen depolanmasını azalttığı sonucuna varıldı.

Kontrol ve deneme gruplarına ait kriyostat kesitlerine uygulanan altın klorid boyamalarında, karaciğerde alkolün vitamin A depolanmasını azalttığı ama vitamin A enjeksiyonlarının bu vitamini depolayan perisinuzoidal hücrelerin sayılarını (Ito hücreleri) tüm gruplarda göreceli olarak artırdığı belirlendi.

Elektron mikroskobik incelemelerde deneme gruplarında, hepatositlerin buğulu göründüğü, kontrol gruplarından farklı olarak hepatosit çekirdeklerinin kenarlarının düzensiz şekilli olduğu ve mitokondriyonların bulanık gözlendiği tespit edildi. Megamitokondriya durumu ve kristalarda zayıflama belirlendi. Deneme gruplarında agER genişlemelerinin yaygınlaştığı ancak grER azaldığı gözlendi. Deneme gruplarında endotel hücrelerin fenestralarının genişlediği görüldü.

Deneme gruplarında hepatosit mikrovillusların kaybının olduğu belirlendi. Alkol verilen deneme grubunda hepatosit mikrovillusları kontrol gruplarına göre azalırken,

alkol ve vitamin A verilen deneme grubunda bu azalmanın oldukça telafi edilmiş olduğu tespit edildi. Deneme gruplarında sinüzoidlerin içinin eritrositlerle dolu olduğu gözlendi. Ayrıca alkole bağlı olarak Disse aralığında genişleme ile beraber bol miktarda kollogen iplik olduğu ve hepatositlerin hemen yanında zengin granüllü endoplazmik retikulumuyla karakterize fibroblastların yer aldığı tespit edildi. Alkol ve vitamin A verilen deneme grubundaki (D2) kollagen iplik artışının, sadece alkol verilen gruptan (D2) daha fazla olduğu belirlendi. Deneme gruplarında yer yer hücre infiltrasyonları ile de karşılaşıldı.

Bu çalışmada deneme gruplarındaki ratların serum AST aktivitelerinde artış saptandı ($p<0.05$). Ayrıca deneme gruplarının AST/ALT oranlarında dikkat çekici bir artışla karşılaşıldı. Bu durum alkolün hepatotoksitesini ortaya koydu. D1 ve D2 grupları arasında D2'de AST/ALT oranının daha fazla artış göstermesi, kronik alkoliklerde vitamin A kullanılırken dikkat edilmesi gerektiğini gözler önüne serdi. Alkol ve vitamin A metabolizmaları incelendiğinde ve literatürler değerlendirildiğinde; vitamin A'nın verilen doza ve uygulama süresine bağlı olarak karaciğer hasarını artırdığı, bu yüzden kronik alkol tüketiminde oluşan vitamin A eksikliğinin telafi edilmesinde çok dikkatli davranılması gerektiği kanaatine varıldı.

Kronik alkol tüketiminin organizmada vitamin A depolanmasını azalttığı bu çalışmada da görüldü ancak öte yandan kronik alkoliklerde diyete vitamin A eklenmesinin de, alkolik karaciğer hastalığı durumunda oluşan değişiklikleri artırarak, tabloyu ağırlaştırabildiği anlaşıldı. Bu nedenle kronik alkoliklerde vitamin A'nın koruyucu ve hasarı artırıcı dozları arasındaki eşik değer oldukça düşük olduğu için çok dikkatli kullanılması ve aynı yollarla metabolize olmaları nedeniyle alkol ve vitamin A'nın birlikte sürekli alımlarından kaçınılması gerektiği düşünüldü. Aralıklı olarak belirli doz vitamin A uygulaması yapılması ile hepatositlerde rejenerasyonun artırılması ve Ito hücrelerinin asıl görevlerini icra etmelerinin stimüle edilerek, aktivasyonlarının engellenmesi böylece diğer fibrotik faktörlerin ortaya çıkışlarının da baskılanması için gerekli uygun vitamin A düzeyinin belirlenmesinin önemli olduğu anlaşıldı. Bu araştırmanın da bu doğrultuda yapılacak ileriki çalışmalara, katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Etanolün Rat Karaciğer Parankimi ve Vitamin A Depolanması Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskobik Olarak İncelenmesi

Bu çalışmada ratlara içme suları ile %30 düzeyinde etanol verilmesi durumunda hepatositler, endotel hücreleri ve perisinüzoidal hücrelerde şekillenen yapısal değişikliklerin araştırılması ve bu değişikliklerin çalışmanın sonlandırılmasına 2 hafta kala uygulanan 50.000 IU/ml vitamin A'nın sc enjeksiyonuna bağlı değişimlerinin ışık ve elektron mikroskobik olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 20 adet 120-150 gr ağırlığında erişkin erkek rat kullanıldı. Araştırma 12 hafta sürdü ve ratlarda kronik alkolizm oluşturuldu. Deneme grubundaki ratların içme sularına %2 düzeyinde etanol eklenerek çalışma başlatıldı. Eklenen etanol düzeyi her 2 günde bir %2 artırılarak %30 düzeyine ulaşıldı. 12 haftalık besleme periyodunun bitimine kadar ratlara %30'luk etil alkol verilmeye devam edildi. Deneme ve kontrol gruplarının aldıkları günlük kalori düzeyini sabit tutmak için; deneme grubuna eklenen alkolden gelen enerji hesaplanarak, kontrol gruplarının içme sularına alkolden gelen kalori değerini sağlayacak kadar sakkaroz ilave edildi. Belirlenen 12 haftalık besleme periyodunun bitiminde ratlar ketamin–ksilazin anestezisi altındayken kalplerinden kan, karaciğerlerinden çalışma materyali olarak doku örnekleri alındı. Kan örneklerine AST/ALT/GGT karaciğer enzim testleri ve çeşitli biyokimyasal testler, doku örneklerine ise ışık ve elektron mikroskobik incelemeler için çeşitli boyama metotları uygulandı.

Işık mikroskobik incelemelerde, kontrol grubunda karaciğerin normal görünümü izlenirken deneme gruplarında daha çok mikroveziküler tipte olan yağlanma tablosu ile karşılaşıldı. Ayrıca, hepatositlerde glikojen birikiminde azalma, bağ dokusunda artış, sinüzoidlerde genişlemeler görüldü.

Elektron mikroskobik incelemelerde deneme gruplarında hepatositlerin buğulu göründüğü, mitokondriyonların büyüdüğü, agER genişlediği, grER'in azaldığı, çekirdeklerin kenarının tırtıklı olduğu, mikrovillusların yer yer kaybolduğu, endotel hücrelerin oluşturduğu fenestraların büyüdüğü, Disse aralığının genişlediği ve hem bu bölgede hem de sinuzoidlerde kollajen ipliklerin arttığı, karaciğer parankiminin yer yer bozulduğu, Ito hücrelerinin ve sitoplazmalarındaki yağ damlacıklarının azaldığı belirlendi. Vitamin A enjeksiyonlarının, kontrol ve deneme gruplarında yağlanma ile birlikte Ito hücrelerinin sayısını artırdığı da gözlendi.

Fenestraların genişlemesiyle Disse aralığına daha fazla miktarda nötral yağ girişi olduğu belirlendi. Kronik alkol kullanımında oluşan mitokondriyal değişikliklere bağlı olarak yağ asitlerinin oksitlenmesi de azaldığından hepatositlerin sitoplazmalarında daha fazla nötral yağ birikmeye başladı. Oluşan yağlar hepatositlerin sitoplazmasında vakuoller halinde görüldü.

Kronik alkol tüketiminin vitamin A depolarını boşaltarak, organizmada vitamin A eksikliğine yol açtığı bu çalışmada da gözlendi. Ancak yüksek doz vitamin A'nın kronik alkoliklerde karaciğer hepatositlerinde bozulmaya, Ito hücrelerinin sayı ve çaplarında artışa neden olduğunun da bildirildiği belirlendi. Normal şartlarda Ito hücrelerinde bol miktarda A vitamini bulunur ve kollagen sentezlenmez. Yüksek dozda A vitamini verilmesi ise bu hücrelerin, fazlasıyla Tip I kollajen sentezlemesine yol açmaktadır. Bu çalışmada uygulanan vitamin A dozu, Ito hücrelerinin bu yönde sentez yapmasını etkilemiştir.

Sonuç olarak, Ito hücreleri hem A vitamini depolayabildiği hem de kollajen sentezi yapabildiği için; kronik alkol tüketenlerde organizmada vitamin A eksikliğine yol açmayacak, ancak alkolik karaciğer hastalığı durumunda oluşan değişiklikleri de artırmayacak A vitamini dozu ve veriliş süresinin belirlenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektron mikroskop, Etanol, Işık mikroskop, Karaciğer, Sıçan, Vitamin A.

SUMMARY

Light and Electron Microscopic Resarch on the Effects of Ethanol on Rat's Liver Parenchym and Vitamin A Storage

In this study it was aimed to investigate the occuring histological changes of the hepatocytes, endothelial cells and perisinusoidal stellate cells in case of feeding rats with 30% ethanol in their drinking water and to determine alterations of these changes related to subcutan injection of 50.000 IU of vitamin A which applied two weeks before the end of the study by light and electron microscopy.

In this study, 20 male, adult and 120 to 150 gr weighted rats were used. The study was carried out 12 weeks and chronic alcoholism was made up. It was started by feeding rats in experimental group with drinking water containing 2% alcohol. Alcohol concentration was increased by 2% every 2 days, until it reached 30% which was maintained until the end of experiment. Calories generated by the effect of alcohol which added in drinking water of experimental groups were calculated and enough amount of saccharose that generates the same level of calories with that alcohol was added in drinking water of control groups to equalize daily calorie level of control and experimental groups. At the end of the 12 weeks alcohol feeding period, rats were anaesthetised with ketamin and xylazine and then blood and liver tissue samples were taken as study materials. AST/ALT/GGT liver functional tests and some biochemical tests were implemented to the blood samples. Liver tissue samples were fixed for light and electron microscopy and then some histological stainings were carried out. The results of chemical determinations were statistically analyzed.

In the light microscopy, control groups had normal liver histology, whereas experimental groups exhibited majority of microvesicular type of steatosis. Also the decrease of glycogen storage in the hepatocytes cytoplasm, enlargement of sinusoids and the fibrosis were observed at the experimental groups.

In the electron microscopic examinations, it's revealed that condensation of hepatocytes, large mitochondria, enlagement of agranuler endoplasmic reticulum, enlargement of both sinusoidal endothelial cell fenestrations and space of Disse, increase of collagen fibers in sinusoids and space of Disse, decrease of perisinusoidal stellate cells (Ito cells) and fat droplets in their cytoplasm at the experimental groups. After the injection of vitamin A, steatozis and number of Ito cells were increased in both control and experimental groups.

It was determined that large quantities of neutral fat to pass through the space of Disse after the enlargement of fenestrations. During the chronic alcohol feeding related to the occuring of mitochondrial changes, due to reducing oxidation of free fatty acids large quantities of neutral fat accumulation of hepatocytes cytoplasm as vesicles.

It was clarified that chronic alcohol feeding caused vitamin A deficiency in the organism due to the depletion of storage of vitamin A. However, it was asserted that administration of high dose vitamin A to chronic alcoholics caused exacerbation of hepatocytes damage and increasing number and diamater of Ito cells. Normally Ito cells store great amount of vitamin A and not to synthesis collagen. In case of administration of high dose vitamin A caused to synthesis of type 1 collagen. In this study, applied vitamin A doses, caused collagen synthesis.

As a result, in chronic alcoholics, it was concluded that appropriate vitamin A doses and implementation periods in order not to cause vitamin A deficiency in the organism, also not to exacerbate the occuring changes related to hepatotoxicity during the alcoholic liver diseases because Ito cells both can do vitamin A storage and synthesis of collagen.

Key Words: Electron microscopy, Ethanol, Light microscopy, Liver, Rat, Vitamin A.

KAYNAKLAR

ADACHI, K., WAKABAYASHI, T., POPINIGIS, J. (1991). Effect of Alkly Alcohol and Related Chemicals on Rat Liver Sturucture and Function (II. Some Biochemical Properties of Ethanol-Propanol and Butanol-Treated Rat Liver Mitochondri). *Acta Pathol. Jpn*., **41**(6): 414-427.

AKTAN T.M, CANBİLEN A, KEKLİKOĞLU N. (2003). Kupffer Cells. *Cerrahpaşa J. Med.* **34**:110-113.

ANONIM (2009a).The Abdominal Organs. Erişim : [http://www.biologycorner.com/bio3/anatomy/rat_head.html] Erişim tarihi: 01.03.2009

ANONIM (2009b). Intestinal Uptake of Lipids. Erişim : [http://www.denstistry.leeds.ac.uk./ biochem/thcme/lipoproteins.html] Erişim Tarihi: 20.01.2009

ASHWORTH, C.T., WRIGHTSMAN, F., COOPER, B., DI LUZIO, N.R. (1965). Cellular Aspect of Ethanol-Induced Fatty Liver A Correlated Ultrastructual and Chemical Study. *J. Lipid Res*., **6**:258-268.

AŞTI, R.N.(1982). Kanatlılarda Perisinuzoidal Hücrelerin (Fat Storing Cell) Varlığı, Bunların Vitamin A ve Lipid Metabolizması ile İlişkisi Üzerinde Işık-Elektron ve Fluoresan Mikroskobik Çalışmalar. Doçentlik Tezi, A.Ü. Veteriner Fakültesi-Histoloji-Embriyoloji ABD, Ankara.

AUGHEY, E., FRYE, F.L., (2001). Digestive System. In: Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates, Iowa State University Pres/Ames, USA, p:97-132.

AZRI, S., RENTON K.W. (1987). Depression of Murine Hepatic Mixed Functionoxidase During Infection with Listeria Monocytogenes. *J Pharmacol Exp. Ther.*, **243**: 1089-91.

BADAWY, A. A-B, MORGAN, C.J., DAVIS, N.R., (1989). Effects of acute ethanol administration on rat liver 5- aminolaevulinate synthase activity. *Biochem. J.*,**262**:491-496.

BANCROFT, J.D., COOK, H.C. (1984). Manuel of Histological Techniques. Churchill Livingstone, Edinburg.

BANCROFT, J.D., GAMBLE, M. (2002). Histological Techniques. 5th ed. Elsevier Science Ltd., New York.

BATRES, R.0., OLSON, J.A. (1987). Relative Amount and Ester Composition of Vitamin A in Rat Hepatocytes as a Function of The Method of Cell Preparation and of Total Liver Stores. *J. Nutr*., **117**: 77-82.

BIGGERSTAFF, K.D., WOOTEN, J. S. (2004). Understanding Lipoproteins as Transporters of Cholesterol and Other Lipids. *Adv Physiol Educ*., **28**:105–106.

BLOMHOFF, R., WAKE, K. (1991). Perisinusoidal Stellate Cells of The Liver: Important Roles in Retinol Metabolism and Fibrosis. *FASEB J*., **5**: 271-277.

BLOMHOFF, R., GREEN, M.H., NORUM, K.R. (1992).Vitamin A: Physiological and Biochemical Processing. *Annu. Rev. Nutr*.,**12**:37-57.

BLOMHOFF, R., GREEN, M.H., GREEN, J.B., BERG, T., NORUM, K.R. (1991). Vitamin A Metabolism: New Perspectives on Absorbtion, Transport and Storage. *The American Physiological Society*, **71**(4):951-990.

BLOMHOFF, R., GREEN, M.H., GREEN, J.B., BERG, T.,NORUM, K.R.,(1990). Transport and Storage of Vitamin A. *Science,* **250**:399-404.

BLOMHOFF, R., RASMUSSEN, M., NILSSON, A., NORUM, K.R., BERG, T, BLANER, W.S., KATO, M., MERTZ, J.R., GOODMAN, D.S., ERIKSSON, U., PETERSON, P.A. (1985) Hepatic Retinol Metabolism, Distribution of Retinoids, Enzymes, and Binding Proteins in Isolated Rat Liver Cells. *J. Biol. Chem*., **260**: 13560-13565.

BOGIN, E., AVIDAR, Y., MEROM, M. (1986). Biochemical Changes in Liver and Blood During Liver Fattening in Rats. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*., **24**: 621-626.

BOUWENS L, BAEKELAND M, WISSE E. (1986). Cytokinetic Analysis of The Expanding Kupffer-Cell Population in Rat Liver. *Cell Tissue Kinet*., **19**:217-226.

BOUWENS, L., BLESER, P.D., VANDERKERKEN, K. GEERTS, B. WISSE, E. (1992). Liver Cell Heterogeneity: Functions of Non-Parenchymal Cells. *Enzyme*, **46**:155-168.

BOUWENS, L., REMELS, L., BACKELAND, M., VAN BOSSUYT, H., WISSE, E. (1987). Large Granuler Lymphocytes or "Pit Cells" From Rat Liver: Isolation, Ultrastructural Characterization and Natural Killer Activity. Eur. *J. Immunol*., **17**:37-42.

BRZOSKA, M.M., MONIUSZKO-JAKONIUK, J., PILAT-MARCINKIEWICZ, B., SAWICKI, B. (2003). Liver and Kidney Function and Histology in Rats Exposed to Cadmium and Ethanol. *Alcohol & Alcohol*., **38**:1:2-10.

CESTER, J.A., BLOSE, A.M., FROEHLICH, J.C. (2005). Effects of Chronic Alcohol Treatment on Acoustic Startle Reactivity During Withdrawal and Subsequent Alcohol Intake in Hıgh and Low Alcohol Drinking Rats. Alcohol&Alcoholism,40(5):379-387.

CORMACK, D.H. (2001). Digestive System. In: Essential Histology, 2nd. ed., Ed.: Robert Anthony, Lippincott Williams & Wilkins, USA, p: 299-336

CRABB D.W., DIPPLE K.M., THOMASSON H.R. (1993). Alcohol Sensitivity, Alcohol Metabolism, Risk of Alcoholism and The Role of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenase Genotypes. *J Lab. Clin. Med*., **122**: 234-40.

CROSSMON, G. (1937). A Modification of Mallory's Connective Tissue Stain with a Discussion of The Principles Involved. *Anat. Rec*., **241**: 155-162.

CULLING, C.F.A., ALLISON, R.T., BARR, W.T. (1985). Cellular Pathology Technique, 4th ed., Butterworth & Co. Ltd., London. p: 439

DAN, Z., POPOV, Y., PATSENKER, E., PREMIEL, D., LIU, C., WANG, X.D., SEITZ, H.K., SCHUPPAN, D., STICKEL, F. (2005). Hepatotoxicity of Alcohol-Induced Polar Retinol Metabolites Involves Apoptosis via Loss of Mitochondrial Membrane Potential. *The Faseb. J*., **10**.1096:1-20.

DARBRA, S., PRAT,G., PALLARES, M., FERRE, N. (2002). Tolerance and sensitizaation to the hypnotic effects of alcohol induced by chronic voluntary alcohol intake in rats. J. Psychopharmacology, 16.(1):79-83.

DOLAR, E. (2002). Klinik Karaciğer Hastalıkları. 1.Baskı, Bölüm 4, Nobel&Güneş Tıp Kitabevi.

ERDEN, İ. (2004). ST elevasyonlu miyokard infarktüslü (stemi) hastalarda insan paraoxonase geni MET-LEU/55 polimorfizmi. Uzmanlık Tezi. Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi, İstanbul.

ERGÜN, L. (2000). Aflatoksin B-1 Verilmiş Civcivlerin Karaciğer Parenşimi Üzerinde Işık-Flüoresan ve Elektron Mikroskobik Çalışmlar. AÜ Vet Fak Derg 46(1), 105-114.

FAWCETT, D. W.,JENSH, R.P. (2002). Liver and Gallbladder. In: Bloom&Fawcett's Concise Histology. 2nd. ed., Arnold Publishes, London. p: 207-213.

FRAPPIER, B.L. (2006). Digestive System. In: Dellmann's Textbook of Veterinary Histology 6th ed., Ed.: Eurell, J. A., Frappier, B.L., Blackwell Publishing, Iowa, USA, p: 170-212.

GOEDDE H.W., AGARWAL D.P., FRITZE G, TACKMANN, D.M., SINGH, S., BEKMANN, G., BHATIA, K.,CHEN, L.Z., FANG, B., LISKER, R., PAIK, Y.K., ROTHHAMMER, F., SAHA, N., SEGAL, B., SRIVASTAVA, L.M., CZEIZEL, A. (1992). Distrubution of ADH2 and ALDH2 Genotypes in Different Populations. *Hum. Genet*. **88**; 344-346.

GONZALEZ H.E., EUGENIN E.A., GARCES G., SOLIS N., PIZARRO, M., ACCATINO L., SAEZ J.C. (2002). Regulation of Hepatic Connexins in Cholestasis: Possible Involvement of Kupffer Cells and Inflammatory Mediators. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **282**:G991-G1001.

GRUMMER, M.A., ERDMAN J.W. (1983). Effect of Chronic Alcohol Comsumption and Moderate Fat Diet on Vitamin A Status in Rats Fed Either Vitamin Aor β-Carotene. *J. Nutr*. **113**: 350-364.

GÜLMEZ, N. (2008). Sindirim sistemi III: Sindirim Bezleri. In: Veteriner Özel Histoloji, Ed.: A. Özer., Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd.Şti., Ostim-Ankara, p: 185-196.

HAHN, E.G., WICK, G., PENCEV, D. (1980). Distrubition of Basement Membran Proteins in Normal and Fibrotic Human Liver: Collagen Type IV, Laminin and Fibronectin. *Gut*, **21**:63-68.

HARRISON, E.H., HUSSAIN, M.M. (2001). Mechanisms Involved in The Intestinal Digestion and Absorbtion of Dietary Vitamin A. *American Society for Nutrional Sciences*, p:1405-1408.

HERNANDEZ-MUNOZ, R., CABALLERIA, J., BARAONA, E., UPPAL, R., GREENSTEIN, R., LIEBER, C.S. (1990). Human Gastric Alcohol Dehydrogenase: Its Inhibition By H2-Receptor Antagonists and Its Effect on The Bioavailability of Ethanol. *Alcohol Clin. Exp. Res.,* **14** (6): 946-50.

HOOFNAGLE, J.H., ALTER, JE.(1984). Chronic viral hepatitis. In: Viral Hepatitis and Liver Disease, Ed: Vyas, G.N., Dienstag, J.L., Hoofnagle, J.H.,Grune&Stratton, San Francisco, USA, p:97-113.

HSU, L.C., YOSHIDA, A., MOHANDAS, T. (1986). Chromosomal Assignment of The Genes for Human Aldehyde Dehydrogenase-1 and Aldehyde Dehydrogenase-2. *Am. J. Hum. Genet*., **38**: 641-8.

İLTER, T., TEKİN, F.(2005). Alkol Metabolizması. *Güncel Gastroenteroloji*, p:1-9

JAESCHKE, H., GORES, G.J., CEDERBAUM, A.I., HINSON, J.A., PESSAYRE, D., LEMASTERS, J.J. (2002). Mechanisms of Hepatotoxicity. Review, *Toxicol Sci.* **65**(2):166-76.

KARAGÖZ, İ., HAKTANIR, A. (2004). Kronik Karaciğer Hastalıkları. Derleme. *Tıp Araştırmaları Dergisi* **2** (2): 33-40.

KARAGÜL,H., ALTINTAŞ,A., FİDANCI, U.R., SEL, T**.** (2000). Klinik Biyokimya, Medisan Yayınevi, Ankara

KARNOVSKY, M.J. (1965). Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in Electron Microscopy. *J. Cell Biol*., **27**: 137A-138A.

KEEGAN, A., MARTINI, R., BATEY, R. (1995). Etanol-Related Liver Injury in The Rat: A Model of Steatosis, Inflammation and Pericentral Fibrosis. *J. Hepatol*., **23**:591-600.

KIERNAN, J. A. (1999). Histological &Histochemical Methods. Theory& Practice. 3th ed., Oxford University Pres, New York.

KIERSZENBAUM, A.L. (2006). Sindirim Bezleri. Alınmıştır: Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. Çeviri Editörü: Prof.Dr. Ramazan Demir, Palme Yayıncılık, Ankara s:447-474.

LEO, M.A., LIEBER, C.S. (1999). Alcohol, Vitamin A, and β-Carotene: Adverse Interactions, Including Hepatotoxicity and Carcinogenicity. *Am. J. Clin. Nutr*. **69**:1071-1085.

LEO, M.A., LIEBER, C.S. (1983). Hepatic Fibrosis After Long-Term Administration of Ethanol and Moderate Vitamin A Supplementation in The Rat. *J. Hepatol*., **3**:1-11.

LI, Y.M., CHEN, S.H., YU, C.H., ZHANG, Y., XU, G.Y. (2004). Effect of Acute Alcoholism on Hepatic Enzymes and Oxidation/Antioxidation in Rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*., **3**(2):241-244

LIEBER, C.S. (2004). Alcoholic Fatty Liver: Its Pathogenesis and Mechanism of Progression to Inflammation and Fibrosis. Review, *Alcohol*., **34**(1):9-19.

LIEBER, C.S. (2000a). Alcohol: Its Metabolism and Interaction with Nutrients. *Annu. Rev. Nutr*., **20**:395-430.

LIEBER, C.S. (2000b). Alcohol and Liver: Metabolism of Alcohol and Its Role in Hepatic and Extrahepatic Diseases. *The Mount Sınai Journal of Medicine*, **67**:(1):84-94.

LIEBER C.S. (1990). Mechanism of Ethanol Induced Hepatic Injury. *Pharmac. Ther*., **46**; 1-41.

LIEBER, C.S., DECARLI, L.M., SORREL, M.F. (1989). Experimental Methods of Ethanol Administration. *J. Hepatol*., **10**(4): 501-510.

LUO, D., VERMIJLEN, D., VANDERKERKEN, K., KUPPEN, P.J.K., SEYNAEVE, C., EDDOUKS, M., BAEKELAND, M., WISSE, E. (1999). Involment of LFA-1 in Hepatic NK Cell (Pit Cell) Mediated Cytolysis and Apoptosis of Colon Carcinoma Cells. *J. Hepatol*., **31**:110-116.

MATHEWS, C.K., VAN HOLDE, K.E. (1996). Lipid Metabolism I: Fatty Acids, Triacylglcerols, and Lipoproteins In: Biochemistry. 2nd ed., The Benjamin/Cummings Publishing Company, California, p:621-658.

MIZOI, Y., KOGAME, M., FUKUNAGA, T., UENO, Y., ADACHI, J., FUJIWARA, S. (1985). Polymorphisms of Aldehyde Dehydrogenase and Ethanol Elimination. *Alcohol*., **2**: 393-6.

MURRAY, R.K., MAYAS, A.P., GRANNER, D.K., RODWELL, V.W. (1993). Lipid Taşınması ve Depolanması. Harper'in Biyokimyası. Ç.Ed.: Menteş, G., Ersöz, B., Barış Kitapevi, İstanbul, s:292-325.

NAITO, H.K. (2003). Coronary Artery Disease and Disorders of Lipid Metabolism. In:Clinical Chemistry. 4th ed., Eds: Kaplan, L.A., Pesce, A.J., Kazmierczak, S.C., Mosby Elsevier, St Louis Missouri, p:603-638.

NATAJARAN, S.K., THOMAS, S., RAMACHANDRAN, A., PULIMOOD, A.B., BALASUBRAMANIAN, K.A. (2005). Retinoid Metabolism During Development of Liver Cirrhosis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **443**:93-100.

NOYAN, A. (1999). Metabolizma. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 11. baskı, Meteksan Basımevi, Ankara, s:899-975.

ÖZCAN, A., MENGİ, A. (1998). Ratlarda Oral Olarak Verilen Alkolün Serum, Karaciğer ve Böbrek GGT, ALT ve AST Aktiviteleri ile Serum Total Kolestrol ve Lipid Düzeylerine Etkileri. *Tr. J. Veterinary and Animal Sci.,* **22**: 181-185.

ÖZMEN, D., ERSÖZ, B., BAYINDAR, O., MENTEŞ, G., ERLAÇİN, S. (1988). Alkolizm ve Alkolik Karaciğer Sirosunda Gamma-Glutamil Transpeptidazın Değeri. *Ege Üniv. Tıp Fak. Derg*., **27**(3):821-825.

PANTEGHINI, M., BAIS, R. (2008). Enzymes. In: Tietz Fundamentales of Clinical Chemistry. 6th. ed., Eds.: Burtis, C.A., Ashwood, E. R., Bruns, D.E., Saunders Elsevier Company, USA, p:317-362.

PERFUMI, M., PANOCKA, I., CICCOCIOPPO, R., VITALI, D., FROLDI, R., MASI,M. (2001). Effects of a Methanolic Extract and a Hyperforin-Enrıched CO_2 Extract of Hypericum erforatum on Alcohol Intake in Rats. Alcohol&Alcoholism ,36(3):199-206.

PONNAPPA, B.C., RUBIN, E. (2000). Modeling Alcohol's Effects on Organs in Animal Models. *Alcohol Research & Health*, **24** (2):93-104.

POOPLE, A.R. (1986). Proteoglycans in Health and Disease: Structure and Functions. *Biochem. J*., **236**:1-4.

REDGRAVE, T.G. (2004). Chylomicron Metabolism. *Biochemical Society Transactions*, **32**:79-82.

ROJKIND, M., PENCE N.P. (1982). The Extracellular Matrix of The Liver. *Collagen Rel. Res.*, **2**:152-175.

ROJKIND, M., GIAMBRONE, M.A., BIEMPICA, L. (1979). Collagen Types in Normal and Cirrhotic Liver. *Gastroenterology*, **76**:710-719.

ROSMAN, A.S., LIEBER C.S. (1990). Biochemical markers of alcohol consumption. *Alcohol Health Res. World*, **14**: 208-218.

RUOSLATHI, E. (1988). Structure and Biology of Proteoglycans. *Annu. Rev. Cell Biol*., **4**:29-225.

SAĞLAM, M., AŞTI, R.N., ÖZER, A. (2001). Genel Histoloji. Genişletilmiş 6. baskı. Yorum Matbaacılık, Ankara.

SAMUELSON, D.A. (2007). Digestive System II, Glands, In:Textbook of Veterinary Histology, Saunder Elsevier St. Lous, USA, p: 353-370.

SARPHIE, T.G., D'SOUZA, N.B., SPITZER, J.J., DEACIUC, I.V. (1996). Chronic Alcohol Feeding in Liquid Diet or in Drinking Water Has Similar Effect on Electron Microscopic Appearance of the Hepatic Sinusoid in The Rat. *Alcohol. Clin. Exp. Res.,* **20**:6:973-979.

SARPHIE, T.G., DEACIUC, I.V., SPITZER, J.J., D'SOUZA, N.B. (1995). Liver Sinusoid During Chronic Alcohol Consumption in the Rat. An Electron Microscopic Study. *Alcohol Clin. Exp. Res*., **19**:2:291-298.

SATO, M., LIEBER, C.S. (1981). Hepatic Vitamin A Depletion after Chronic Ethanol Consumption in Baboons and Rats. *J. Nutr*., **111**:2015-2023.

STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES 16.0, (2007). SPSS İstatistiksel Analiz Programı.

SCHUPPAN, D. (1990). Structure of Extracellular Matrix in Normal And Fibrotic Liver: Collagens and Glycoproteins. *Seminars in Liver Disease*, **10**(1):4-10.

SEIFERT ,W.F., BOSMA, A., HENDRIKS, H.F.J., BLANER, W.S., LEEUWEN, R.E.W., THIEL-DE RUITER, G.C. F., WILSON, J.H.P., KNOOK, D.L., BROUWER, A. (1991). Chronic Administration of Ethanol with High Vitamin A Supplementation in A Liquid Diet to Rats Does Not Cause Liver Fibrosis. *J. Hepatol*., **13**:249-255.

SEITZ H.K. (2000). Alcohol and Retinoid Metabolism. *Gut*., **47**: 748-750.

SMITH M, DUESTER G, CARLOCK L, WASMUTH, J. (1985). Assigment of ADH1, ADH2, and ADH3 genes (class 1 ADH) to human chromosome 4q21-4q25 through the use of DNA probes. Cytogenet Cell Genet., **40**:748.

SONSUZ A. (2004). Yağlı Karaciğer Hastalığı. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri -Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi, **38**:171-180.

SONSUZ, A., CANER, M., GÜRAKAR, M. (1992). Fibrogenezisin Hücresel Temelleri ve Karaciğer Sirozu. *Cerrahpaşa Tıp Fak. Der*., **23**:79-85.

TALL, A.R. (1990). Plasma High Density Lipoproteins-Metabolism and Relationship to Atherogenesis. *J. Clin. Invest*., **86**:379-384.

TANYOLAÇ, A. (1999). Özel Histoloji. 3. baskı, Yorum Basımevi, Ankara.

TILLONEN, J. (2000). Ethanol, Acetaldehyde and Gastrointestinal Flora, Academic Dissertation, 2000, Research Unit of Alcohol Diseases University of Helsinki, Finland.

VANDERKERKEN, K., BOUWENS, L., VAN ROOIJEN, N., VAN DEN BERG, K., BAEKELAND, M. AND WISSE, E. (1995). The Rol of Kupffer Cells in The Differentiation Process of Hepatic Natural Killer Cells. *J. Hepatol*., **22**:283-290.

VENEABLE, J.H., COGGESHALL, R. (1965). A Simplified Lead Citrate Stain for Use in Electron Microscopy. *J. Cell Biol*., **25**: 407-408.

VERMIJLEN, D., LUO, D., FROELICH, C.J., MEDEMA, J.P., KUMMER, J.A., WILLEMS, E., BRAET, F., WISSE, E. (2002). Hepatic Natural Killer Cells Exclusively Kill Splenic/Blood Natural Killer-Resistant Tumor Cells by The Perforin/Granzyme Pathway. *J. Leukoc. Biol*., **72**:668-676.

VOET, D., VOET, J.G. (2004). Lipoproteins. In: Biochemistry. 3rd ed., Wiley John Wıley&Sons Inc., USA, p:439-455.

WAKE, K. (2004). Proceedings Karl Wilhelm Kupffer and His Contributions to Modern Hepatology. *Comparative Hepatol.*, **3**(suppl1):1-6.

WANG, B.Y., HUA, X., FU, B.Y., ZHANG, J., CAO, Y.X. (2005). Effects of Ethanol on Liver Sinusoidal Endothelial Cells-Fenestrae of Rats. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int*., **4**(3):422-426.

WHITFIELD, J.B., ZHU, G., HEATH, A.C., POWELL, L.W, MARTIN, N.G. (2001). Effects of Alcohol Consumption on Indices of Iron Stores and of Iron Stores on Alcohol Intake Markers. *Alcohol Clin. Exp. Res*., **25**: 1037-1045.

WISSE, E., ZANGER, R.B., CHARELS, S., SMISSEN, V.D., MC CUSKEY, R.S. (1985). The Liver Sieve. Considerations Concernin The Structure and Function of Endothelial Fenestrae, The Sinusoidal Wall and The Space of Disse. *J. Hepatol*., **5**:683-692.

WISSE, E., VAN'T NOORDENDE, J.M., VAN DER MEULEN, J., DAEMS, W.T.H. (1976). The Pit Cell: Description of a New Type of Cell Occuring in Rat Liver Sinusoids and Peripheral Blood. *Cell Tissue Res*., **173**:423-435.

YOU, M., CRABB D.W. (2004). Recent Advances in Alcoholic Liver Disease II. Minireview: Molecular Mechanisms of Alcoholic Fatty Liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol., 287*(1):G1-6.

ZUTPHEN, L.F.M., BAUMANS, V., BEYNEN, A.C. (2003). Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Çeviri Ed.: Tayfun İde, Özkan Matbacılık, Ankara.

GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARLARI

KARAR SAYISI : 07 / 37	**KARAR TARİHİ : 25 MAYIS 2007**

GATA K.lığı Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji AD Bşk.lığından Doç.Hv.Tbp.Yb.Emin ÖZTAŞ 'ın 02.04.2007 gün ve ETİK-2007/ 21 no'lu "Etanol'ün Karaciğer Parenşimi ve Vitamin A Depolanması Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskobik Olarak İncelenmesi" başlıklı deneysel araştırma projesinin etik başvurusu değerlendirilmiştir.

Araştırmadaki Deney Hayvanlarının Tür, Sayı ve kullanım amaçları projenin deney hayvanlarına ilişkin yönleri Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hayvan Deneyleri Etik Kurul Yönergesinin 5 inci maddesinin 3 bendinde belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" dikkate alınarak hazırlandığı saptanmıştır.

Yönergede belirtilen "Araştırıcının Sorumlulukları" ve "Hayvan Deneyleri ile İlgili İlkeler" ine uygun olarak hazırlanan proje Etik Kurul'un **25 MAYIS 2007 gün** ve **5 sayılı** toplantısında değerlendirilmiş ve çalışmanın **20 Adet Rat** ile yapılmasının hayvan etiği açısından uygun olduğu oy çokluğu-~~oy birliği~~ ile onaylanmıştır-~~onaylanmamıştır~~.

Ahmet SAYAL Prof.Dr.Ecz.Kd.Alb. Başkan	Cengiz BEYAN Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Üye
(KATILMADI) Osman EROĞUL Doç.Dr.Dz.Müh.Kd.Alb. Üye	Tayfun [illegible] Uzm.Vet.Hekim Kd.Alb. Üye
Hüseyin ÖLMEZ Doç.Dr.Diş.Tbp.Alb. Üye	(KATILMADI) Ersin ERDOĞAN Doç.Tbp.Alb. Üye
Mehmet AKANDIR Dr.Vet.Hekim Sivil Toplum Kuruluşu Dernek Üyesi	(KATILMADI) Rahşan ASLAN Svl. Üye

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı : Gonca
Soyadı : CİHAN
Doğum yeri ve tarihi : Ankara, 05.07.1980
Uyruğu : TC
Medeni Durumu : Evli
İletişim Adresi ve Telefonu :Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi-Histoloji-Enbriyoloji Anabilim Dalı, Dışkapı/ANKARA
Email : goncaoztap@hotmail.com
Tel : 0312 3170315/233
Cep tel : 05058475960

II. Eğitimi

Doktora : 2005-2010, Ankara ÜniversitesiSağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji-Embriyoloji Doktora Programı, Ankara.
Lisans :1998-2003, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
Ortaöğretim : 1997-1998, Mimar Sinan Lisesi, Ankara.
1994-1997, Alparslan Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi, Ankara.
1991-1994, Demetevler Ortaokulu, Ankara.
1986-1991, İsmail Erez İlkokulu, Ankara.
Yabancı Dil : İngilizce

III. Ünvanları

2003 : Veteriner Hekim.

IV. Mesleki Deneyim

2005 : Ankara Üniversitesi- Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevliliği,
2006 : Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Veteriner Hekim.

V. Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Tavukçuluk Derneği

VI. Yayınları

ÖZTAP, G. (2004). Çin'de Üretilen Geleneksel Yumurta Ürünleri-1000 Yıllık Yumurtalar. İnfovet Hayvan Sağlığı Sektörü Dergisi, Temmuz, 7:22-25

ÖZTAP, G. (2005). Pit Hücreleri. Veterinarium Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi,16(1):82-88.

ÖZTAP, G. (2007). Lipoprotein Metabolizması. Veterinarium Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi,18(1):81-87.

VII. Bilimsel Etkinlikler

1- National Renderers Association ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi işbirliği ile gerçekleştirilen 'Hayvansal Kökenli Proteinlerin Domuz Rasyonlarında Kullanılması' konulu seminer sunumu. Mayıs 2004, Ankara.

VIII. Katıldığı Bilimsel Eğitim, Kurs, Konferans ve Seminerler

1- III. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Araştırma Kongresi, 10-12 Mayıs 2001, İstanbul.
2- Ankara Üniversitesi Uluslararası Yaban Hayatı Koruma Sempozyumu, 15-19 Mayıs 2002, Ankara
3- Gastrointestinal Dagnostic-Mide ve bağırsak Hastalıkları Teşhis ve Tanı Semineri, 13 Mart 2004, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
4- 22. Dünya Tavukçuluk Kongresi ve Sergisi, 08-13 Haziran 2004, İstanbul.
5- Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Uygulamalı Hizmet İçi Eğitim Kursu, Polatlı TİM, 2007, Ankara.
6- Yemlerde Mikroskobik Analizler konulu Tarım ve Köyişleri Bakanlığı-AB TAIEX Ofisi tarafından düzenlenen eğitim. 13-17.07.2009, Ankara.
7- Türk Standartları Enstitüsü ISO 9000 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitim, İç Tetkik, Dökümantasyon, Proseslerin Yönetimi, Etkileşimi, ve İyileştirme Teknikleri Eğitimi. 09-20.11.2009, TSE, Ankara.
8- AB Yem Mevzuatları Eğitimi, 28-02-10.2009, Avrupa Komisyonu Sağlık ve Tüketiciyi Koruma Genel Müdürlüğü, Belçika.

IX. Seminerler

Pit hücreleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2006.

Lipoprotein Metabolizması, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2006.