



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARACİĞER FİBROZİS MODELİ: FARKLI
DOZLARDA NONYLPHENOL MARUZİYETİNİN
HEPATOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Parisa KAHEDİ ZADEH

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR- AĞUSTOS 2025



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARACİĞER FİBROZİS MODELİ: FARKLI
DOZLARDA NONYLPHENOL MARUZİYETİNİN
HEPATOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Parisa KAHEDİ ZADEH

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ

KIRŞEHİR- AĞUSTOS 2025

KABUL VE ONAY

“Karaciğer Fibrozis Modeli: Farklı Dozlarda Nonylphenol Maruziyetinin Hepatotoksik Etkilerinin İncelenmesi” adlı bu çalışma, 22 Ağustos 2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Histoloji vve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ (Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Prof.Dr. Nureddin CENGİZ
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Dr. Öğr.Üyesi Tülay MORTAŞ
Kırıkkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm. Bu tez, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TIP.A4.24.005nolu proje olarak desteklenmiştir.

Parisa KAHEDİ ZADEH

ÖNSÖZ

Tez çalışmam sürecinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sabırlı, anlayışlı ve pozitif yaklaşımıyla her zaman yanımda olan, akademik rehberliği ve desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KALKAN ve Dr. Öğr. Üyesi Ertan KATIRCI'ya, ayrıca Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nureddin CENGİZ'e ve çalışmalarımda bana akademik ve duygusal destek veren Araş. Gör. Nebahat İNCE'ye verdikleri destek için çok teşekkür ederim.

Bu süreçte beni her zaman motive eden, sabırla yanımda duran ve desteğini esirgemeyen aileme minnettarım. Araştırma sürecinde gönüllü olarak katkı sağlayan tüm katılımcılara da içten teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos 2025

Parisa KAHEDİ ZADE

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer	3
2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi	3
2.1.2. Karaciğerin Anatomik Yapısı	4
2.1.3. Karaciğerin Kan Dolaşımı	6
2.1. 4. Karaciğerin Lenfatik Dolaşımı.....	7
2.1.5. Karaciğerin Safra Yolları	9
2.1.6. Karaciğerin Histolojik Yapısı	10
2.1.6.2. Karaciğer Parankiması	12
2.1.7. Karaciğer Fizyolojisi.....	14
2.1.8. Karaciğerin Metabolik İşlevleri	15
2.2. Karaciğer Fibrozisi	17
2.2.1. Karaciğer Fibrozunun Etiyolojik Faktörleri.....	19
2.2.2. Karaciğer Fibrozunun Moleküler Mekanizmaları.....	20
2.3. Alkil Fenol Etoksilatlar	21
2.4. Nonilfenol	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Hayvan Deneyi ve Çalışma Düzeni.....	25
3.2. Histopatolojik Analizler	28
3.3. Karaciğer Histopatolojik Skorlama Yöntemi	29

3.4. İmmünohistokimya Boyama Yöntemi.....	29
3.5. Biyokimyasal Analizler	31
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR.....	54
EKLER	60
Ek-1: Etik Kurulu.....	60
ÖZGEÇMİŞ	62

SEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1: Deney gruplarına ait sıçanların 1. gün ve 16. gün ortalama vücut ağırlıklarının karşılaştırmalı bar grafiği. Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm SD) şeklinde değerlendirilmiştir. *; $p<0.05$, **; $p<0.01$; *** $p<0.001$31

Şekil 4.2: Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer ağırlıkları (g). Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm SD) şeklinde değerlendirilmiştir. *; $p<0.05$, **; $p<0.01$; *** $p<0.001$32

Şekil 4.3: Deney gruplarında karaciğer kesitleri H&E boyama. (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.) Kontrol grubu; karaciğer dokusu, normal hepatosit morfolojisi, düzenli hepatosit kordonları ve belirgin sinüzoidal yapılar. NP1 grubu; karaciğer dokusu, hepatositlerde hafif vakuolizasyon (sarı ok başı), sinüzoidal yapılarda düzensizlik (siyah ok). NP2 grubu; karaciğer dokusu, hepatositlerde belirgin vakuolizasyon ve sitoplazmik şişme (sarı ok başı), sinüzoidlerin düzeninin bozulduğu ve hücrel dejenerasyonun gözleendiği alanlar (sarı yıldız). NP3 grubu; karaciğer dokusu, yaygın hücrel hasar (siyah ok başı), yoğun vakuolizasyon, merkezi ven çevresinde fibrotik değişiklikler (sarı ok) ve karaciğer mimarisinde belirgin bozulma.....34

Şekil 4.4:Deney gruplarında karaciğer kesitleri MT boyama (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.). Kontrol grubu; karaciğer dokusu, normal kollajen dağılımı, fibrotik bulgu izlenmemekte. NP1 grubu; karaciğer dokusu, merkezi ven çevresinde hafif düzeyde kollajen birikimi (sarı ok). NP2 grubu; karaciğer dokusu, hepatosit kordonları arasında belirginleşen kollajen lifleri ve periportal fibrozis başlangıcı (sarı ok). NP3 grubu; karaciğer dokusu, yaygın kollajen birikimi, periportal ve perisinüzoidal bölgelerde ileri düzey fibrozis (sarı ok), karaciğer mimarisinde bozulma..36

Şekil 4.5: Karaciğer dokularına ait histopatolojik bulguların yarı kantitatif skorlama sonuçları (ortalama \pm SS). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$38

Şekil 4.6: Deney gruplarında karaciğer kesitleri TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonuna yönelik immünohistokimyasal boyama görüntüleri (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.).	39
Şekil 4.7: Deney gruplarında karaciğer kesitleri α -SMA ekspresyonuna yönelik immünohistokimyasal boyama görüntüleri (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.).	41
Şekil 4.8: Karaciğer dokularında TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA ekspresyonuna yönelik immünreaktivite düzeylerinin gruplara göre karşılaştırılması. Nonilfenol(NP) uygulanan gruplarda tüm belirteçlerde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.	43
Şekil 4.9: KC dokularına ait oksidatif stres seviyeleri MDA düzeyi ve SOD enzim aktivitesi istatistiksel analizi.	44

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1: Deney Grupları.....	25
Tablo 3.2: Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği	26
Tablo 3.3: Hematoksilen&Eozin ve Masson Trikrom Boyama Boyama Tekniği	27
Tablo 3.4: Karaciğer dokusunda histopatolojik skorlama tablosu	28
Tablo 3.5: İmmünohistokimya Boyama Metodu.....	29
Tablo 4.1: Nonylphenol uygulanan gruplarda karaciğer dokularında gözlenen histopatolojik bulguların skorlama değerleri	37

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	:	Açıklama
BMP	:	kemik morfojenetik protein
CTGF	:	Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
ECM	:	ekstraselüler matriks
ERCP	:	Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi
FGF	:	fibroblast büyüme faktörü
H&E	:	hematoksilen ve eozin
HGF	:	hepatosit büyüme faktörü
HSC	:	hepatik stellat hücreler
LSEC	:	Sinüzoidal endotelyal hücreler
MT	:	Masson trikrom
NP	:	nonilfenol
PAS	:	periyodik asit-Schiff
TGF- β	:	transforme edici büyüme faktörü- β
TIMPs	:	metalloproteinazlar
TLR-4	:	Tool benzeri reseptör 4
Treg'ler	:	Regülatör T hücreler
VEGF	:	vasküler endotelyal büyüme faktörü
α -SMA	:	Alfa düz aktin

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARACİĞER FİBROZİS MODELİ: FARKLI DOZLARDA NONYLPHENOL MARUZİYETİNİN HEPATOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Parisa KAHEDİ ZADEH

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ

Nonilfenol (NP), endüstriyel ve evsel ürünlerde yaygın olarak kullanılan, çevreye kolayca sızabilen ve endokrin bozucu etkileri ile bilinen bir kimyasaldır. Karaciğer, toksik maddelerin metabolizmasında merkezi rolü nedeniyle NP maruziyetinde öncelikli hedef organlardan biridir. NP maruziyeti, fibrozis gelişimi de dahil olmak üzere ciddi yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açabilmektedir.

Bu çalışma, farklı dozlarda NP maruziyetinin sıçanlarda karaciğer dokusu üzerindeki toksik etkilerini ve olası doz-bağımlı değişimleri değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Kontrol, sham, düşük doz (NP1), orta doz (NP2) ve yüksek doz (NP3) olmak üzere beş grup oluşturulmuştur. Deneyin 1. ve 16. günlerinde ölçülen vücut ağırlıkları değerlendirilmiş; kontrol grubunda anlamlı kilo artışı gözlenirken ($p<0,05$), yüksek doz NP3 grubunda anlamlı kilo kaybı saptanmıştır ($p<0,01$).

Deney sonunda organ ağırlıkları kaydedilmiş ve karaciğer ağırlıkları NP3 grubunda ($p<0,01$), ayrıca NP2 grubunda ($p<0,05$) kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmıştır. Histopatolojik incelemede, NP maruziyeti ile hepatosit dejenerasyonu, sinusoidal genişleme, portal bölgede inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrotik değişiklikler belirginleşmiştir. İmmünohistokimyasal analizler, NP uygulamasının karaciğer dokusunda TGF- β 1, TLR-4 ve

α -SMA ekspresyonlarını anlamlı düzeyde artırdığını göstermiştir. Özellikle TGF- β 1 ekspresyonu, tüm NP gruplarında kontrol ve sham gruplarına göre yüksek bulunmuş ($p<0,001$), TLR-4 ekspresyonu doz artışıyla paralel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0,001$). α -SMA ekspresyonu yalnızca NP2 ve NP3 gruplarında anlamlı şekilde artarken ($p<0,001$), doz-bağımlı artış hem NP1–NP3 hem de NP2–NP3 karşılaştırmalarında istatistiksel olarak desteklenmiştir ($p<0,001$).

Biyokimyasal değerlendirmelerde, malondialdehit (MDA) düzeylerinde anlamlı yükselme ($p<0,001$) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde belirgin azalma ($p<0,001$) gözlenmiştir. Elde edilen bulgular, nonilfenolün yüksek dozlarda oksidatif stres, inflamasyon ve fibrozis mekanizmalarını aktive ederek karaciğerde histopatolojik hasara neden olduğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, NP maruziyeti oksidatif strese bağlı organ toksisitesinde önemli bir risk faktörü olup, toksik etkinin doz ile arttığı sonucuna varılmıştır.

Ağustos 2025, 75 Sayfa.

Anahtar Kelimeler: nonilfenol, karaciğer, fibrozis, inflamasyon, toksisite

ABSTRACT

M. Sc. THESIS

LIVER FIBROSIS MODEL: INVESTIGATION OF THE HEPATOTOXIC EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF NONYLPHENOL EXPOSURE

Parisa KAHEDI ZADEH

Kırşehir Ahi Evran University

Institute of Health Sciences

Department of Histology and Embryology

Supervisor: Dr. Halime TOZAK YILDIZ

Nonylphenol (NP) is a widely used chemical in industrial and household products, known for its ability to easily leach into the environment and its endocrine-disrupting effects. The liver, being the central organ in the metabolism of toxic substances, is one of the primary targets in NP exposure. NP exposure can lead to severe structural and functional impairments, including the development of fibrosis.

This study was conducted to evaluate the toxic effects of different doses of NP exposure on rat liver tissue and examine possible dose-dependent changes. Five groups were formed: control, sham, low dose (NP1), medium dose (NP2), and high dose (NP3). Body weights were measured on days 1 and 16 of the experiment; significant weight gain was observed in the control group ($p<0.05$), whereas significant weight loss was detected in the high dose NP3 group ($p<0.01$).

At the end of the experiment, organ weights were recorded, with liver weights showing significant increases in the NP3 group ($p<0.01$) and NP2 group ($p<0.05$) compared to controls. Histopathological examination revealed that NP exposure caused hepatocyte degeneration, sinusoidal dilation, inflammatory cell infiltration in the portal area, and fibrotic changes. Immunohistochemical analyses demonstrated a significant increase in the

expression of TGF- β 1, TLR-4, and α -SMA in liver tissue following NP administration. Notably, TGF- β 1 expression was significantly higher in all NP groups compared to control and sham groups ($p < 0.001$), TLR-4 expression showed significant differences paralleling increasing NP doses ($p < 0.001$), and α -SMA expression was significantly elevated only in NP2 and NP3 groups ($p < 0.001$). Dose-dependent increases in α -SMA expression were statistically supported in NP1–NP3 and NP2–NP3 comparisons ($p < 0.001$).

Biochemical evaluations indicated a significant increase in malondialdehyde (MDA) levels ($p < 0.001$) and a marked decrease in superoxide dismutase (SOD) activities ($p < 0.001$). The findings reveal that nonylphenol activates oxidative stress, inflammation, and fibrosis pathways at high doses, resulting in histopathological damage in the liver.

In conclusion, NP exposure is an important risk factor in oxidative stress-related organ toxicity, with effects that increase in a dose-dependent manner.

August 2025, 75 Pages

Keywords: Nonylphenol, liver, fibrosis, inflammation, toxicity

1. GİRİŞ

Karaciğer, metabolizma, detoksifikasyon, hormon sentezi ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi gibi çok sayıda yaşamsal işlevi yürüten, homeostazın korunmasında merkezi rol oynayan bir organdır. Ancak bu kompleks fonksiyonları nedeniyle, çeşitli metabolik ve toksik saldırılara, patojen etkilerine ve dolaşım bozukluklarına karşı yüksek düzeyde savunmasızdır. Bu zararlı uyarılara karşı karaciğerde gelişen patolojik yanıtlardan biri olan fibrozis, kronik hücresel hasar ve inflamasyon sonucu hepatik stellat hücrelerin (HSC) aktivasyonu ile karakterizedir. HSC'lerin miyofibroblast benzeri fenotipe dönüşmesiyle başlayan bu süreç, ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin, özellikle tip I ve III kollajen gibi fibröz proteinlerin birikimiyle ilerler ve tedavi edilmediğinde siroz ve hepatoselüler karsinom gibi geri dönüşümsüz komplikasyonlara neden olabilir (1).

Endüstride yaygın olarak kullanılan kimyasallardan biri olan nonilfenol (NP), deterjan, plastik, pestisit ve kozmetik ürünlerde sıkça karşılaşılan ve çevrede kalıcı özellik gösteren bir organik kirleticidir. Yapısal olarak endokrin bozucu sınıfında yer alan NP; östrojen reseptörleri ile etkileşime girerek hormonal dengeyi bozmakta, üreme sistemi disfonksiyonu, oksidatif stres artışı ve hücresel hasar gibi çok yönlü biyolojik etkiler ortaya çıkarmaktadır. Nitekim, yapılan çalışmalar NP'nin karaciğer dokusu üzerinde toksik etkiler gösterdiğini, hepatosit dejenerasyonu, nekroz, lipid peroksidasyonu ve inflamasyon gibi patolojik süreçleri tetikleyebildiğini ortaya koymuştur (2).

Karaciğer fibrogenezinde transforming growth factor-beta (TGF- β), α -smooth muscle actin (α -SMA) ve Toll-like reseptör 4 (TLR4) gibi moleküler bileşenler merkezi rol oynamaktadır. TGF- β , HSC'leri aktive ederek α -SMA ekspresyonunu artırmakta, bu da miyofibroblast dönüşümünün ve kollajen sentezinin başlatılmasına aracılık etmektedir (3). Diğer yandan, çevresel toksinlerin neden olduğu immün yanıt ve hücresel stresle birlikte aktive olan TLR4 sinyal yolu, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) üzerinden proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α) salınımını uyarır. Bu sitokinler hem inflamatuvar yanıtı sürdürmekte hem de TGF- β üretimini artırarak HSC aktivasyonunu güçlendirmektedir (4). Dolayısıyla, NP maruziyeti

bu yolları aktive ederek fibrotik süreci doğrudan tetikleyen bir faktör olarak değerlendirilmektedir.

Karaciğerin rejeneratif kapasitesi yüksek olsa da kronik NP maruziyeti bu kapasiteyi aşarak patolojik ECM birikimine ve kalıcı doku hasarına yol açabilir. Fibrozisin ilerlemesi ile birlikte karaciğerin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü bozulur. Literatürde, NP'nin karaciğerde dejenerasyon, nekroz ve inflamasyona neden olarak fibrotik süreçleri tetikleyebileceği açıkça gösterilmiştir (5.).

Bu tez çalışması, mevcut literatüre katkı sağlamak amacıyla, farklı dozlarda nonilfenol (NP) maruziyetinin sıçan karaciğer dokusu üzerindeki etkilerini histopatolojik ve immünohistokimyasal düzeyde ayrıntılı olarak değerlendirmeyi; ayrıca NP'nin karaciğer fibrozisinin gelişimindeki potansiyel rolünü ortaya koymayı amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğerin Embriyolojisi

Karaciğer, embriyogenezin erken dönemlerinde gelişmeye başlayan ilk organlardan biridir. Hematopoez (kan hücresi üretimi), metabolizma, detoksifikasyon, protein sentezi ve safra üretimi gibi temel fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde merkezi bir rol üstlenen karaciğer, endoderm, mezoderm ve mezenkimal hücreler arasındaki etkileşimlerle şekillenir. Karaciğer, embriyonik ön bağırsak endoderminden köken alır. Gelişimin yaklaşık 3. haftasında, endoderm tabakası ile çevresindeki mezenkimal yapılar (özellikle notokord, vitellin venleri ve pariyetal mezoderm) arasındaki karşılıklı sinyal iletimi sonucunda karaciğer gelişimi başlar. Bu süreçte, FGF (fibroblast büyüme faktörü) ve BMP (kemik morfojenetik protein) gibi büyüme faktörleri kritik rol oynar. Endodermal hücreler proliferasyon göstererek karaciğer tomurcuğunu oluşturur ve transvers septuma doğru ilerler. Bu hücre hareket, hepatik endodermin mezenkimal hücrelerle etkileşimiyle düzenlenir. Karaciğer tomurcuğunun büyümesi sırasında, hepatoblastlar adı verilen öncül hücreler ortaya çıkar. Bu hücreler hem olgun hepatositlere hem de safra kanalı epitel hücrelerine (kolanjiyositlere) farklılaşma potansiyeline sahiptir (6). Gebeliğin dördüncü haftasında, hepatoblastlar vitellin venleri arasında yayılım göstererek karaciğerin primer damar ağını oluşturmaya başlar. Bu süreç, sinüzoidlerin şekillenmesini ve karaciğerin geçici bir hematopoetik organ haline gelmesini sağlar. Embriyonik dönemde karaciğer, eritrosit, lökosit ve trombosit üretiminden sorumludur. Bu hematopoetik aktivite, ikinci trimesterin sonlarına kadar devam eder ve daha sonra kemik iliği yapar (7). Beşinci haftada, karaciğerin lobüler yapılarının ilk morfolojik izleri belirginleşir. Hepatoblastlar, mezenkimal hücrelerle etkileşerek hücre plakları şeklinde organize olur. Bu plaklar, ilerleyen dönemde hepatik lobüllerin temelini oluşturur. Aynı zamanda, Notch, Wnt ve TGF- β sinyal yolları, hepatoblastların hepatositlere veya safra kanalı hücrelerine farklılaşmasını düzenler (8.). 6-8. haftalar arasında, portal venlerin çevresinde ilkel safra kanalları (ductal plate) şekillenir. Bu yapı, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde olgun safra kanal sistemine dönüşür. Safra

kanallarının gelişimi, HNF6, HNF1 β ve Sox9 gibi transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol edilir (9). Aynı süreçte, karaciğerdeki hematopoetik (kan yapıcı) aktivite giderek azalır ve bu görev kademeli olarak kemik iliğine devredilir. Bu geçişle birlikte, karaciğerin metabolik işlevleri belirginleşmeye başlar. Bu işlevler arasında plazma proteinlerinin (örneğin albümin) sentezi, besin maddelerinin depolanması ve zararlı bileşiklerin uzaklaştırılması (detoksifikasyon) yer alır. Üçüncü trimesterde, hepatositlerin olgunlaşması tamamlanır ve bu hücreler albümin, pıhtılaşma faktörleri ve metabolik enzimler sentezleme yeteneği kazanır. Ayrıca, VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) gibi moleküllerin etkisiyle sinüzoidal damar ağı yeniden yapılandırılır (10). Doğumdan sonra, göbek kordonu veninin kapanmasıyla karaciğerin kan akımı değişir. Portal ven ve hepatik arter, karaciğerin primer kan kaynakları haline gelir. Yenidoğan döneminde karaciğer, glikojen depolama, yağ metabolizması ve ilaç detoksifikasyonu gibi işlevleri üstlenir. Ayrıca, safra kanalları tam olarak işlevsel hale gelerek bilirubin atılımını sağlar (11). Karaciğer, yüksek rejenerasyon yeteneğine sahiptir. Hepatositler, parsiyel hepatektomi (karaciğerin bir kısmının cerrahi olarak çıkarılması) gibi durumlarda hızla çoğalarak kayıp dokuyu tamamlayabilir. Bu süreçte IL-6, TNF- α ve HGF (hepatosit büyüme faktörü) gibi sitokinler önemli rol oynar (12). Karaciğerin embriyolojik gelişimi, çok aşamalı ve dinamik bir süreçtir. Endodermal kökenli hepatoblastların farklılaşması, hematopoez, vaskülarizasyon ve metabolik işlevlerin kazanılması, genetik ve çevresel sinyallerin hassas düzenlenmesiyle gerçekleşir. Doğum sonrasında ise karaciğer, metabolik homeostazın sürdürülmesinde kritik bir organ haline gelir (13).

2.1.2. Karaciğerin Anatomik Yapısı

Karaciğer, insan vücudundaki en büyük iç organ olup, yaklaşık 1200-1500 gram ağırlığındadır. Sağ hipokondriyak bölgede, diyaframın hemen altında ve abdominal boşluğun üst kısmında yer alır. Anatomik olarak iki ana loba (lobus hepatis dexter ve lobus hepatis sinister) ayrılır ve bu loblar, falciform ligament ile birbirinden ayrılır. Karaciğerin yüzeyi, Glisson kapsülü adı verilen fibröz bir bağ doku tabakası ile çevrilidir. Bu kapsül, organın korunmasına ve şeklinin muhafaza edilmesine yardımcı olur (10). Karaciğerin sağ lobu, sol loba göre daha büyüktür ve quadrat lob (lobus quadratus) ile kaudat lob (lobus caudatus) gibi alt bölümleri içerir. Bu lobüller, hepatik segmentlere ayrılmıştır ve her biri kendi vasküler yapısına sahiptir. Couinaud sınıflandırmasına göre karaciğer, sekiz

fonksiyonel segmente ayrılır. Bu segmentler, cerrahi müdahalelerde önemli bir rehber görevi görür (14).

Karaciğer, çeşitli ek peritoneal kıvrımlar (ligamentöz yapılar) aracılığıyla çevre anatomik yapılara bağlanır. Bu ligamentler, hem karaciğerin anatomik konumunun korunmasını sağlar hem de belirli vasküler ve safra yapılarının geçtiği anatomik geçitleri oluşturur. Karaciğer ile mide arasındaki bağlantıyı sağlayan ligamentum hepatogastricum, omentum minus'un bir parçası olup, karaciğerin sol lobu ile küçük kurvatura arasında uzanır. Benzer şekilde, ligamentum hepatoduodenale, karaciğeri duodenuma bağlar ve içerisinde vena porta hepatis, arteria hepatica propria ve ductus choledochus gibi önemli yapıları taşır. Bu yapı, omentum minus'un serbest kenarını oluşturur ve Foramen omentale'nin (Winslow açıklığı) ön sınırını belirler (15). Ligamentum falciforme hepatis, karaciğerin ön yüzeyini karın duvarına bağlayan bir peritoneal katlantıdır. Sağ ve sol lobları yüzeysel olarak ayıran bu ligamentin serbest kenarında, fetal dönemde umbilikal ven olarak işlev gören ligamentum teres hepatis bulunur. Karaciğerin üst yüzeyindeki koroner ligamentler, diyaframa tutunmasını sağlayan geniş peritoneal yansımalar oluşturur. Anterior ve posterior olmak üzere iki bölüme ayrılan koroner ligamentler arasında kalan area nuda, peritonsuz bir bölge olup diyaframla doğrudan temas hâlinindedir. Bu durum, potansiyel enfeksiyon yayılımı açısından klinik açıdan önem taşır. Sağ ve sol üçgen ligamentler, koroner ligamentlerin lateral uçlarının birleşmesiyle oluşarak karaciğerin diyaframa tutunmasını destekler (16).

Karaciğerin dış yüzeyleri anatomik olarak diyafragmatik yüzey ve visseral yüzey olarak iki ana bölüme ayrılır. Diyafragmatik yüzey, karaciğerin ön, üst ve arka bölümlerini kapsar. Düzgün, kubbe biçimli bir yapıya sahiptir ve diyaframın alt yüzeyi ile yakın anatomik komşuluk içindedir. Bu yüzey, aynı zamanda subfrenik boşluk (spatium subphrenicum) ile ilişkilidir. Subfrenik boşluk, karaciğerin diyafragmatik yüzeyi ile diyafram arasında yer alır ve ligamentum falciforme aracılığıyla sağ ve sol bölümlere ayrılır. Bu boşluk, peritonun üst kısmında bulunur ve klinikte subfrenik apse gibi patolojilerin değerlendirilmesinde önem taşır. Diyafragmatik yüzeyin anterior komşulukları şunlardır: diyafram, sağ ve sol kostal kenarlar, sağ ve sol plevra zarları, sağ ve sol akciğerlerin alt lobları, ksifoid çıkıntı (processus xiphoideus) ve ön abdominal duvar yapılarıdır (17). Visseral yüzey, karaciğerin alt ve arka kısmında yer alır ve düzensiz bir yapıdadır. Bu yüzey, çeşitli organlarla yakın ilişki içindedir. Hepatorenal boşluk (recessus hepatorenalis veya Morison aralığı), karaciğerin sağ lobu, sağ böbrek ve sağ adrenal bez arasında bulunur. Peritoneal kavitenin en derin bölgelerinden biri olan bu boşluk, klinik pratikte seröz sıvı birikimlerinin (kan, asit, enfeksiyöz sıvı)

değerlendirilmesinde kritik öneme sahiptir. Özellikle travma sonrası intraperitoneal kanama ve sirotik asit gibi durumlarda bu bölge ultrasonografi (FAST protokolü) ve bilgisayarlı tomografi (BT) ile sıklıkla incelenir (10).

2.1.3. Karaciğerin Kan Dolaşımı

Karaciğer, vücutta çift kan kaynağına sahip ender organlardan biridir ve bu özelliği onu metabolik süreçlerde merkezi bir konuma yerleştirir. Organ portal ven (vena porta hepatis) ve hepatic arter (arteria hepatica propria) aracılığıyla kanlanır. Portal ven, sindirim sisteminin (bağırsaklar, dalak, pankreas) venöz drenajını toplayarak karaciğere besin açısından zengin ancak oksijen bakımından nispeten fakir kan getirir. Bu kan, emilen besin maddeleri, hormonlar ve bağırsaktan absorbe edilen potansiyel toksinleri içerir. Hepatic arter ise sistemik dolaşımdan gelen oksijen bakımından zengin kanı sağlar (18). Bu iki damar sistemi, karaciğer parankimi içinde birbirleriyle anastomoz yaparak sinüzoid adı verilen özel kapiller yapıları oluşturur. Sinüzoidler, normal kapillerlerden farklı olarak düzensiz genişlikte ve fenestratalı (pencereli) endotel hücreleriyle döşelidir. Bu yapı, hepatositler ile kan arasında yoğun madde alışverişine olanak tanır. Sinüzoidlerin duvarında ayrıca Kupffer hücreleri bulunur; monositlerden köken alan bu makrofajlar bağışıklık savunmasında ve yaşlanmış eritrositlerin yıkımında görev alır (19). Karaciğerdeki kan akımının yaklaşık %75'i portal ven, %25'i ise hepatic arter kaynaklıdır. Ancak oksijen sağlanması açısından bakıldığında, hepatic arter total oksijenin yaklaşık %50'sini temin eder. Bu dolaşım modeli, karaciğerin hem besin metabolizması hem de detoksifikasyon işlevleri için optimize edilmiştir (20). Kan, sinüzoidlerden geçtikten sonra santral venlere, oradan da hepatic venlere drene olur ve sonunda inferior vena kava yoluyla sistemik dolaşıma katılır.

Sinüzoidal dolaşım sistemi, hepatic lobül adı verilen fonksiyonel birimler içinde organize olmuştur. Klasik lobül modelinde, merkezde santral ven bulunur ve çevresinde portal alanlar (hepatic arter, portal ven ve safra kanalı dalları) yer alır. Hepatosit kordonları radyal şekilde düzenlenmiş olup, sinüzoidler bu kordonlar arasında yerleşim gösterir (21). Sinüzoidlerin endotel hücreleri, diğer vasküler yapılardan farklı olarak bazal lamina içermez ve %50-60 oranında fenestrasyon gösterir. Bu yapısal özellikler, makromoleküllerin ve lipoproteinlerin hepatositlere kolayca geçişine izin verir. Sinüzoidal lümen ile hepatositler arasında yer alan Disse aralığında (perisinusoidal boşluk) hepatic stellate hücreleri (Ito hücreleri) yer alır. Bu hücreler vitamin A depolamasında ve fibröz doku sentezinde görev alır (22). Karaciğerin dolaşım sistemi, çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda adaptasyon gösterebilir. Örneğin,

portal venöz akımın azaldığı durumlarda (portal hipertansiyon gibi), hepatik arter akımı kompanzatri olarak artabilir (hepatik arter buffer yanıtı). Benzer şekilde, hepatik arter tıkanıklıklarında portal ven akımı artarak doku perfüzyonunu sürdürmeye çalışır (23).

2.1.4. Karaciğerin Lenfatik Dolaşımı

Karaciğer, vücuttaki toplam lenf üretiminin yaklaşık %25-50'sini gerçekleştirerek bu alanda diğer tüm organlardan daha fazla katkı sağlar. Bu olağanüstü kapasite, organın özel anatomik yapısı ve işlevsel özellikleriyle yakından ilişkilidir. Karaciğerin lenfatik sistemi; özelleşmiş lenf damarları, geniş interstisyel boşluklar ve sinüzoidal porlar gibi bileşenlerden oluşan karmaşık bir ağ yapısına sahiptir. Bu sistem, endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve hepatik stellat hücreleri ile fonksiyonel bir iş birliği içinde çalışarak hem sıvı dengesinin düzenlenmesine hem de immünolojik süreçlerin yönetimine katkıda bulunur. Karaciğerden drene olan lenf sıvısı; yüksek konsantrasyonda plazma proteinleri, lipoproteinler, büyüme faktörleri, toksik metabolitler ve ölü hücreler içerir. Bu sıvının temel oluşum yeri, hepatik sinüzoidler ile parankimal hücreler arasındaki Disse boşluğudur. Bu özel bölgede, geniş porlara sahip endotel hücrelerinin plazma filtrasyonu sayesinde sıvı interstisyel boşluğa sızar ve sonunda karaciğerin lenfatik damar ağına ulaşır (10).

Karaciğerin lenfatik damar sistemi, yapısal ve fonksiyonel olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Birinci grup olan yüzeysel lenfatik sistem, karaciğerin Glisson kapsülünün hemen altında yerleşim gösterir ve bu kapsülde bulunan mikroskobik porlar aracılığıyla lenf sıvısını ekstrahepatik lenf damarlarına boşaltır. İkinci grup ise derin lenfatik sistem olarak adlandırılır ve karaciğer parankimi içerisinde dağılım göstererek Disse boşluğundan lenfi toplama görevini üstlenir. Bu sistem, topladığı lenfi daha büyük çaplı lenf damarlarına aktararak dolaşıma katılımını sağlar. İki sistem arasında anatomik bağlantılar mevcuttur ve bu bağlantılar sayesinde lenf üretimi ile drenajı arasında dinamik bir denge korunur. Lenf akışının düzenlenmesinde çeşitli fizyolojik faktörler rol oynar. Bunlar arasında Disse boşluğu ile lenf damarları arasındaki basınç gradyanı, hepatik sinüzoidlerin periyodik kasılmaları, hidrostatik basınç değişimleri ve sempatik sinir sisteminin modülatör etkileri sayılabilir. Lenf oluşum mekanizması temel olarak sinüzoidal hidrostatik basınç ve endotel hücrelerinin seçici geçirgenlik özellikleri tarafından belirlenir. Fizyolojik şartlarda hepatik sinüzoidal basınç 5-10 mmHg aralığında seyrederek ve bu basıncın patolojik düzeylere çıkması durumunda plazma filtrasyon hızı ile lenf üretiminde belirgin artışlar gözlenir. Sinüzoidal endotelde bulunan fenestral yapılar, plazma proteinlerinin Disse boşluğuna geçişine izin

verir. Bu boşlukta bulunan hepatik stellat hücreleri, geçen proteinlerle etkileşerek ozmotik dengenin korunmasına katkıda bulunur. Lenf sıvısının bir bölümü konveksiyonel akım yoluyla küçük çaplı lenfatik kapillerlere, oradan da progresif olarak daha büyük lenf damarlarına ve sonunda venöz dolaşıma katılır (15).

Karaciğer lenfatik sisteminin drenaj yolları anatomik olarak dört ana grupta incelenebilir: superior, inferior, portal ve posterior yollar. Superior yol diyafragma alt yüzeyindeki lenf nodlarına, inferior yol karaciğer hilusuna, portal yol mide komşuluğundaki lenf nodlarına, posterior yol ise paraaortik lenf nodlarına drenaj sağlar. Bu kompleks drenaj ağı, karaciğerin hem metabolik hem de immünolojik fonksiyonlarında kritik rol oynar. Superior yol özellikle karaciğerin diyafragmatik yüzeyinden kaynaklanan lenfin drene edilmesinden sorumludur ve buradaki lenf nodları torasik duktus ile bağlantılıdır. Inferior yol ise daha çok visseral yüzey lenfatiklerini toplar ve hepatik pedikül içerisinde seyrederek. Portal yolun klinik önemi, portal hipertansiyon durumlarında belirgin şekilde artar çünkü bu durumda portal lenf akımı önemli ölçüde artış gösterir. Posterior yolun paraaortik lenf nodlarıyla olan bağlantısı, karaciğerin posterior segmentlerinin lenfatik drenajında özel bir önem taşır. Lenfatik drenajın bu çok yönlü yapısı, karaciğerde gelişen malignitelerin metastatik yayılım paternlerini anlamak açısından da büyük önem arz eder. Örneğin hepatosellüler karsinom vakalarında tümör hücrelerinin lenfatik yolla yayılımı sıklıkla bu anatomik yolları takip eder. Benzer şekilde, karaciğer transplantasyonu sonrası lenfatik rekonstrüksiyonun başarısı da bu anatomik bilgilere dayanarak planlanır. Karaciğer lenfatik sisteminin anlaşılması, portal hipertansiyonun komplikasyonları olan asit ve hepatik hidrotoraks gibi durumların patogenezinin aydınlatılmasında da anahtar rol oynar. Ayrıca, karaciğer fibrozisi sürecinde lenfatik sistemde meydana gelen değişiklikler, hastalığın progresyonunu ve komplikasyonların gelişimini doğrudan etkileyebilir (24).

Karaciğerin lenfatik sistemi, vücutta sıvı homeostazının sağlanması, immün yanıtların düzenlenmesi ve metabolik süreçlerin kontrolünde hayati bir rol oynayan kompleks bir ağıdır. Bu sistemin işleyişi, sinüzoidal hidrostatik basınç, endotel hücrelerinin seçici geçirgenliği, lenfatik otoregülasyon mekanizmaları ve çoklu drenaj yolları arasındaki dinamik etkileşimlerle düzenlenir. Fizyolojik koşullarda bu hassas dengenin korunması, karaciğerin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için kritik önem taşır. Lenfatik sistemdeki bozukluklar çeşitli patolojik durumlarla ilişkilendirilir. Sirozda artmış lenf üretimi, portal hipertansiyonun karakteristik bir bulgusudur ve karın boşluğunda asit birikimine yol açar. Kalp yetmezliğinde görülen hepatik venöz konjesyon, lenfatik drenaj kapasitesini aşarak

karaciğerde sıvı retansiyonuna neden olur. Malign karaciğer hastalıklarında lenfatik tıkanıklıklar ise hem organ yetmezliğine katkıda bulunur hem de tümör hücrelerinin metastatik yayılımı için alternatif bir yol oluşturur. Bu patolojik süreçler, lenfatik sistemin karaciğer sağlığındaki merkezi rolünü açıkça ortaya koymaktadır (25).

2.1.5. Karaciğerin Safra Yolları

Karaciğerin metabolik fonksiyonları arasında en kritik olanlardan biri, hepatositler tarafından safra üretimi ve salgılanmasıdır. Bu kompleks süreç, karaciğerin fonksiyonel birimi olan lobüllerin içinde başlar ve hepatositlerin apikal membranlarında bulunan özelleşmiş taşıyıcı proteinler (BSEP, MDR3 gibi) aracılığıyla gerçekleşir. Safra kanalikülleri, hepatositlerin yaklaşık %60'lık yüzey alanını oluşturan ve komşu hücre membranları arasında yer alan mikroskobik yapılardır. Bu kanaliküller birleşerek önce Hering kanallarını, ardından intralobüler/interlobüler safra kanallarını, septal/segmental safra kanallarını, lobar safra kanallarını ve son olarak da sağ ve sol hepatik duktus safra kanallarını oluşturur. Ekstrahepatik safra yolları ise sağ ve sol hepatik kanalların birleşmesiyle oluşan ductus hepaticus communis (1-3 cm uzunluğunda) ile başlar. Bu ana kanal, safra kesesinden gelen ductus cysticus (2-4 cm) ile birleşerek ductus choledochus'u (7-11 cm) meydana getirir. Ortak safra kanalı, pankreas kanalı (Wirsung) ile birlikte duodenumun ikinci kısmında bulunan Vater ampullasında sonlanır. Bu bölgede yer alan Oddi sfinkteri, üç anatomik bileşenden oluşur: kanal sfinkteri (safra akışını kontrol eder), ampuller sfinkter (reflüyü önler) ve pankreatik sfinkter (pankreas sekresyonunu düzenler). Safranın duodenuma geçişi, kolesistokinin (CCK) hormonunun safra kesesi kasılmasını uyarması ve vagus siniri aracılığıyla Oddi sfinkterinin gevşemesiyle düzenlenir. Bu süreçte sirkadiyen ritimler de önemli rol oynar; safra üretimi ve salgılanması günün farklı saatlerinde değişiklik gösterir (26).

Safra üretimi ve salgılanması, karaciğerin temel fonksiyonlarından biridir ve günde 600-1000 ml safra üretilir. Hepatik safranın bileşimi yaklaşık %97 su, %1 safra tuzları, % 0,7 bilirubin ve diğer bileşenlerden oluşur. Safra tuzlarının enteropatik dolaşımı, günde 6-8 kez tekrarlanan bir süreçtir ve safra tuzlarının %95'i terminal ileumda geri emilerek karaciğere döner. Oddi sfinkterinin bazal basıncı 10-15 mmHg arasındadır ve yemek sonrası 5 mmHg'nin altına düşerek safra akışına izin verir. Bu karmaşık sistemde meydana gelebilecek herhangi bir bozukluk, çeşitli patolojik durumlara yol açabilir. Safra yolu obstrüksiyonları, hiperbilirubinemiye ve sarılığa neden olurken, primer biliyer kolanjit gibi otoimmün

hastalıklar safra kanallarının progresif yıkımına yol açar. Koledokolitiazis (safra taşı tıkanıklığı), en sık görülen safra yolu hastalıklarından biridir ve Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi (ERCP) gibi tanı/tedavi yöntemleriyle müdahale gerektirebilir. Safra sisteminin anatomik bilgisi, bu tıbbi girişimlerin başarısı için kritik öneme sahiptir. Özellikle karaciğer transplantasyonlarında safra yollarının doğru rekonstrüksiyonu, greft sağkalımını doğrudan etkileyen faktörlerden biridir. Safra sisteminin işleyişini anlamak hem fizyolojik süreçlerin hem de patolojik durumların kavranması açısından büyük önem taşır (27).

2.1.6. Karaciğerin Histolojik Yapısı

2.1.6.1. Karaciğer Stroması

Karaciğer stroması, organın parankimal dokusunu destekleyen ve fonksiyonel bir iskelet görevi gören kompleks bir bağ dokusu sistemidir. Bu yapı, mezenkimal hücreler, fibroblastlar, hepatik stellat hücreler (HSC'ler), sinüzoidal endotelyal hücreler (LSEC'ler) ve Kupffer makrofajları gibi çeşitli hücre popülasyonlarını içerir. Stromal yapı, tip I, III ve IV kolajenler, fibronektin, laminin gibi yapısal proteinler ile heparan sülfat ve kondroitin sülfat gibi glikozaminoglikanlardan oluşan zengin bir hücre dışı matriks (ECM) ile desteklenir. Karaciğer stroması yalnızca fiziksel destek sağlamakla kalmaz, aynı zamanda hepatositlerin ve safra kanallarının gelişimi, rejenerasyonu ve fonksiyonel düzenlenmesinde aktif rol oynar. Stromal hücreler arasındaki kompleks sinyal ağları, karaciğerin homeostazının korunmasında kritik öneme sahiptir. Özellikle stellat hücreler, normal koşullarda A vitamini depolarken, karaciğer hasarı durumunda aktive olarak ECM üretimini artırır ve fibrotik süreçleri başlatır. Sinüzoidal endotelyal hücreler ise fenestre yapıları sayesinde hepatositler ile kan arasındaki madde alışverişini düzenlerken, Kupffer hücreleri immün yanıtın modülasyonunda önemli görevler üstlenir (28).

Yetişkin karaciğerinde stroma, ECM ile entegre olmuş destek hücrelerinin organize bir ağı şeklinde yapılıdır. Fibroblastlar, tip I ve III kollajen üreterek karaciğerin mekanik bütünlüğünü korurken, hepatik stellat hücreleri normal fizyolojik koşullarda A vitamini depolama görevi üstlenir. Sinüzoidal endotelyal hücreler, %50-60'lık fenestrasyon oranlarıyla kapiller basıncın düzenlenmesinde ve kan-hepatosit arasındaki madde alışverişinin sağlanmasında kritik rol oynar. Kupffer hücreleri ise karaciğerin resident makrofajları olarak görev yapar, toksinleri temizler ve TNF- α , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak stromal hücre aktivasyonunu modüle eder. Karaciğer stromasının

ECM bileşimi, hücrel sinyal yollarını etkileyerek hem rejeneratif süreçleri hem de fibrotik yanıtları düzenler. Özellikle laminin ve tip IV kollajenden oluşan bazal membran benzeri yapılar, hepatik lobüllerin organizasyonunda önemli görevler üstlenir. Stromal matriks ayrıca büyüme faktörlerini bağlayarak bunların kontrollü salınımını sağlar ve hücre proliferasyonu ile farklılaşmasını düzenler. Bu kompleks yapı, karaciğerin rejeneratif kapasitesinin korunmasında ve homeostazın sürdürülmesinde merkezi bir role sahiptir (29).

Karaciğer stromasında meydana gelen patolojik değişiklikler, çeşitli klinik tabloların gelişimine yol açar. Siroz gibi kronik karaciğer hastalıklarında ECM üretim ve yıkım dengesinin bozulması sonucu aşırı kolajen birikimi görülür. Bu durum dokunun elastikiyetini azaltarak portal hipertansiyon ve vasküler tıkanıklıklara neden olur. İskemik hasarlarda, stellat hücreler tarafından salgılanan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyogenezi ve neovaskülarizasyonu uyararak doku onarım sürecini başlatır. Yaşlanmayla birlikte ECM üretimindeki azalma ve oksidatif stresin artması, karaciğerin rejeneratif kapasitesini düşürür ve fibroze yatkınlığı artırır. Hepatosellüler karsinom gibi malignitelere ise tümör mikroçevresindeki aşırı ECM üretimi, kanser hücrelerinin büyümesini, invazyonunu ve metastatik yayılımını destekler. Stromal hücreler tarafından salgılanan transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi moleküller hem fibrotik süreçleri hem de tümör progresyonunu tetikleyebilir. Bu nedenle, karaciğer stromasının patolojik değişimlerinin anlaşılması, kronik karaciğer hastalıklarının ve hepatosellüler karsinomun tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşır. Stromal hedefli terapötik yaklaşımlar, gelecekte karaciğer fibrozu ve kanser tedavisinde umut vaat eden seçenekler olarak görülmektedir (30).

2.1.6.2. Karaciğer Parankiması

Karaciğer parankiması, vücudun metabolik, detoksifikasyon, depolama ve immün düzenleme işlevlerini üstlenen kompleks bir hücrel yapıdır. Bu yapı, temel olarak hepatositler, Kupffer hücreleri, hepatik stellat hücreler ve sinüzoidal endotelial hücreler gibi özelleşmiş hücre popülasyonlarından oluşur. Karaciğer yapısının ve fonksiyonunun anlaşılmasında en fazla kabul gören hepatik lobül merkezi bir venle karakterize altıgen şekilli yapılar şeklinde organize olmuştur. Lobüllerin çevresinde portal triad adı verilen ve portal ven dalı, hepatik arter dalı ile interlobüler safra kanalından oluşan özel bir yapı bulunur. Portal ven ve hepatik arterden gelen kan, hepatik sinüzoidlere ulaşarak hepatosit plakaları arasında ilerler ve sonunda merkezi vene boşaltılır. Bu merkezi venler birleşerek

hepatik venleri oluşturur ve kanı inferior vena kavaya taşır. Karaciğerin bu özel vasküler organizasyonu, hepatositlerin kanla maksimum temas yüzeyine sahip olmasını sağlayarak metabolik işlevlerin verimli şekilde yürütülmesine olanak tanır. Hepatositler, karaciğer parankimasının en önemli hücreleri olup granüler sitoplazmaları, büyük ve sıklıkla çift çekirdekleri, gelişmiş granüllü ve düz endoplazmik retikulumları ile aktif Golgi aygıtlarıyla dikkat çeker. Bu hücreler protein, yağ ve karbonhidrat metabolizması, safra üretimi ve salgılanması, vitamin ve mineral depolanması, ilaç ve toksin detoksifikasyonu ile albümin, fibrinojen ve protrombin gibi plazma proteinlerinin sentezinden sorumludur. Hepatositlerin bazal yüzeyleri sinüzoidler ve Disse boşluğuyla temas halindeyken, apikal yüzeyleri safra kanaliküllerine açılarak safranın taşınmasını sağlar (10).

Karaciğer parankiması, hepatositlerin yanı sıra çeşitli özelleşmiş hücre tiplerini de içerir. Sinüzoidal endotel hücreler, %50-60 oranında fenestrasyon içeren özel yapıları sayesinde makromoleküllerin serbest geçişine izin verir ve hepatositlerle kan arasındaki madde alışverişini kolaylaştırır. Kupffer hücreleri, karaciğerin resident makrofajları olarak görev yapar ve retikuloendotelial sistemin önemli bir bileşenidir. Bu hücreler patojenleri, yaşlanmış eritrositleri ve hücrel enkazı fagosite ederek doğuştan bağışıklık yanıtında kritik rol oynar. Hepatik stellat (Ito) hücreleri ise Disse boşluğunda yerleşmiş olup normal fizyolojik koşullarda A vitamini depolama görevi üstlenir. Ancak karaciğer hasarı durumunda aktive olarak miyofibroblast benzeri bir fenotip kazanır ve ekstraselüler matriks (ECM) üretimiyle fibrotik süreçleri başlatır. Safra kanalları, Hering kanalları ile başlayan ve progresif olarak daha büyük yapılara dönüşen bir sistem oluşturur. Portal triad içinde hepatik arter, portal ven ve safra kanalları birlikte organize olmuş durumdadır. Ayrıca, Disse boşluğundaki sıvı lenfatik sisteme boşalarak vücudun total lenf yükünün önemli bir kısmını oluşturur. Bu lenfatik drenaj, karaciğerin interstisyel basıncının düzenlenmesinde ve proteinlerin sistemik dolaşıma geri kazandırılmasında önemli rol oynar. Karaciğerin bu kompleks hücrel organizasyonu, organın çok yönlü fonksiyonlarının yerine getirilmesine olanak sağlar. Özellikle hepatositler ile diğer hücre tipleri arasındaki parakrin ve otokrin sinyalizasyon mekanizmaları, karaciğer homeostazının korunmasında kritik öneme sahiptir (31).

Karaciğerde meydana gelen patolojik süreçler, organın histolojik yapısında karakteristik değişikliklere yol açar. Karaciğer sirozu, kronik hepatit, steatohepatit ve yağlı karaciğer hastalığı gibi durumlarda, normal lobüler yapı bozularak yerini fibrozis, rejeneratif nodüller ve damar tıkanıklıklarına bırakır. Sürekli hasar (alkol tüketimi, viral hepatit, steatozis gibi)

sonucu rejenerasyon kapasitesinin aşılması, fibrotik süreçlerin hakimiyetine ve sonunda siroz gelişimine neden olur. Sinüzoidal yapının bozulması portal hipertansiyona yol açarken, hepatositlerde görülen yağ birikimi (steatoz) nekroz veya apoptozla sonuçlanabilir. Bu patolojik değişiklikler sırasında ortaya çıkan hücresel enkaz, Kupffer hücreleri tarafından temizlenerek inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine katkı sağlar. Karaciğer patolojilerinin histolojik değerlendirilmesinde H&E (hematoksilen ve eozin), PAS (periyodik asit-Schiff), Masson trikrom ve retikülin boyamaları gibi özel teknikler kullanılır. H&E boyası genel histolojik yapıyı değerlendirmek için standart yöntem iken, PAS glikojen ve bazı glikoproteinlerin gösterilmesinde, Masson trikrom fibrozis derecesinin belirlenmesinde, retikülin ise lobüler arşitektürün değerlendirilmesinde kullanılır. Son yıllarda geliştirilen parenchymal augmentation teknikleri, karaciğerin rejeneratif kapasitesini artırmayı ve cerrahi girişimlerin başarısını yükseltmeyi hedeflemektedir. Bu teknikler özellikle geniş karaciğer rezeksiyonları ve parsiyel karaciğer transplantasyonlarında umut vaat eden yaklaşımlar olarak görülmektedir. Karaciğer histopatolojisinin detaylı şekilde anlaşılması, tanısal doğruluğun artırılması ve hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (32).

2.1.7. Karaciğer Fizyolojisi

İnsan vücudunun en kompleks organlarından biri olan karaciğer, 500'ün üzerinde farklı fizyolojik işlevi yerine getirir. Bu organın temel görevleri arasında ilaç ve toksin detoksifikasyonu, eritrosit yıkım ürünlerinin safra yoluyla atılımı, pıhtılaşma faktörleri sentezi, glikojen depolanması ile karbonhidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesi sayılabilir. Karaciğer aynı zamanda yağ emiliminde kritik rol oynayan safra asitlerini üretir ve portal dolaşım yoluyla gelen besinlerdeki mikroorganizmalara karşı immünolojik bir bariyer görevi görür. Tüm bu fonksiyonlar, karaciğerin parankimal hücreleri olan hepatositler tarafından gerçekleştirilir. Günümüz tıp teknolojisi, karaciğerin tüm işlevlerini taklit edebilen yapay bir organ veya cihaz geliştirmekten uzaktır; karaciğer yetmezliği durumlarında sadece sınırlı fonksiyonlar diyaliz benzeri yöntemlerle desteklenebilmektedir. Karaciğerin bu eşsiz kapasitesi, yüksek derecede organize metabolik yollara sahip hepatositlerin, diğer organ sistemleriyle kurduğu kompleks etkileşimler sayesinde. Özellikle enterik dolaşım ile gelen besin maddelerinin ilk karşılaştığı organ olması, karaciğere metabolik homeostazın merkezi olma özelliği kazandırır. Bu nedenle karaciğer

fonksiyonlarının bozulması, tüm vücut metabolizmasında ciddi aksamalara yol açabilir (33).

Karaciğer hücreleri, vücudun en yoğun metabolik aktiviteye sahip dokusunu oluşturur ve birbirine bağlı kompleks kimyasal ağlarla donatılmıştır. Hepatositlerin metabolik sistemleri hem enerji dönüşümleri hem de biyokimyasal sentez yolları açısından son derece zengindir. Bu hücreler, vücudun diğer bölgelerine taşınan çok sayıda maddeyi modifiye eder veya yeniden sentezler. Karaciğerin metabolik işlevleri arasında en kritik olanları; albümin, taşıyıcı proteinler, pıhtılaşma faktörleri ile çeşitli hormon ve büyüme faktörleri gibi temel serum proteinlerinin sentezi yer alır. Ayrıca safra ve safra bileşenlerinin (safra asitleri, kolesterol, lesitin, fosfolipidler) üretimi de hepatositlerin önemli görevlerindedir. Karaciğer, besin maddelerinin (glikoz, glikojen, lipitler, kolesterol, amino asitler) homeostatik düzenlenmesinde merkezi role sahiptir. Glikoneogenez, glikojenoliz ve glikojen sentezi yoluyla kan şekeri seviyelerinin dar sınırlar içinde tutulmasını sağlar. Lipid metabolizmasında ise lipoprotein sentezi, yağ asidi oksidasyonu ve kolesterol homeostazının sağlanması gibi hayati işlevleri üstlenir. Karaciğerin detoksifikasyon fonksiyonu ise lipofilik bileşiklerin (bilirubin, çeşitli anyon ve katyonlar, ilaçlar) metabolizması ve safra veya idrar yoluyla atılımını kapsar. Bu süreçler, özellikle sitokrom P450 enzim sistemi tarafından gerçekleştirilen faz I ve faz II detoksifikasyon reaksiyonlarıyla mümkün olur (34).

Karaciğerin metabolik fonksiyonları, diğer organ sistemleriyle sürekli iletişim halinde yürütülür. Enterohepatik dolaşım sayesinde bağırsaklardan emilen besin maddeleri ve safra asitleri portal ven yoluyla karaciğere taşınır. Bu sistem, besinlerin etkin kullanımını ve toksik maddelerin uzaklaştırılmasını sağlar. Karaciğer aynı zamanda endokrin sistemle yakın ilişki içindedir; insülin, glukagon ve diğer metabolik hormonlara yanıt vererek enerji metabolizmasını düzenler. İmmün sistemle olan etkileşimleri ise Kupffer hücreleri aracılığıyla gerçekleşir ve bu sayede portal dolaşımın gelen antijenlere karşı uygun immün yanıt oluşturulur. Karaciğer fonksiyonlarının bozulması durumunda ortaya çıkan klinik tablolar, bu organın vücut homeostazındaki merkezi rolünü açıkça gösterir. Örneğin, protein sentez kapasitesinin azalması hipoalbüminemi ve ödeme; pıhtılaşma faktörlerinin yetersiz üretimi kanamalara detoksifikasyon fonksiyonlarının bozulması ise hepatik ensefalopatiye yol açar. Karaciğer yetmezliğinde görülen metabolik asidoz, hipoglisemi ve hiperammonemi gibi durumlar da bu organın metabolik düzenlemedeki kritik önemini vurgular. Günümüzde karaciğerin metabolik fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması, hepatik hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (35).

2.1.8. Karaciğerin Metabolik İşlevleri

Karaciğer, glikoz homeostazının merkezi organı olarak çeşitli kritik işlevler üstlenir. Glikojen depolama kapasitesi sayesinde kan şekerini düzenleyen bir tampon görevi görür. Yemek sonrası hiperglisemide fazla glikozu glikojene çevirerek depolar, açlık durumunda ise glikojenoliz yoluyla glikoz salınımı yapar. Karaciğer ayrıca galaktoz ve fruktoz gibi monosakkaritleri glikoza dönüştürür. Glikoneogenez yoluyla amino asitler, laktat ve gliserolden glikoz sentezi yaparak hipoglisemiyi önler. Bu metabolik yollar sirkadiyen ritimlerden etkilenir ve kortizol, glukagon, insülin gibi hormonlarla düzenlenir. Karaciğer hasarında glikoz toleransı bozulur ve postprandiyal hiperglisemi gelişir (36).

Karaciğer lipid metabolizmasında merkezi rol oynar. Yağ asitlerinin β -oksidasyonu sonucu oluşan asetil-CoA'yı enerji üretiminde kullanır veya keton cisimlerine dönüştürür (37). Çok düşük (VLDL), düşük (LDL) ve yüksek (HDL) yoğunluklu lipoproteinlerin sentezinden sorumludur. Kolesterolün %80'i karaciğerde sentezlenir ve %36'sı safra asitlerine dönüştürülür. Fosfolipid sentezi yaparak hücre membranlarının yapı taşlarını sağlar. Aşırı karbonhidrat ve protein alımında trigliserid sentezini artırarak yağ dokusuna taşınmasını sağlar. TM6SF2 gen mutasyonları karaciğer yağlanmasına yol açabilir (38).

Karaciğer, amino asitlerin deaminasyonu ve üre sentezi yoluyla azotlu atıkların eliminasyonunu sağlar (39). Albümin, fibrinojen gibi plazma proteinlerini sentezler. Pıhtılaşma faktörlerinin (II, VII, IX, X) üretiminden sorumludur (40). İlaç ve toksinlerin detoksifikasyonunda sitokrom P450 sistemi kritik rol oynar. Faz I (oksidasyon, redüksiyon) ve Faz II (konjugasyon) reaksiyonlarıyla lipofilik maddeleri suda çözünür hale getirir. Bu sistem aynı zamanda ilaç etkileşimlerinin temelini oluşturur (41).

Karaciğer yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E, K) başlıca depo organıdır. Vitamin D'nin 25-hidroksilasyonu burada gerçekleşir (42). Demir, ferritin formunda depolanır ve hepsidin hormonu ile düzenlenir. Bakır metabolizmasında seruloplazmin sentezi yapar (43,44). Bilirubin konjugasyonu ve safra yoluyla atılımını sağlayarak sarılığı önler. Safra asitlerinin enterohepatik dolaşımı yağ emilimi için gereklidir (45).

2.2. Karaciğer Fibrozisi

Karaciğer fibrozu, kronik hepatik hasara karşı gelişen patolojik bir yanıttır. Bu süreçte aşırı EC birikimi, özellikle tip I ve III kollajen depolanmasıyla karakterizedir. Fibrozis ilerledikçe, karaciğerin normal lobüler yapısı bozulur ve fonksiyonel hepatosit kütleleri azalır. Tedavi edilmediğinde siroza ilerleyen bu durum, portal hipertansiyon, hepatosellüler yetmezlik ve hepatosellüler karsinom riskinde artışa yol açar. Fibrotik süreçte başlangıçta reversibl olabilirken, ileri evrelerde geri dönüşüm zorlaşır (46).

HSC'ler, fibrozisin merkezindeki hücrelerdir. Normalde Disse boşluğunda A vitamini depolayan bu hücreler, kronik hasar varlığında aktive olarak miyofibroblast benzeri bir fenotip kazanır. Aktive HSC'ler, TGF- β ve PDGF gibi sitokinlere yanıt vererek aşırı ECM üretimine başlar. Bu aktivasyon süreci viral hepatitler, alkolik hepatit, NAFLD/NASH ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli etiyolojilerle tetiklenebilir. HSC aktivasyonu aynı zamanda anjiyogenezi uyatarak fibrotik süreci besler (47).

Fibrogenez, kompleks sinyal ağları tarafından düzenlenir. TGF- β /Smad yolu ECM sentezini artırırken, PDGF/MAPK yolu HSC proliferasyonunu uyandır. TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler, inflamatuvar yanıtı şiddetlendirir. Aktive HSC'ler sadece kollajen üretmekle kalmaz, aynı zamanda doku inhibitörü metalloproteinazlarını (TIMPs) salgılayarak ECM yıkımını engeller. Bu dengesizlik sonucu sinüzoidlerde bazal membran benzeri yapı oluşumu ve kapillerler görülür. Wnt/ β -katenin yolu da fibrotik süreçte önemli bir düzenleyicidir (48).

Fibrotik karaciğerde sinüzoidal fenestrasyonlar kaybolur ve Disse boşluğunda kollajen birikimi artar. Bu değişiklikler hepatosit-kan etkileşimini bozarak metabolik disfonksiyona yol açar. Artan vasküler direnç portal hipertansiyona neden olurken, hepatik arteriyel akımda kompensatuvar artış görülür. İleri evrelerde nodüler rejenerasyon gelişir ve karaciğer arşitektürü tamamen bozulur. Bu süreç aynı zamanda hepatik immün surveylansı bozarak malign transformasyon riskini artırır. Non-invazif fibrozis belirteçleri ve elastografi gibi görüntüleme yöntemleri hastalık evrelemesinde kullanılır (49).

Karaciğer fibrozis süreci, farklı hücreler bileşenlerinin etkileşimi ile inflamasyonun düzenlenmesi, matris yıkımı ve rejenerasyon süreçlerinde kritik roller oynar. Özellikle Kupffer hücreleri, LSEC'ler, nötrofiller ve lenfositler doğrudan veya dolaylı olarak fibrogenesi yönlendiren faktörler üretir. Kupffer hücreleri, karaciğerin makrofajları olarak görev yapar ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile proinflamatuvar sitokinler salgılayarak fibrogenesi destekler. Bu hücreler, hepatosit hasarı durumunda hızla aktive olur ve TGF- β ,

IL-6 gibi fibrotik faktörleri artırarak karaciğerin kronik inflamasyonuna katkıda bulunur. Bununla birlikte, M1 ve M2 makrofaj dönüşümleri, fibroz sürecinin yönünü değiştirebilir. Özellikle M2 makrofajlar, daha fazla IL-10 ve anti-inflamatuar faktörler salgılayarak bazı rejeneratif mekanizmaları destekleyebilir (50).

Nötrofiller ve lenfositler ise elastaz ve ROS üretimi ile inflamasyonun şiddetlenmesine ve ECM yıkımına katkıda bulunurlar. Özellikle Th1/Th2 hücre dengesi, fibrozun ilerleme yönünü belirleyen önemli bir faktördür. Regülatör T hücreleri (Treg'ler), bazı durumlarda aşırı inflamasyonu baskılayarak fibrozu sınırlandırabilir. Bunun yanı sıra, IL-17 üreten Th17 hücreleri, fibrotik süreçlerin ilerlemesine neden olan sitokinlerin salgılanmasını artırabilir (51).

Portal fibroblastlar, kolestatik hastalıklar gibi durumlarda aktive olur ve Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) ile Bağ Dokusu Büyüme Faktörü (CTGF) gibi mediatörlere yanıt verir. Bu aktivasyon, fibrozun portal alanlara yayılmasını teşvik eder ve hepatik yapının bozulmasına yol açar. Portal fibroblastların aktivasyonu sırasında, Hedgehog sinyal yolu ve Wnt/ β -katenin mekanizması önemli rol oynar. Özellikle Hedgehog yolunun aşırı aktivasyonu, miyofibroblast dönüşümüne neden olarak kollajen sentezini artırır. Wnt/ β -katenin sinyal mekanizması ise hücre proliferasyonu ve fenotip değişiklikleri üzerinde etkili olup, fibrotik mikroçevrenin oluşmasına katkıda bulunur. Bunun yanı sıra, portal fibroblastlar matriks metalloproteinazları (MMP'ler) salgılayarak ECM'nin yeniden düzenlenmesine yardımcı olur (52).

Fibrositler, kemik iliği kökenli hücrelerdir ve dolaşımdan karaciğere göç ederek fibroz bölgelerine yerleşirler. Bu hücreler, CD45, CD34 ve Tip I kollajen ekspresyonları ile tanımlanır. Karaciğere göç etmelerinde önemli reseptörlerden biri CCR2, diğeri ise CXCR4'tür. Özellikle CCL2 (MCP-1) ile SDF-1 gibi kemokinler, fibrositlerin yönlendirilmesinde belirleyici olur. Fibrositler, TGF- β ile PDGF gibi faktörlere yanıt vererek miyofibroblast dönüşümü gösterir. Bu dönüşüm, fibronektin ve tip I kollajen üretiminin artmasına neden olur. Ayrıca, Küçük RNA molekülleri (miRNA'lar) gibi genetik düzenleyiciler, fibrosit aktivasyonunun kontrol edilmesinde önemli rol oynayabilir. Özellikle miR-21 ve miR-29, fibrotik yanıtın modülasyonu ile ilişkilidir (53).

2.2.1. Karaciğer Fibrozunun Etiyolojik Faktörleri

Karaciğer fibrozisi, çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı olarak gelişen karmaşık bir süreçtir. Başlıca nedenler arasında alkol tüketimi, metabolik hastalıklar, otoimmün bozukluklar, toksinler, enfeksiyonlar ve vasküler hastalıklar bulunur. Bu faktörler farklı mekanizmalar yoluyla karaciğer hücrelerine zarar verir ve fibroz sürecini tetikler (54).

Alkol tüketimi, karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak lipid peroksidasyonu sürecini başlatır. Bu oksidatif stres, hepatositlerde nekroz ve apoptoza yol açarken, hepatik stellat hücreleri (HSC'ler) aktive ederek aşırı kollajen üretimini teşvik eder. Ayrıca, alkol metabolizması sırasında oluşan asetaldehit, hücrel stres yanıtını tetikler ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olur. Alkole bağlı karaciğer hasarı steatoz, alkolik hepatit, fibrozis ve siroz şeklinde ilerleyebilir. Özellikle TNF- α , IL-6 gibi inflamatuvar mediatörler, hücrel hasarı artırarak fibrojeniz sürecinin hızlanmasına yol açar. Alkol tüketimi ayrıca bağırsak epitel geçirgenliğini bozarak endotoksinlerin karaciğere ulaşmasına neden olur, bu da Kupffer hücrelerinin aktivasyonunu tetikler ve inflamasyonu artırır (55).

NAFLD, karaciğerin aşırı yağlanması ile karakterize olup, temel olarak insülin direnci, obezite, diyabet gibi metabolik faktörlerle ilişkilidir. NAFLD, hepatositlerde aşırı trigliserit birikimiyle başlar; ancak inflamasyon olmaksızın uzun yıllar sürebilir. NAFLD'nin ilerleyen formu olan NASH, yağlanma ile birlikte inflamasyon ve hepatosit hasarı içeren daha agresif bir hastalıktır. Adipokinler, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamatuvar sitokinler (örn. IL-1 β , IL-6, TNF- α) süreci kötüleştirir. Fibrojeniz süreci, TGF- β gibi mediatörlerin aktivasyonu ile başlar ve zamanla siroza dönüşebilir. NASH'in, global ölçekte en hızlı büyüyen karaciğer hastalığı olduğu ve gelecekte karaciğer nakillerinin en önemli nedeni haline gelebileceği düşünülmektedir (56).

Siroz, karaciğer dokusunun kronik fibrotik değişikliklere uğraması ile karakterize olup, hastalığın son aşamasıdır. Parankimal hasar, fibrozis ve rejeneratif nodüllerin oluşumu sonucu karaciğerin anatomik ve fonksiyonel yapısı bozulur. Siroz gelişimi sırasında mikrovasküler değişiklikler, sinüzoidal kapillerizasyon, portal hipertansiyon gibi olaylar ortaya çıkar. Hepatik venöz akımın azalması, bağışıklık yanıtının bozulması ve sistemik inflamasyon süreci kötüleştirir. Bu süreç, HSC aktivasyonu, TGF- β , PDGF ve Hipoksi İndüklenmiş Faktör (HIF-1 α) gibi moleküllerin etkisiyle ilerler. Sirozun geri dönüşü teorik olarak mümkün olsa da, belirli bir eşiği aştığında fibrotik yanıtın kalıcı hale gelmesi nedeniyle kronik karaciğer yetmezliğine yol açabilir (57).

Karaciğerin otoimmün hastalıkları, T ve B hücreleri tarafından yönlendirilen immün yanıtların bir sonucu olarak ortaya çıkar. Otoimmün hepatit, anti-nükleer antikorlar ve anti-smooth muscle antikorları ile ilişkilidir. Kronik inflamasyon, hepatosit hasarını ve HSC aktivasyonunu tetikleyerek fibrozun ilerlemesine yol açar (58). Schistosomiasis gibi paraziter enfeksiyonlar, Th2 yanıtını baskın hale getirerek IL-13, TGF- β gibi fibrotik faktörlerin aktivasyonuna neden olur. Kronik enfeksiyon durumlarında karaciğer venöz sisteminin tıkanması ve fibrozun progresyonu kaçınılmaz hale gelir (59). Bazı farmakolojik ajanlar ve toksinler, hepatosit nekrozunu tetikleyerek fibroz oluşumuna katkıda bulunur. Örneğin, metotreksat ve amiodaron, hepatositlerin doğrudan hasar almasına neden olarak karaciğer fibrozisini hızlandırır (60). Ağır metallere demir ve bakır, Fenton reaksiyonları ile lipid peroksidasyonunu artırarak oksidatif stres ve inflamasyonu yükseltir. Wilson hastalığında bakır birikimi, sinüzoidal stres ve fibrozis gelişimine neden olur (61). Konjestif kalp yetmezliği, Budd-Chiari sendromu ve diğer vasküler patolojiler, karaciğer sinüzoidal basıncını artırarak hepatosit hasarına yol açar. İskemik hepatopati, karaciğerin kronik hipoksiye maruz kalması sonucu fibrotik değişiklikler gösterir (62).

2.2.2. Karaciğer Fibrozunun Moleküler Mekanizmaları

Karaciğer fibrozisi, hücreler ve moleküler sinyal yollarının karmaşık etkileşimiyle ortaya çıkar. Bu süreç, fibrojenik hücrelerin aktivasyonu, inflamasyonun şiddetlenmesi, ekstraselüler matriks (ECM) birikiminin düzensizleşmesi ve doku sertliğinin artması ile karakterize edilir. Fibroz, başlangıçta hepatosit hasarına karşı koruyucu bir yanıt olarak gelişirken, sürekli inflamasyon ve hücreler stresin etkisiyle patolojik bir sürece dönüşür (63). Fibrojenin temel belirleyicisi Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) sinyal yoludur. TGF- β , Kupffer hücreleri, sinüzoidal endotel hücreleri, hepatik stellat hücreleri (HSC'ler) ve makrofajlar tarafından salgılanarak fibrotik süreci yönlendirir (64). Özellikle Smad bağımlı ve Smad dışı yollar aracılığıyla HSC aktivasyonu, ECM üretimi ve hücreler değişiklikler desteklenir. Smad bağımlı mekanizmada, TGF- β Tip II reseptörü fosforile olur ve Tip I reseptörü etkinleştirir. Bu aktivasyon, Smad2 ve Smad3 fosforilasyonu ile devam ederek nükleer transkripsiyon faktörlerinin fibrotik genleri (örn. COL1A1, COL1A2) aktive etmesine neden olur. Sonuç olarak, kollajen üretimi artar ve ECM birikimi belirginleşir. Ek olarak, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) baskılanırken, doku inhibitör proteinleri (TIMP'ler) yükselir. Bu süreç, ECM'nin bozulmasını önleyerek fibrotik yapıların kalıcı hale gelmesine yol açar. Smad dışı yollar ise MAPK (ERK, JNK, p38),

PI3K/Akt ve RhoA/ROCK gibi sinyal mekanizmalarını devreye sokarak HSC proliferasyonunu, farklılaşmasını ve apoptoz direncini artırır. TGF- β aynı zamanda Wnt/ β -katenin, Notch, Hedgehog ve Hipoksi İndüklenmiş Faktör (HIF-1 α) gibi yollarla etkileşerek fibrojenizi hızlandırır. Wnt sinyali, β -katenin birikimiyle HSC proliferasyonunu desteklerken, Notch1/3 aktivasyonu ECM üretimini güçlendirir. Hedgehog-Gli1/2 ekspresyonu ise HSC'lerin fibrotik fenotipini sürdürmesini sağlar. Epigenetik modifikasyonlar da bu sürecin devamlılığını sağlar. DNA metilasyonu, histon değişiklikleri ve mikroRNA regülasyonu (örneğin miR-21'in artışı, miR-29'un azalması) fibroz genlerinin kalıcı ekspresyonunu destekler (65).

Fibrojeniz sürecinde α -SMA ekspresyonu, HSC'lerin miyofibroblast benzeri fenotipe geçişi için önemli bir göstergedir. Kronik karaciğer hasarında bu protein artar, doku sertliğini güçlendirir ve kontraktıl özellik kazandırır. RhoA/ROCK yolu, MAPK (ERK, JNK, p38) ve PI3K/Akt sinyalleri α -SMA üretimini artırarak hücrese farklılaşmayı teşvik eder. Klinik olarak, α -SMA varlığı portal fibroblastlar ve kolanjiyosit kaynaklı miyofibroblastların aktivasyonu ile ilişkilidir. İmmünohistokimya, Western blot teknikleri ile α -SMA düzeyleri ölçülebilir. Ayrıca Pirfenidon, Galunisertib (TGF- β inhibitörü), Fasudil (ROCK inhibitörü) ve U0126 (MAPK inhibitörü) gibi ajanlar α -SMA ekspresyonunu baskılamaya yönelik farmakolojik hedeflerdir (66).

Toll-benzeri reseptör 4 (TLR-4), doğuştan bağışıklık yanıtının önemli bir bileşeni olup, LPS (lipopolisakkarit) ve endojen molekülleri tanıyarak karaciğer fibrozisini tetikler. Kupffer hücreleri, HSC'ler ve portal fibroblastlar üzerinde TLR-4 ekspresyonu belirgindir. MyD88 aracılığıyla NF- κ B aktivasyonu, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β üretimini artırarak inflamasyonu güçlendirir. TRIF yolu, IRF3 fosforilasyonu ile Tip I interferon yanıtını düzenler. TLR-4 aktivasyonu, HSC'lerin TGF- β 'ya duyarlılığını artırarak fibrotik süreci hızlandırır. Bunun yanı sıra, Kupffer hücrelerinden TGF- β , IL-1 β ve MCP-1 salınımı, matriks metalloproteinaz dengesi ve ECM yıkımının bozulması ile fibrozun ilerlemesine neden olur. Bağırsak-karaciğer aksı da bu süreçte kritik bir rol oynar. Özellikle NAFLD ve sirozda artan bağırsak geçirgenliği, LPS düzeylerini artırarak TLR-4 aktivasyonuna katkıda bulunur. Bu mekanizmayı hedef alan tedaviler arasında Eritoran (TLR-4 antagonisti), MyD88 inhibitörleri ve probiyotikler bulunmaktadır. Özellikle Scoparone, TLR-4/NF- κ B yolunu inhibe ederek fibroz progresyonunu azalttığı gösterilmiştir (67).

2.3. Alkil Fenol Etoksilatlar

Alkil fenol etoksilatlar (APE'ler), yüzey aktif özellikleri nedeniyle geniş bir endüstriyel kullanım alanına sahip noniyonik surfaktanlar sınıfına ait bileşiklerdir. Bu bileşikler, özellikle nonil fenol (NP) ve oktil fenol (OP) gibi alkil fenollerin etilen oksit ile etoksilasyonu sonucu elde edilir. APE'ler hem hidrofobik hem de hidrofilik bileşenlere sahip olup, etoksil zincirinin uzunluğu yüzey aktif özelliklerini belirler. Etoksilasyon miktarı arttıkça suda çözünürlük yükselir, bu da deterjan ve temizleme amaçlı ürünlerde kullanımını destekler (68). Kimyasal yapısına göre, APE'lerin hidrofilik polietoksil zinciri su ile etkileşirken, hidrofobik alkil fenol grubu organik yüzeylere adsorbe olma eğilimindedir. Etoksi grubu sayısındaki azalma, yüzeylere daha güçlü adsorpsiyon sağlar ve emülsiyon kararlılığını destekler. Bu özellikler nedeniyle tarım, tekstil, metalurji gibi pek çok sektörde emülgatör, dağıtıcı ve ıslatıcı olarak kullanılır. Ancak biyolojik olarak zor parçalanmaları ve çevresel toksisiteyi, bu bileşiklerin uzun vadeli ekolojik etkilerini önemli hale getirmektedir (69).

Çevreye salındıklarında, alkil fenol etoksilatlar özellikle nonil fenol (NP) ve oktil fenol (OP) gibi türev bileşiklere dönüşür. Bu türevler biyobirikim potansiyeli yüksek, çevresel olarak kalıcı ve ekotoksik özelliklere sahip maddelerdir. Nonil fenol ve oktil fenolün bozunma ürünleri hem suda yaşayan organizmalar hem de memeli sistemlerinde hormonal dengesizliklere yol açabilir. Östrojen benzeri aktivite göstererek östrojen reseptörlerine bağlanan bu bileşikler, endokrin bozucu olarak kabul edilir. Sonuç olarak, üreme bozuklukları, embriyonik ölüm oranlarının artışı ve testis yapılarında değişiklikler gibi olumsuz etkiler gözlemlenebilir (70).

NP ve OP türevleri, endokrin sistemin işleyişini bozarak ciddi sağlık etkileri yaratabilir. Bu tür bileşikler, özellikle östrojen reseptörlerine bağlanarak doğal hormonal sinyal yollarını taklit eder. Sonuç olarak, çeşitli organizmalarda üreme fonksiyonlarında bozulmalar, sperm üretiminde azalma, seminal tübüllerde yapısal değişiklikler ve embriyonik gelişimde gerilemeler gözlemlenebilir (71). Özellikle balıklar, kurbağalar ve diğer sucul organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin cinsiyet değişimlerine yol açtığını ve üreme başarısını düşürdüğünü ortaya koymuştur. Memelilerde ise gelişimsel anormallikler, östrojene bağımlı gen ekspresyonunda artış, kanserojenik etkiler gibi risk faktörleri belirlenmiştir (72). Bu nedenlerle, APE'lerin kullanımının kısıtlanması ve biyobozunur alternatiflerin teşvik edilmesi büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda biyolojik surfaktanlar, bitkisel bazlı yüzey aktif maddeler ve nanoteknoloji ile modifiye edilen biyoyumlu bileşikler üzerinde çalışmalar artmıştır (73).

2.4. Nonilfenol

Nonilfenol (NP), yaygın olarak kullanılan nonilfenol etoksilatların (NPE'lerin) çevresel bozunması sonucu ortaya çıkan türev bileşiğidir ve önemli bir endokrin bozucu kimyasal olarak kabul edilir. Kimyasal olarak ksenoöstrojenler sınıfına dahil olup hem insanlarda hem de hayvanlarda östrojen benzeri etkiler gösterebilir. Östrojen reseptörlerine bağlanarak doğal hormonal sinyalleri taklit eden NP, hormon dengesini bozar, doğurganlık ve üreme sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratır (74). NP'nin zararlı etkileri, özellikle sperm üretiminde azalma, seminal tübül çapında daralma ve embriyonik ölüm oranında artış gibi sonuçlara yol açabilir. Erkek üreme sistemi, bu bileşiğe en duyarlı dokulardan biridir. Leydig hücrelerinin steroid hormon üretimi, hücre canlılığı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi gibi süreçleri NP maruziyetinden doğrudan etkilenir. İçme suyu, gıda ve çevresel maruziyet (örneğin deterjanlar, plastik atıklar, kozmetikler, tarımsal kimyasallar) başlıca NP maruziyet kaynaklarıdır (75). Özellikle hamilelik ve emzirme dönemlerinde NP'nin doğrudan zararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Anne maruziyeti, yavruların mikrogial aktivasyonunu artırarak beyin gelişiminde nöroinflamatuvar hastalıklara yatkınlık yaratabilir. İstirahat halinde sarkoplazmik retikulumun kalsiyum taşınmasını bozması, sinir hücrelerindeki kalsiyum dengesini etkileyerek nörogelişimsel bozukluklar oluşturabilir (76). Son yıllarda erkek üreme sağlığındaki bozulma oranları dikkat çekici bir şekilde artmıştır. Bu durum, çevresel endokrin bozucular, özellikle de NP ve oktilfenol (OP) gibi bileşiklerle ilişkilendirilmiştir. NP'nin ayrıca kromozomal sapmalara neden olduğu, hücre döngüsünü değiştirdiği ve bazı kanserojenik süreçleri hızlandırdığı bildirilmiştir (77).

İnsanlar NP'ye doğrudan ve dolaylı olarak maruz kalmaktadır. İçme suyu, gıdalar ve çevresel temas en yaygın maruziyet yollarıdır. Tekstil ürünleri, tarım kimyasalları, ilaç sanayi ve sigara dumanı gibi çeşitli kaynaklardan çevreye yayılır. Bu nedenle hava, su ve toprak gibi çevresel bölmelerde NP'nin varlığı sürekli izlenmektedir. NP'nin özellikle hepatotoksik etkiler gösterdiği ve karaciğerde oksidatif stres oluşturduğu bilinmektedir. Balıklar ve diğer sucul canlılar üzerinde yapılan çalışmalarda, NP'nin karaciğer hücrelerinde DNA hasarına neden olabileceği gözlemlenmiştir. NP'nin antioksidan mekanizmalara müdahale etmesi, karaciğerin savunma mekanizmalarını zayıflatabilir ve karaciğer enzim seviyelerini değiştirebilir (78). Gebelik ve emzirme dönemlerinde NP'ye maruziyet,

yavrularda mikrogial aktivasyon ve proinflamatuvar sitokin üretimini artırarak nöroinflamatuvar hastalıkların gelişme riskini yükseltebilir. İnsan çalışmalarında, erkeklerde sperm kalitesinde azalma, testis hacminde küçülme ve östrojen reseptörlerinin aşırı aktivasyonu gibi sonuçlar rapor edilmiştir (79).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Deneyi ve Çalışma Düzeni;

Bu araştırma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 26.09.2024 tarihli 18/3 karar numarasıyla onaylanmıştır. Çalışmanın deney hayvanları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiş ve barındırılmıştır. Deney sonrasında elde edilen dokuların analizleri ise Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D. araştırma laboratuvarında yapılmıştır.

Sıçanlar araştırma süresince 19-21 °C sabit sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/karanlık dönemlerin bulunduğu, özel hazırlanmış otomatik olarak klimatize edilen odalarda yaşamıştır. Sıçanlar normal pellet cinsi yem ve su ile serbest beslenmiştir. Deney aşamasına kadar mümkün olduğu kadar stressiz bir ortamda barınmaları sağlanmıştır.

Deney Grupları ve Düzeni;

Çalışma için hazırlanan 30 adet 14-16 haftalık Wistar albino türü yetişkin erkek sıçan rastgele 5 gruba ayrılmıştır. Hayvanların tamamı deneye başlamadan önce tartılmış olup, daha sonraki günlerde de 15 gün boyunca beslenme, sıvı alımı, kilo kaybı, ishal açısından takip edilmiştir. Kontrol ve sham grubu hariç tüm gruplara deneyin ilk 15 gün boyunca mısır yağı içerisinde oral gavaj ile nonyphenol (Sigma Aldrich, Saint Louis, USA) uygulaması yapılmış, sham grubuna aynı hacimde oral gavaj ile mısır yağı uygulanmış, kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

Çalışma düzeni ve hayvan deneyi;

Grup 1 "K" (Kontrol): Hayvanlara 15 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmamış olup, 16. günde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intraperitoneal) ve ketamin (60 mg ketamin hidrasyon/kg canlı ağırlık, intraperitoneal) genel anestezi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. (n=6).

Grup 2 "S" (Sham): Hayvanlara 15 gün boyunca NP çözgeni mısır yağı gavaj yoluyla verilmiş, 16. günde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intraperitoneal) ve

ketamin (60 mg ketamin hidrakerlorür/kg canlı ağırlık, intraperitoneal) genel anestezi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir (n=6).

Grup 3 “NP 1” (Nonyphenol Düşük): Hayvanlara 15 gün boyunca 12,5mg/kg NP mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş olup, 16. günde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intraperitoneal) ve ketamin (60 mg ketamin hidrakerlorür/kg canlı ağırlık, intraperitoneal) genel anestezi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. (n=6).

Grup 4 “NP 2” (Nonyphenol Orta): Hayvanlara 15 gün boyunca 50mg/kg NP mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş, 16. günde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intraperitoneal) ve ketamin (60 mg ketamin hidrakerlorür/kg canlı ağırlık, intraperitoneal) genel anestezi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. (n=6).

Grup 5 “NP 3” (Nonyphenol Yüksek): Hayvanlara 15 gün boyunca 100mg/kg nonylphenol mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş (ilk 5 gün 200mg/kg uygulama yapılmış, hayvan kaybının 2’den fazla olması sebebi ile 6.günden itibaren 100mg/kg olarak doz değiştirilmiştir) 16. günde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık intraperitoneal) ve ketamin (60 mg ketamin hidrakerlorür/kg canlı ağırlık, intraperitoneal) genel anestezi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. (n=6). (Tablo 3.1)

Tablo 3.1: Deney grupları.

Kontrol	Hayvanlara 15 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmamıştır.
Sham	Hayvanlara 15 gün boyunca NP çözgeni 1ml mısır yağı oral gavaj ile verilmiştir.16. günde sakrifikasyon yapılmıştır.
NP1	Hayvanlara 15 gün boyunca 12,5mg/kg NP 1ml mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş 16. günde sakrifikasyon yapılmıştır.
NP2	Hayvanlara 15 gün boyunca 50mg/kg NP 1ml mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş 16. günde sakrifikasyon yapılmıştır.
NP3	Hayvanlara 15 gün boyunca 100mg/kg NP 1ml mısır yağı içerisinde oral gavaj yoluyla verilmiş 16. günde sakrifikasyon yapılmıştır.

Cerrahi Prosedür;

Deneyin 16.gününde bütün gruplara intraperitoneal ketamin hidroklorid 60 mg/kg + 10 mg/kg ksilazin HCl (%2 ksilazine hydrochloride) ile anestezi sağlandıktan sonra steril

koşullar altında orta hat kesisi ile laparotomi yapılmıştır. Deri altı bağ dokusu ve abdominal kaslar açılarak karaciğer diseke edilmiştir. KC dokusunun bir kısmı formaldehit içine alınarak histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler için kullanılmıştır. Diğer kısmı ise biyokimyasal çalışmalar için ependorf tüpe alınmıştır.

3.2. Histopatolojik Analizler

Tüm deneklerden elde edilen karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak 72 saat %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akarsu altında 12 saat bekletilerek fiksatif uzaklaştırılmıştır. Ardından suyun uzaklaştırılması için dokular artan alkol serilerinden (%50, %70, %80, %90, %100) geçirilmiş, alkolü uzaklaştırmak ve dokuya parafinin nüfus edebilmesi için 3 seri ksilolden geçirilmiş ve ardından erimiş parafine gömülme işlemi yapılmıştır. (Tablo 3.2)

Tablo 3.2: Işık mikroskobu doku hazırlama tekniği.

Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Musluk suyunda yıkama	12 saat
2	%50 Alkol	1 saat
3	%70 Alkol	7 saat
4	%80 Alkol	1 saat
5	%96 Alkol	1 saat
6	Absolü Alkol	1 saat
7	Absolü Alkol	1 saat
8	Ksilen	45 dk
9	Ksilen	45 dk
10	Ksilen	45 dk
11	Eriyik parafin (60 °C)	1 saat
12	Eriyik parafin (60 °C)	1 saat

Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve masson trikrom (MT) ile boyanmıştır. H&E boyama ile, karaciğer dokusu için genel histomorfolojik yapı değerlendirilmesi, MT ile bağ dokusu alanlarındaki kollajen birikimleri gösterilmiştir. (Tablo 3.3)

Tablo 3.3: Hematoksilen&Eozin ve Masson Trikrom Boyama boyama tekniği.

Hematoksilen&Eozin Boyama			Masson Trikrom Boyama		
Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	1	Etüv (60 °C)	2 saat
2	Ksilen I	10 dk	2	Ksilen I	10 dk
3	Ksilen II	10 dk	3	Ksilen II	10 dk
4	Ksilen III	10 dk	4	Ksilen III	10 dk
5	Absolu Alkol I	10 dk	5	Absolu Alkol I	5 dk
6	Absolu Alkol II	10dk	6	Absolu Alkol II	5 dk
7	%96 Alkol	10 dk	7	%96 Alkol	5 dk
8	%80 Alkol	10 dk	8	%80 Alkol	5 dk
9	%70 Alkol	10 dk	9	%70 Alkol	5 dk
10	%50 Alkol	10 dk	10	%50 Alkol	5 dk
11	Akarsu	10 dk	11	Akarsu	2 dk
12	Hematoksilen	8 dk	12	Hematoksilen	5-8 dk
13	Akarsu	5 dk	13	Akarsu	5 dk
14	Eozin	3 dk	14	Asit Fuksin	20 saniye
15	Akarsu	5 dk	15	Distile su	2 dk
16	%50 Alkol	1 dk	16	Fosfomolibdik Asit	5 dk
17	%70 Alkol	1 dk	17	Kurutma	1 dk
18	%80 Alkol	1 dk	18	Anilin Blue	5 dk
19	%96 Alkol	1 dk	19	Distile su	1 dk
20	Absolu Alkol I	1 dk	20	%1'lik Asetik Asit	1 dk
21	Absolu Alkol II	1 dk	21	%96 Alkol	2 dk
22	Absolu Alkol III	2 dk	22	Absolu Alkol I	3 dk
23	Ksilen I	10 dk	23	Absolu Alkol II	3 dk
24	Ksilen II	10 dk	24	Absolu Alkol III	3 dk
25	Ksilen III	10 dk	25	Ksilen I	20 dk
26	Kapatma		26	Ksilen II	20 dk
			27	Ksilen III	20 dk
			28	Kapatma	

3.3. Karaciğer Histopatolojik Skorlama Yöntemi

Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde hepatositlerdeki dejenerasyon ve nekroz, damarlardaki hiperemi, sinüzoidlerdeki dilatasyon ve santral ven fibrozisi semikantitatif olarak değeriendirildi. Her karaciğer kesitinde 10 farklı alanda her bir hasar parametresi

skorlanarak, grup içindeki ortalama yüzdelik değerler hesaplandı. Histopatolojik değişimler, karaciğer hücrelerinin %10'undan az gözlemlendiğinde 0 (yok) %25'inden azında gözlemlendiğinde 1 (hafif), %25-50 arasında olduğunda 2 (orta), 50-75 arasında olduğunda 3 (şiddetli) ve %75'den fazla olduğunda 4 (çok şiddetli) olarak derecelendirildi (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3, çok şiddetli=4) (Tablo 3.4). (80)

Tablo 3.4: Karaciğer dokusunda histopatolojik skora tablosu.

Skorlama Tablosu					
	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	Çok Şiddetli
Hepatositlerde dejenerasyon	0	1	2	3	4
Hepatositlerde nekroz	0	1	2	3	4
Damarlarda hiperemi	0	1	2	3	4
Sinuzoidlerde dilatasyon	0	1	2	3	4
Vena centraliste fibrozis	0	1	2	3	4

3.4. İmmünohistokimya Boyama Yöntemi

İmmünohistokimya boyama yöntemi, özgül antijenik saptama özelliğine sahip belirleyicinin, hücre yüzeyine bağlanması temeline dayanmıştır. Bu çalışmada deney gruplarına ait sıçanlardan alınan karaciğer dokularında, fibrotik belirteçler olan TGFβ1 α-SMA TLR-4'ün ekspresyon seviyeleri immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Bunun için belirlenen markerlar için primer antikolar kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal boyama metodu için streptavidin-biotin kiti kullanılarak avidin-biotin peroksidaz yöntemi uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal boyama için %10'luk formalin fiksasyonu ve dekalsifikasyon işlemleri sonrası rutin takip ile hazırlanmış parafine gömülü bloklardan 5 µm'lik kesitler dokuların dökülmemesi için poli-lizinli lamlara alınmıştır. Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilolde deparafinize edilip ardından %99, %96 ve %70'lik azalan alkol serilerinin her birinde 5'er dakika tutularak dehidrate edilmiş ve 10 dakika distile suda bekletilmiştir. Daha sonra antijen geri kazanımı için %5'lik sitrat tamponu ile mikrodalga fırında 600W'de 10 dakika kaynatılan kesitler PBS ile tekrar yıkanarak endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 10 dakika %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edilmiştir. Kalan işlemler dokuların kurummasını önleyen chamber içerisinde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan her bir solüsyon dokunun üzerini tamamen kapatacak şekilde uygulanmıştır. PBS ile yıkanan kesitlere antijenik alanların dışında kalan

bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 10 dakika blok serum uygulanmıştır. Preparatlardaki dokuların üzerine hazırlanan primer antikolar; TGF- β (Proteintech, Cat No. 21898-1 AP, 1/250), α -SMA (Proteintech, Cat No. 80008-1RR, 1:2500), TLR-4 (Proteintech; Cat No. 19811-1 AP, 1:400), damlatılarak bir gece +4 °C’de inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak, primer antikor yerine PBS kullanılmıştır. Yıkama işleminden sonra kesitler biotinli-sekonder antikor ile 15 dakika inkübe edilmiş ve ardından yıkama işlemi tekrarlanmıştır. Daha sonra streptavidin peroksidaz ile 15 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) substrat ile 5 dakika muamele edildikten sonra 5 dakika deiyonize H₂O ile yıkanmıştır. Sonrasında artan alkol serilerinde 5’er dakika bekletilen dokular ksilolde 15 dakika tutulup entellan ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılmıştır. İmmünohistokimya boyama metodunu uygulanan kesitler ışık mikroskobu altında incelenmiş ve 15 farklı alandan mikroskopik fotoğraflar çekilmiştir. Çekilen fotoğraflarda Image J software programı kullanılarak belirlenen markerların immünreaktivite yoğunlukları hesaplanmış olup, sonuçlar kaydedilmiştir (Tablo 3.5). (81).

Tablo 3.5: İmmünohistokimya boyama metodu.

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etiv (60 °C)	2 saat	18	Sekonder Antikor	20 dk
2	Ksilen I	5 dk	19	PBS	3x5 dk
3	Ksilen II	5 dk	20	Streptavidin Peroksidaz	20 dk
4	Ksilen III	5 dk	21	PBS	3x5 dk
5	Absolu Alkol I	5 dk	22	DAB kromojen	3-7 dk
6	Absolu Alkol II	5 dk	23	Distile su	2x3 dk
7	%96 Alkol	5 dk	24	Hematoksilen	5 dk
8	%80 Alkol	5 dk	25	Musluk suyu	2 dk
9	%70 Alkol	5 dk	26	Distile su	5 dk
10	Distile su	3x5 dk	27	%70 Alkol	1 dk
11	%10 Sitrat Buffer	3x5 dk	28	%80 Alkol	1 dk
12	PBS	3x5 dk	29	%96 Alkol	1 dk
13	%3 H ₂ O ₂	20 dk	30	Absolu Alkol I	3 dk
14	PBS	3x5 dk	31	Absolu Alkol II	3 dk
15	Ultra V block	7 dk	32	Ksilen I	10 dk
16	Primer Antikor	15 saat	33	Ksilen II	10 dk
17	PBS	3x5 dk	34	Kapatma	

3.5. Biyokimyasal Analizler

Tüm deneklerden alınan karaciğer dokuları -80 °C’de saklandı. Dokular çalışılmadan önce homojenize edilerek santrifüj işlemi uygulanıp süpernatantları kullanılmak üzere ependorf tüplere aktarıldı. ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile Malondialdehit (MDA; ELKBİO, Katalog no: ELK10920) düzeyi ve Süperoksit dismutaz (SOD: ELKBİO, Katalog no: ELK8178) aktivitesi kitlerine uygun şekilde çalışılarak ELISA Reader’da (ELK808 BİOTEK) miktarları tayin edildi. Doku örneklerinin sonuçları nmol/mg protein olarak verildi.

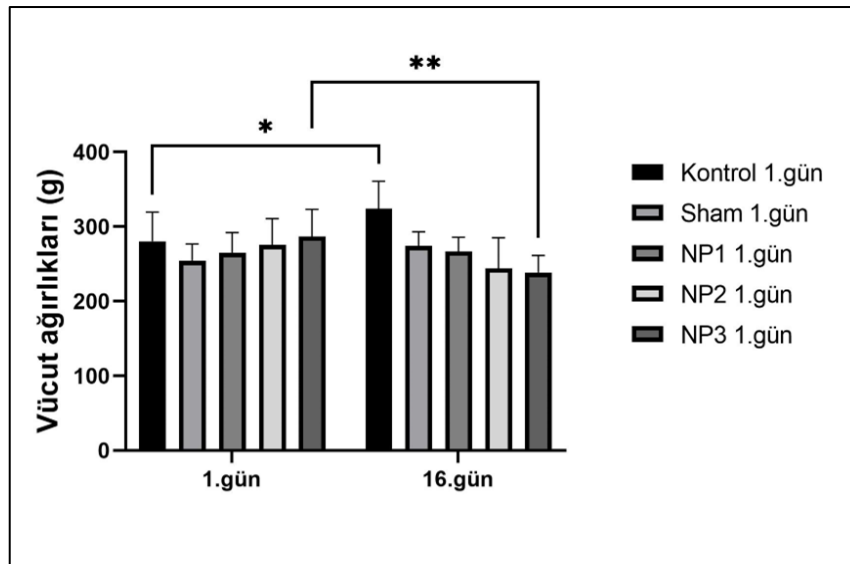
3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm istatistiksel analizler “Graph Pad Prism Version 9” istatistik yazılım programı aracılığıyla gerçekleştirildi. İki den fazla grup arasında genel karşılaştırma yapmak için normal dağılım verilerde One-Way ANOVA testi uygulandı ve post-hoc analizde Bonferroni düzeltmesi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler için Kruskal-Wallis testi yapıldı ve post-hoc analizde Dunn testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Two-Way ANOVA testi uygulandı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık seviyesi 0,05 olarak belirlendi ve Bonferroni düzeltmesi uygulandı.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

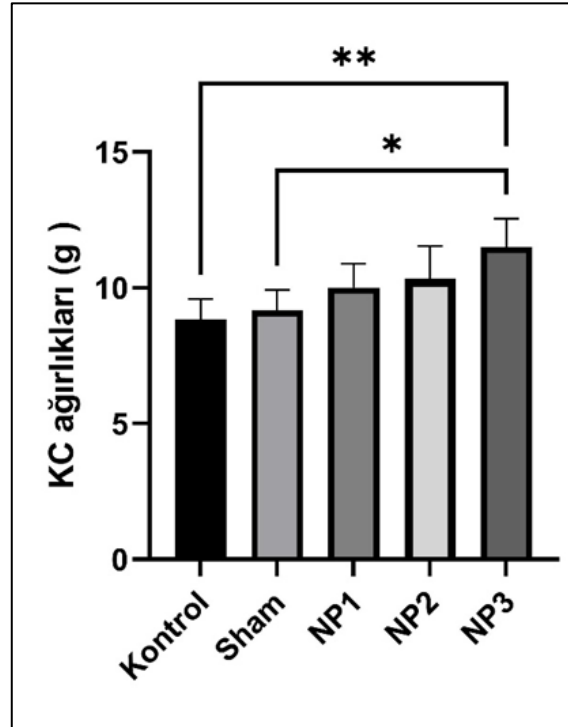
Çalışmada, sıçanların deneyin başlangıcında (1. gün) ve deneyin sonunda (16. gün) ölçülen vücut ağırlıkları değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda hayvanların ortalama ağırlığı deney başlangıcında $280,5 \pm 388,9$ g iken deney sonunda $324,2 \pm 36,6$ g olarak ölçülmüş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Sham grubunda benzer şekilde başlangıçta $254,3 \pm 22,5$ g olan ortalama ağırlık, 16. gün sonunda $274,2 \pm 19,2$ g'ye yükselmiş fakat anlamlı artış olmamıştır ($p < 0,05$). NP verilen gruplardan NP1 grubunda 1. gün ortalama ağırlığı $264,8 \pm 27,2$ g iken 16. gün sonunda $266,7 \pm 19,7$ g olarak ölçülmüş, bu grupta anlamlı bir değişiklik izlenmemiştir ($p > 0,05$). Yine NP2 grubunda başlangıç ağırlığı ortalama $275,5 \pm 35,2$ g iken 16. gün sonunda $244,0 \pm 41,3$ g'a gerilemiş fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır NP3 grubunda ise $286,8 \pm 36,4$ g olan başlangıç ağırlığı, 16. gün sonunda $238,3 \pm 23,0$ g'a düşerek anlamlı bir kilo kaybı göstermiştir ($p < 0,01$). Bu sonuçlar, özellikle yüksek doz NP uygulamasının sıçanlarda büyüme ve kilo alımını baskıladığını göstermektedir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Deney gruplarına ait sıçanların 1. gün ve 16. gün ortalama vücut ağırlıklarının karşılaştırmalı bar grafiği. Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm SD) şeklinde değerlendirilmiştir. *; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

4.2. Karaciğer Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Çalışmada tüm sıçanların karaciğer ağırlıkları 16. günde deney sonlandırıldıktan sonra organın tamamı vücuttan diseke edilerek tartılmıştır. Karaciğer ağırlıkları bakımından gruplar arasında belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama karaciğer ağırlığı $9,5 \pm 0,55$ g olarak ölçülmüştür. Sham grubunda bu değer $9,83 \pm 1,07$ g olup kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0,05$). Düşük doz NP (NP1) grubunda ortalama ağırlık $10,17 \pm 0,75$ g, orta doz NP (NP2) grubunda $10,17 \pm 1,17$ g olarak saptanmıştır. Yüksek doz NP (NP3) grubunda ise karaciğer ağırlığı $11,00 \pm 1,41$ g ile tüm gruplar içinde en yüksek değeri ve bu artış hem kontrol grubuna ($p < 0,01$) hem de sham grubuna ($p < 0,05$) göre anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.2.)



Şekil 4.2: Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer ağırlıkları (g). Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm SD) şeklinde değerlendirilmiştir. *; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

4.3. Histopatolojik Bulgular

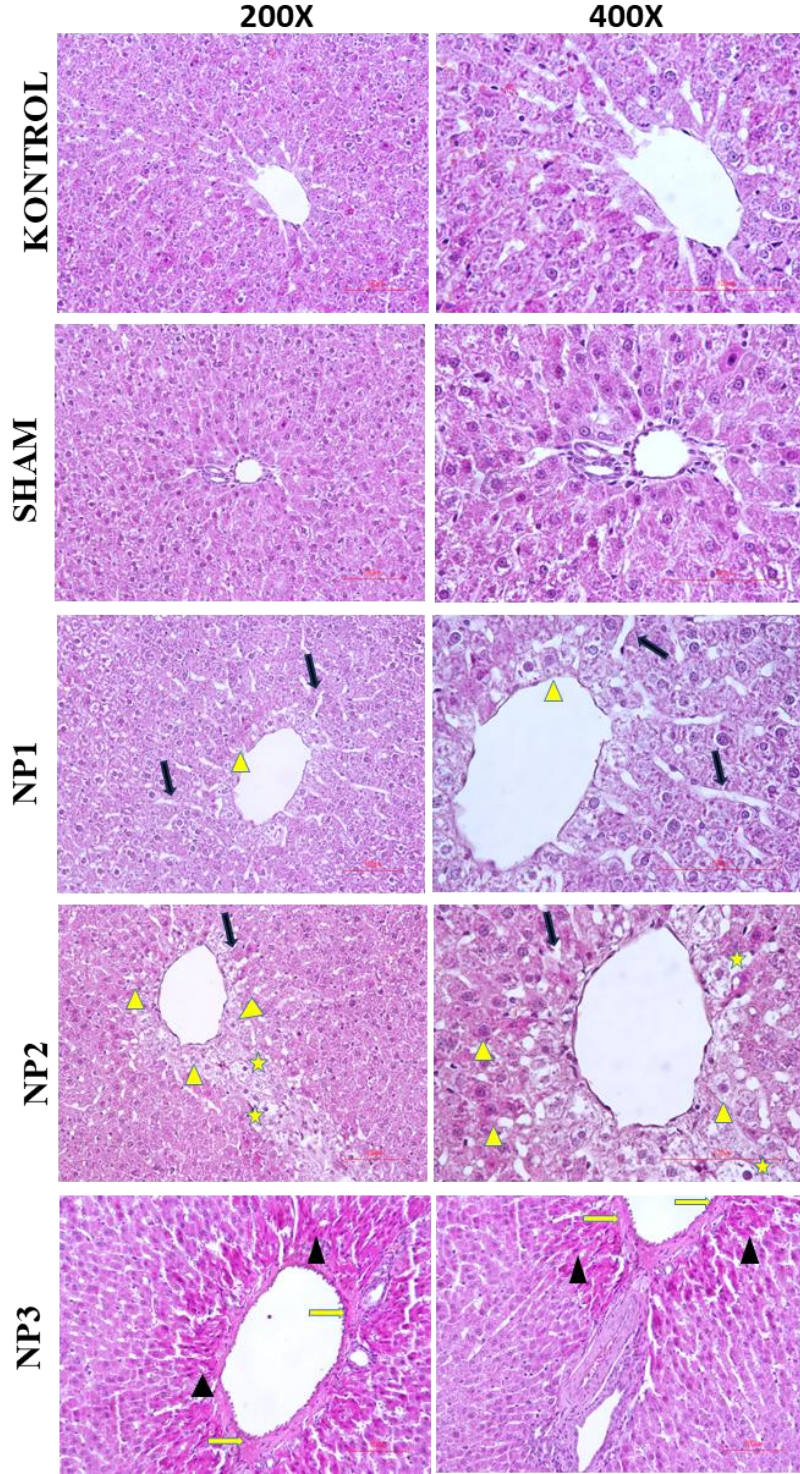
Hematoksilen-Eozin (H&E) boyaması yapılan karaciğer dokularına ait histopatolojik incelemeler ışık mikroskopunda 200X ve 400X büyütmede değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna ait kesitlerde hepatositlerin normal hücresel mimarisi korunmuş, sinüzoid yapılar belirgin, hepatosit çekirdekleri yuvarlak ve merkezi yerleşimli olarak izlenmiştir. Merkezi

ven çevresinde herhangi bir inflamasyon, nekroz ya da hücrel dejenerasyon bulgusuna rastlanmamıştır.

NP1 grubuna ait karaciğer kesitlerinde, kontrol grubuna kıyasla hepatositlerde hafif düzeyde vakuolizasyon ve sitoplazmik bulanıklık gözlenmiştir. Sinüzoidlerde hafif düzensizlik ve hepatositlerde sınırların belirginliğinde azalma dikkati çekmiştir. Bununla birlikte, merkezi ven çevresi korunmuş olup yaygın inflamasyon veya nekroz bulgusuna rastlanmamıştır. Bu durum, düşük doz NP maruziyetinin karaciğerde sınırlı düzeyde morfolojik değişikliklere neden olduğunu göstermektedir.

NP2 grubuna ait kesitlerde, hepatositlerde orta düzeyde vakuolizasyon, hücrel şişme ve bazı alanlarda hücre dejenerasyonu gözlenmiştir. Sinüzoidal yapılar belirginliğini kaybetmiş, hücreler arası bağlantılar bozulmuştur. Ayrıca merkezi ven çevresinde lenfositik infiltrasyon ve konjesyon mevcuttur. Bu bulgular, orta düzey NP dozunun karaciğer dokusunda belirgin histopatolojik hasar oluşturduğunu göstermektedir.

NP3 grubuna ait kesitlerde ise hepatik mimarinin büyük ölçüde bozulduğu, yaygın hücre hasarı, sitoplazmik vakuolizasyon ve nekrotik alanlar dikkat çekmiştir. Özellikle merkezi ven çevresinde yoğun bağ doku artışı ve fibrotik alanlara benzer yapılar gözlenmiştir. Sinüzoidlerin kaybolduğu, hücrel sınırların tamamen silikleştiği, bazı hepatositlerin çekirdeksiz ya da piknotik olduğu görülmüştür. Bu değişiklikler, yüksek doz nonilfenolmaruziyetinin karaciğer dokusunda şiddetli toksik etki oluşturduğunu, nekroz ve fibrozis gelişimi ile sonuçlandığını göstermektedir. Düşük doz uygulamalar hafif düzeyde değişikliklere neden olurken, orta ve yüksek dozlarda ciddi düzeyde hücrel hasar, inflamasyon ve fibrotik değişiklikler gözlenmiştir.

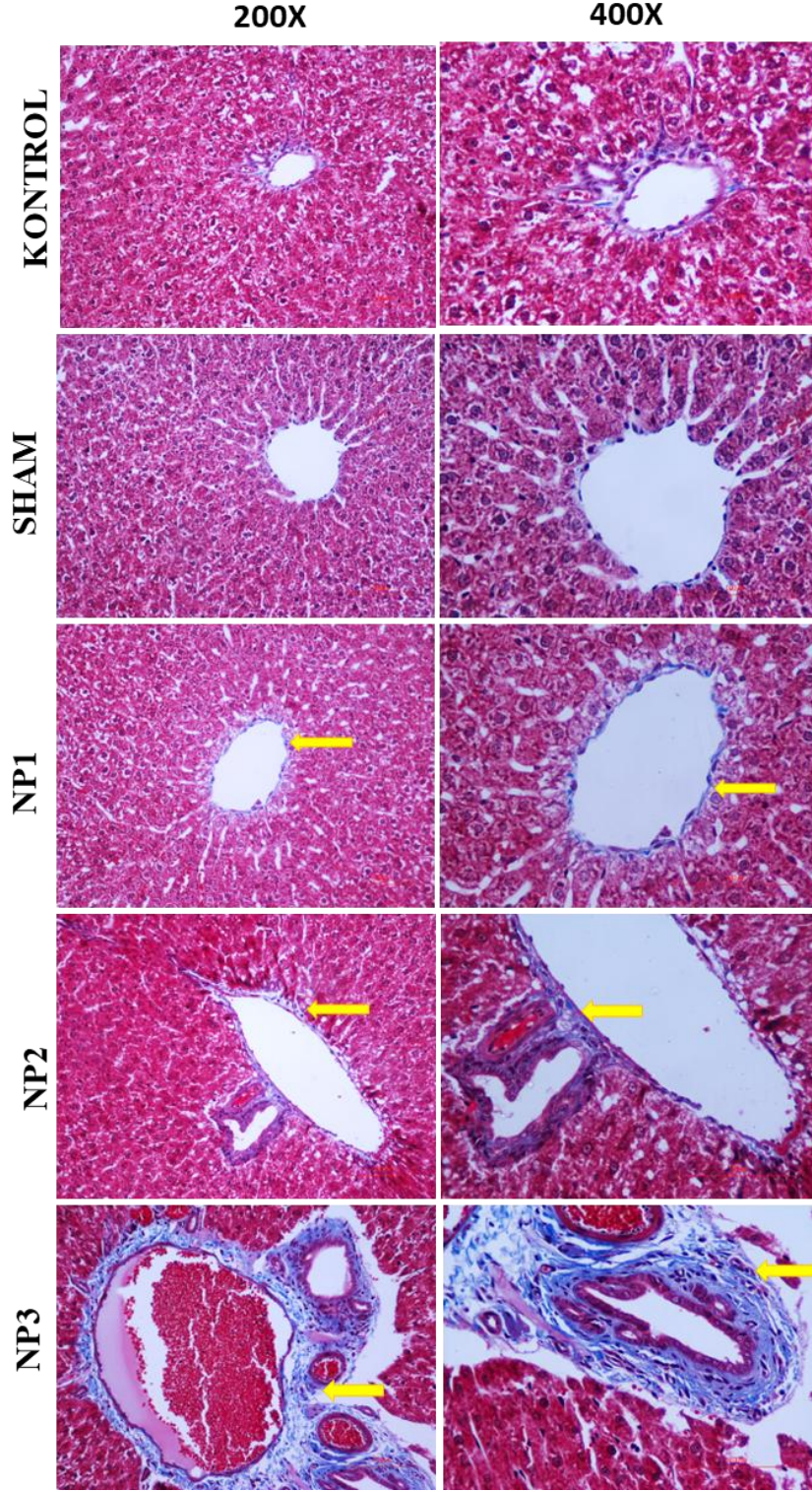


Şekil 4.3: Deney gruplarında karaciğer kesitleri H&E boyama. (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100µm.) Kontrol grubu; karaciğer dokusu, normal hepatosit morfolojisi, düzenli hepatosit kordonları ve belirgin sinüzoidal yapılar. NP1 grubu; karaciğer dokusu, hepatositlerde hafif vakuolizasyon (sarı ok başı), sinüzoidal yapılarda düzensizlik (siyah ok). NP2 grubu; karaciğer dokusu, hepatositlerde belirgin vakuolizasyon ve sitoplazmik şişme (sarı ok başı), sinüzoidlerin düzeninin bozulduğu ve hücresel dejenerasyonun gözlemlendiği alanlar (sarı yıldız). NP3 grubu; karaciğer dokusu, yaygın hücresel hasar (siyah ok başı), yoğun vakuolizasyon, merkezi ven çevresinde fibrotik değişiklikler (sarı ok) ve karaciğer mimarisinde belirgin bozulma.

4.4. Masson Trikrom Boyama ile Histopatolojik Bulgular

Masson Trikrom boyaması ile yapılan histopatolojik değerlendirmede, gruplar arasında bağ dokusu birikimi açısından anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde, hepatosit kordonları arasında yer alan sinüzoidal aralıklar normal görünümde olup, fibrozis bulgusu saptanmamıştır. Kollajen liflerinin minimal düzeyde ve fizyolojik sınırlarda olduğu görülmüştür.

NP1 grubunda sınırlı düzeyde bağ dokusu artışı izlenmiş, özellikle merkezi ven çevresinde ince kollajen liflerinin hafif birikimi dikkat çekmiştir. Bu durum, düşük doz NP maruziyetinin erken fibrotik değişimlere zemin hazırlayabileceğini göstermektedir. NP2 grubuna ait kesitlerde ise merkezi ven çevresi ve portal alanlarda daha belirgin kollajen birikimi gözlemlenmiş, hepatosit kordonları arasında lifsi doku artışı ve hafif fibrozis oluşumu tespit edilmiştir. NP3 grubunda yoğun bağ doku birikimi, özellikle periportal ve perisinüzoidal alanlarda belirginleşmiş, bazı alanlarda hepatositlerin tamamen lifsi dokularla çevrelendiği ve normal karaciğer mimarisinin kaybolduğu izlenmiştir. Bu bulgular, yüksek doz NP uygulamasının fibrotik süreci tetiklediğini ve karaciğer dokusunda ciddi fibrozis gelişimine yol açtığını göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: Deneş gruplarında karaciğer kesitleri MT boyama (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100µm.). Kontrol grubu; karaciğer dokusu, normal kollajen dağılımı, fibrotik bulgu izlenmemekte. NP1 grubu; karaciğer dokusu, merkezi ven çevresinde hafif düzeyde kollajen birikimi (sarı ok). NP2 grubu; karaciğer dokusu, hepatosit kordonları arasında belirginleşen kollajen lifleri ve periportal fibrozis başlangıcı (sarı ok). NP3 grubu; karaciğer dokusu, yaygın kollajen birikimi, periportal ve perisinüzoidal bölgelerde ileri düzey fibrozis (sarı ok), karaciğer mimarisinde bozulma.

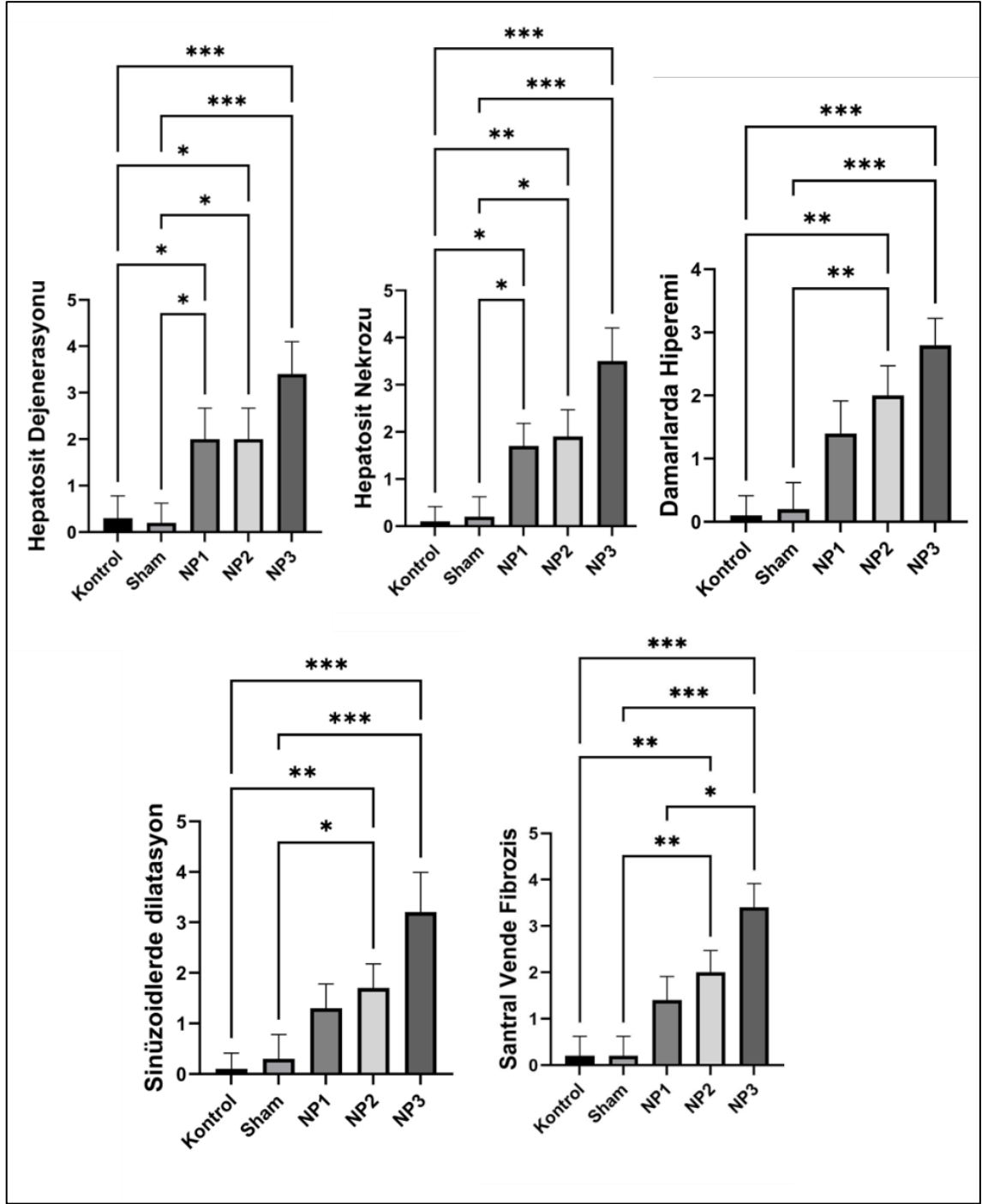
4.5.Karaciğer Histopatolojik Skorlamasının Değerlendirmesi

Karaciğer dokusuna ait histopatolojik skorlama sonuçları incelendiğinde, kontrol ve sham gruplarında hepatosit dejenerasyonu, nekrozu, damar hiperemisi, sinüzoidal dilatasyon ve santral vende fibrozis açısından düşük düzeyde skorlamalar gözlenmiştir. Bu bulgular, normal karaciğer yapısının korunduğunu ve herhangi bir toksik etkilene oluşmadığını göstermektedir. NP1 grubunda ise tüm parametrelerde anlamlı artışlar saptanmıştır; özellikle hepatosit dejenerasyonu ve damar hiperemisi belirgin şekilde artış göstermiştir ($p<0,05$). NP2 ve NP3 gruplarında bu artış daha belirgin hale gelmiş; hepatosit nekrozu, sinüzoidal dilatasyon ve santral vende fibrozis gibi hasar bulguları anlamlı şekilde yükselmiştir ($p<0,01$ ve $p<0,001$). NP3 grubunda ise tüm parametrelerde en yüksek skorlama değerleri elde edilmiştir ($p<0,001$), bu durum yüksek doz nonilfenol uygulamasının karaciğerde yaygın hücrel hasar ve fibrotik değişikliklere yol açtığını açıkça ortaya koymaktadır. İstatistiksel analizler, deney grupları ile kontrol ve sham grupları arasında anlamlı farklar bulunduğunu göstermektedir (Tablo4.1, Şekil 4.5.).

Tablo 4.1: Nonilfenol uygulanan gruplarda karaciğer dokularında gözlenen histopatolojik bulguların skorlama değerleri.

PARAMETRE	Kontrol	Sham	NP1	NP2	NP3
Hepatosit Dejenerasyon	0,33±0,21	0,67±0,33	1,5 ± 0,43*	2,17± 0,54*	3,5± 0,55***
Hepatosit Nekrozu	0,17± 0,17	0,5 ± 0,22	1,33±0,42*	2,0±0,63**	3,33±0,61***
Damar Hiperemisi	0,33± 0,21	0,67±0,33	1,67± 0,52	2,5± 0,55**	3,5 ± 0,55***
Sinüzoidal Dilatasyon	0,33± 0,21	0,5 ± 0,22	1,5 ± 0,43*	2,17±0,54**	3,67±0,52***
Santral Vende Fibrozis	0,33± 0,21	0,67±0,33	1,33± 0,42	2,17±0,54**	3,17±0,75***

Veriler Ortalama ± Standart Sapma (SS) olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz: Tek yönlü ANOVA + post hoc test. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.



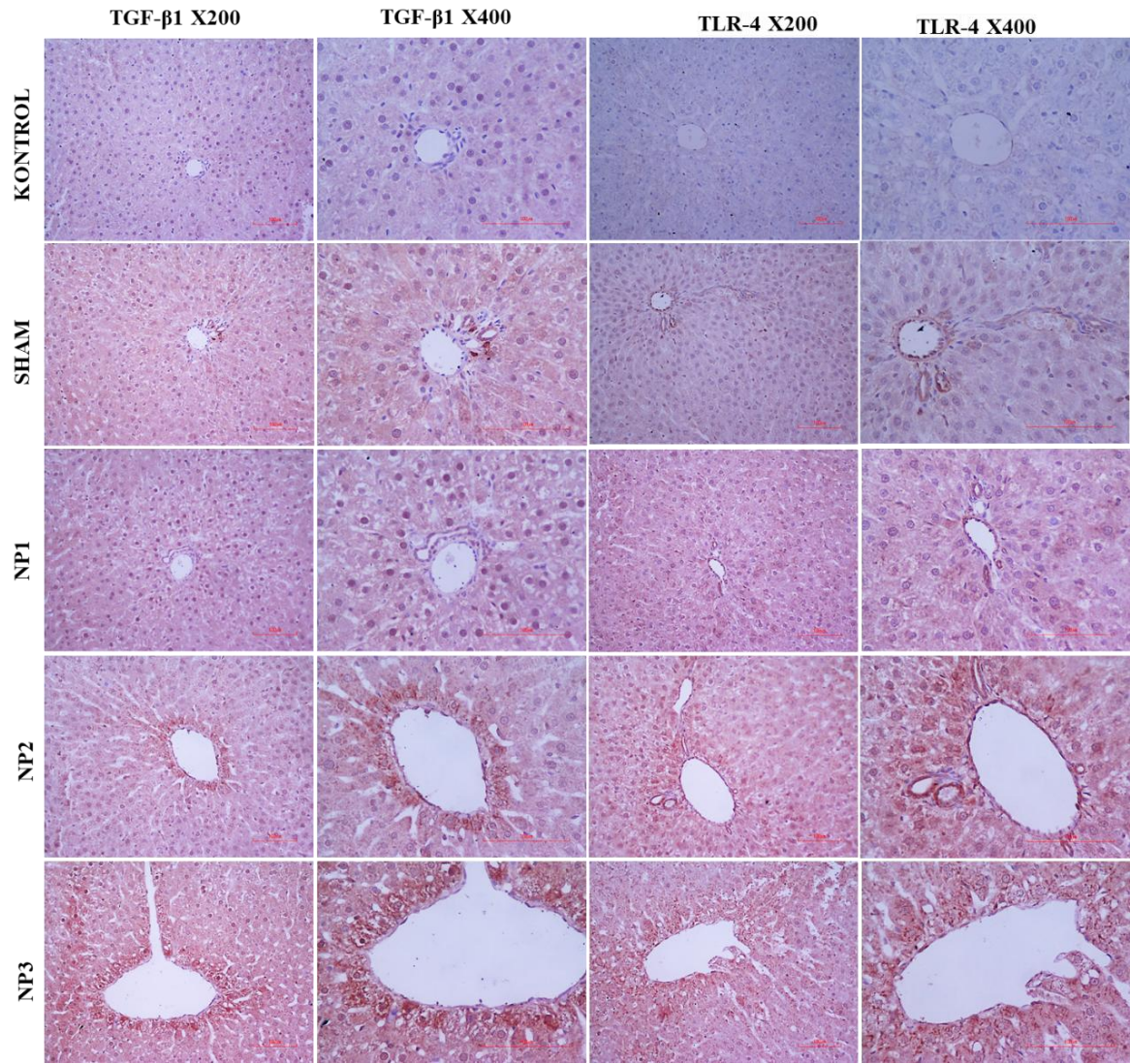
Şekil 4.5: Karaciğer dokularına ait histopatolojik bulguların yarı kantitatif skorumları (ortalama ± SS). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

4.6. Karaciğerin İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi

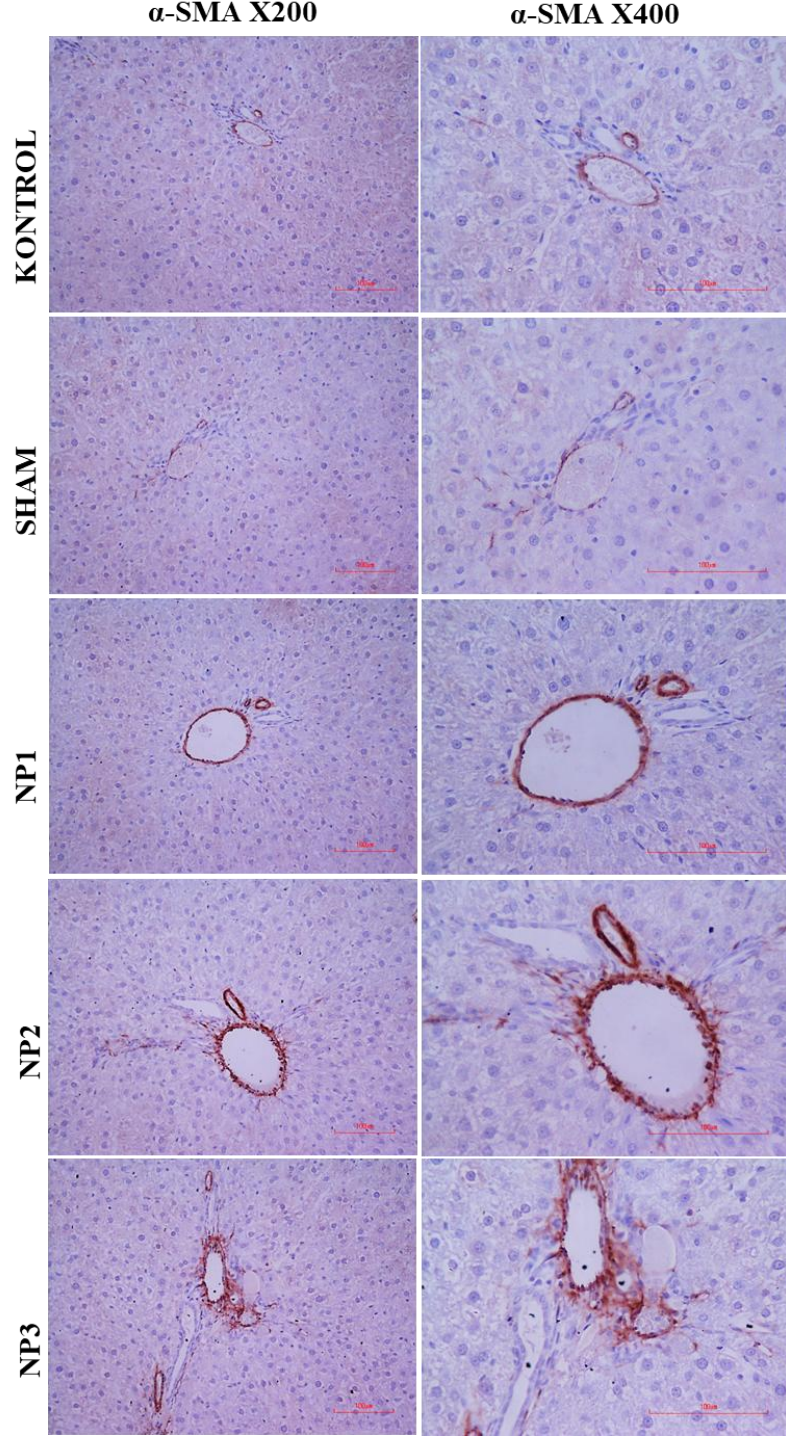
Karaciğer dokularında TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA antikorlarına yönelik yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede, NP uygulamasının bu belirteçlerin ekspresyon düzeylerini doz bağımlı olarak artırdığı gözlenmiştir. Kontrol grubunda, tüm belirteçlerde immünreaktivite oldukça zayıf düzeyde olup, TGF- β 1 ve TLR-4 pozitifliği genellikle portal

alanlarla sınırlı ve sınırlı sayıda hücreyle kısıtlyken, α -SMA ekspresyonu sadece vasküler düz kas hücrelerinde fizyolojik düzeyde izlenmiştir. Sham grubunda, taşıyıcı olarak uygulanan mısır yağının TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonunu hafif düzeyde artırdığı, ancak α -SMA immünpozitifliğinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı görülmüştür.

NP1 grubunda TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonları belirginleşmeye başlamış, özellikle portal alanlarda ve çevre parankimde daha yaygın immünreaktivite alanları izlenmiştir. α -SMA pozitifliği ise sınırlı olmakla birlikte, hepatik stellat hücre aktivasyonunu işaret edecek şekilde portal alan çevresinde belirginleşmiştir. NP2 grubunda TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonları daha da yaygın ve yoğun hale gelmiş, boyanmanın parankimal hepatositlere kadar uzandığı ve immünreaktivitenin arttığı dikkati çekmiştir. Aynı şekilde α -SMA pozitifliği de portal alan çevresinde yoğunlaşmış, belirgin fibrojen aktivitesi gözlenmiştir. NP3 grubunda ise TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA ekspresyonlarının en yoğun olduğu grup olarak öne çıkmıştır. TGF- β 1 ekspresyonu hem portal alanlarda hem de çevre dokuya yayılım göstermiş; TLR-4 immünreaktivitesi ise belirgin şekilde artarak hem damar çevresi hem de bazı hepatositlerde pozitiflik göstermiştir. α -SMA boyanması ise portal alanlarla sınırlı kalmamış, bazı alanlarda perisinüzoidal bölgelere kadar yayılmış ve ileri düzeyde hepatik stellat hücre aktivasyonunu yansıtmıştır. Bu bulgular genel olarak, nonilfenol maruziyetinin karaciğer dokusunda inflamatuvar yanıtı (TLR-4), fibrotik sinyalizasyonu (TGF- β 1) ve fibrozis gelişimini (α -SMA) birlikte ve doz bağımlı olarak uyardığını ortaya koymaktadır (Şekil 4.6, Şekil 4.7).



Şekil 4.6: Deneş gruplarında karaciğer kesitleri TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonuna yönelik immünohistokimyasal boyama görüntüleri (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.).



Şekil 4.7: Deney gruplarında karaciğer kesitleri α -SMA ekspresyonuna yönelik immünohistokimyasal boyama görüntüleri (Nikon Eclipse Si, Tokyo, Japonya; Bar: 100 μ m.). α -SMA immünreaktivitesi NP2 ve NP3 gruplarında yoğun immünreaktivite fibrotik aktivasyonun arttığını göstermektedir.

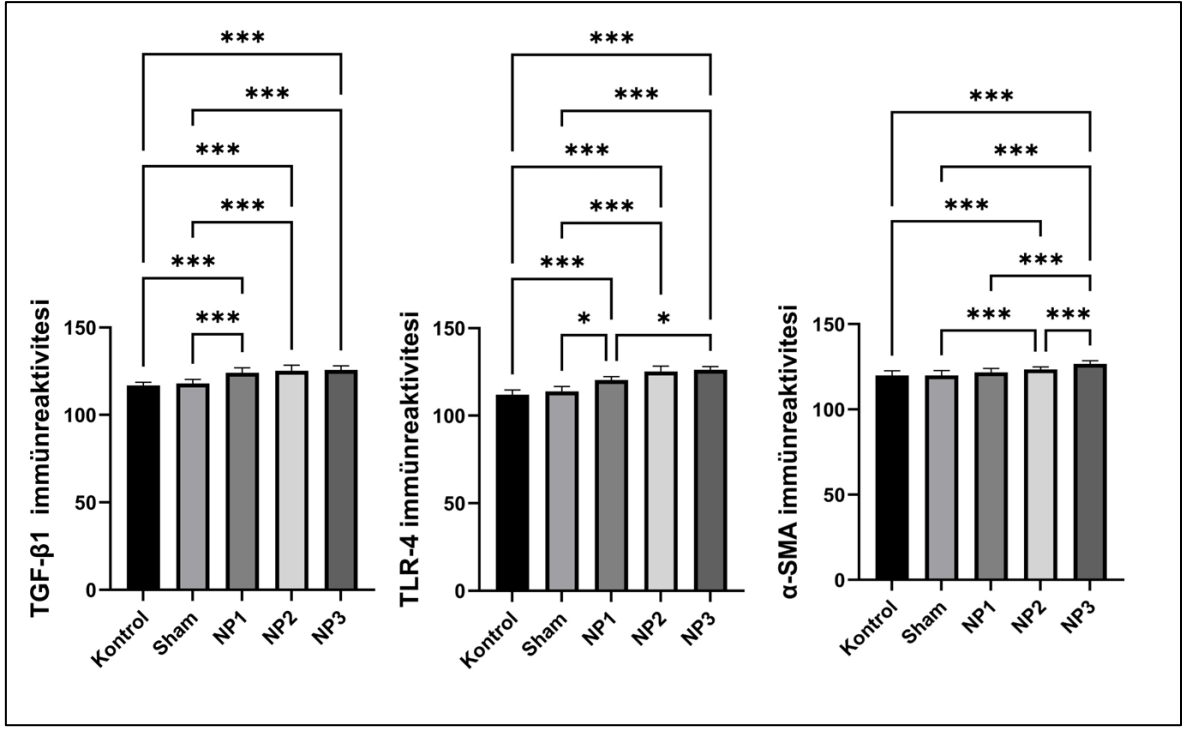
Karaciğer dokusunda TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA'ya yönelik immünreaktivite analizleri, nonilfenol uygulamasının bu fibrotik ve inflamatuvar belirteçler üzerinde anlamlı düzeyde artışa neden olduğunu göstermiştir. TGF- β 1 immünreaktivitesi, kontrol ve sham grubuna kıyasla ve tüm NP uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır

($p < 0.001$). NP1 ile NP2 ve NP3 arasında sıralı bir şekilde immünreaktivite artışı gözlenirse de bu fark anlamlı olmamıştır.

TLR-4 immünreaktivitesinde de benzer bir artış eğilimi saptanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla NP1, NP2 ve NP3 gruplarında anlamlı artışlar gözlenmiştir. Sham ve NP1 grubu arasında TLR-4 immünreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu, düşük doz NP uygulamasının, çözünen madde (mısır yağı) verilen sham grubuna kıyasla hafif fakat anlamlı düzeyde TLR-4 aktivasyonuna yol açtığını göstermektedir. Bu fark, NP'nin immün sistemi uyarıcı etkisinin düşük dozda sınırlı fakat mevcut olduğunu gösterir. NP1 ve NP3 grupları arasındaki anlamlı fark ise ($p < 0,05$) doz artışına bağlı olarak inflamatuvar yanıtın güçlendiğini desteklemektedir.

α -SMA immünreaktivitesi, kontrol ve sham gruplarında düşük düzeyde seyretmiş olup, bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı şekilde, NP1 grubunda kontrol ve sham gruplarıyla kıyaslandığında α -SMA düzeyinde anlamlı bir artış göstermediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Buna karşılık, NP2 ve NP3 gruplarında α -SMA ekspresyonu anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,001$), bu da hepatik stellat hücre aktivasyonunun ve fibrotik yanıtın ancak orta ve yüksek doz NP uygulamalarıyla ortaya çıktığını göstermektedir. Ayrıca NP1 ile NP3 ($p < 0,001$) ve NP2 ile NP3 ($p < 0,001$) grupları arasında da anlamlı farklar saptanmış olup, α -SMA ekspresyonunun doz bağımlı bir artış gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 4.8).

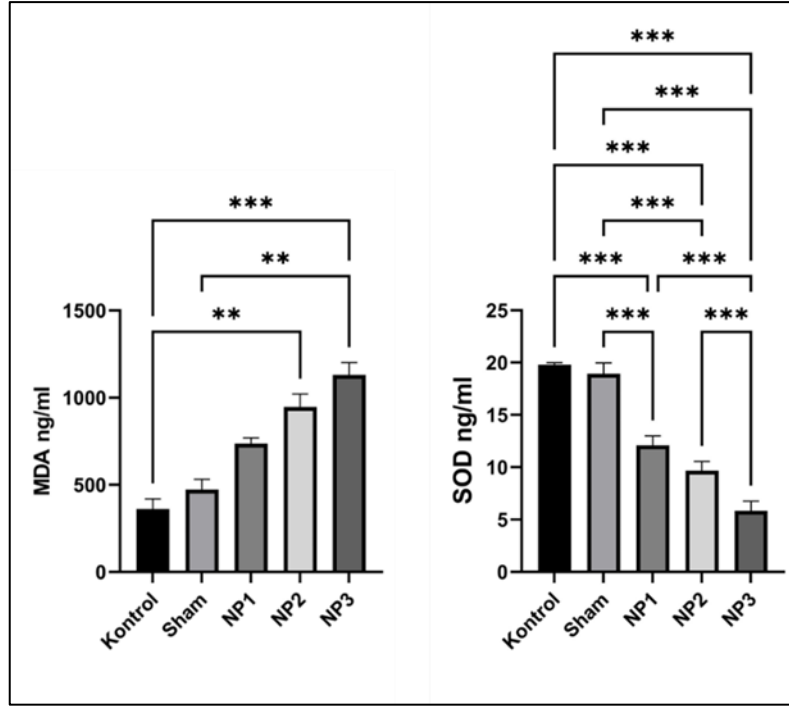
Tüm bu bulgular, nonilfenol maruziyetinin doza bağımlı olarak TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA immünreaktivitesini artırdığını, bunun da karaciğer dokusunda inflamasyon ve fibrozis süreçlerinin birlikte aktive olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.8: Karaciğer dokularında TGF-β1, TLR-4 ve α-SMA ekspresyonuna yönelik immünreaktivite düzeylerinin gruplara göre karşılaştırılması. Nonilfenol(NP) uygulanan gruplarda tüm belirteçlerde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

4.7. Biyokimyasal Bulgular

Gruplar arası MDA düzeyleri ve SOD enzim aktiviteleri karaciğer dokusunda değerlendirilmiştir. Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyleri, kontrol ve sham gruplarına kıyasla tüm NP uygulama gruplarında doza bağımlı şekilde artmıştır. Fakat anlamlı olarak artış özellikle NP2 (p<0,01) ve NP3 (p<0,001) grubunda olmuştur. Buna karşılık, antioksidan enzimlerden SOD düzeyleri kontrol ve sham gruplarında yüksek seyrederken, NP uygulama gruplarında giderek azalmış ve tüm doz NP gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı azalma göstermiştir (p<0,001). Bu sonuçlar, nonilfenol maruziyetinin lipid peroksidasyonunu artırarak oksidatif stres oluşturduğunu ve endojen antioksidan savunmayı baskıladığını ortaya koymaktadır (Şekil 4.9.)



Şekil 4.9: KC dokularına ait oksidatif stres seviyeleri. MDA düzeyi ve SOD enzim aktivitesi istatistiksel analizi. Veriler ortalama \pm standart sapma (mean \pm SD) şeklinde değerlendirilmiştir. *; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

NP, endüstriyel ve tüketici ürünlerinde yaygın olarak kullanılan bir endokrin bozucu kimyasaldır. Yüze aktif maddelerin temel bileşenlerinden biri olan NP, tekstil, plastik, deterjan, kozmetik, farmasötik ürünler ve tarım kimyasalları gibi pek çok sektörde karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca sigara dumanı, pestisitler ve herbisitler gibi çevresel kirleticilerde de NP kalıntılara rastlanmaktadır. Bu yaygın kullanım alanları nedeniyle NP doğaya kolayca sızabilmekte, su kaynaklarına, toprağa ve gıda zincirine kolayca karışabilmekte ve ekosistem ile insan sağlığı üzerinde potansiyel riskler oluşturmaktadır (82).

Çalışma boyunca NP maruziyetinin sistemik toksik etkileri vücut ağırlığı değişimleri üzerinden değerlendirilmiştir. Deney süresince tüm grupların başlangıç ağırlıkları benzer olmasına rağmen, 15 günlük NP uygulaması sonucunda kontrol ve sham gruplarında beklenen fizyolojik ağırlık artışı gözlemlenirken, NP uygulanan gruplarda doza bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı kilo kayıpları tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Özellikle yüksek doz NP grubunda (NP3) belirgin şekilde daha fazla ağırlık kaybı kaydedilmesi, NP'nin katabolik süreçleri tetikleyerek metabolik dengeyi bozduğunu düşündürmektedir. Literatürle uyumlu şekilde, bu kilo kaybının altında yatan mekanizmalar arasında NP'nin iştah baskılayıcı etkileri, gastrointestinal sistem hasarı ve besin emilim bozuklukları yer alabilir (5, 83). Ayrıca, NP'nin endokrin sistemi bozarak enerji metabolizmasını etkilemesi veya oksidatif stres yoluyla dokuların enerji kullanımını bozması da muhtemel açıklamalar olarak öne sürülebilir. Bu bulgular, NP'nin yalnızca lokal doku hasarına yol açmakla kalmayıp, sistemik düzeyde homeostazisi bozarak organizmanın genel fizyolojisini olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır. NP maruziyetinin doza bağlı olarak vücut ağırlığında azalmaya neden olması, bu kimyasalın potansiyel metabolik toksisitesine işaret etmektedir. İleride yapılacak çalışmalarda, NP'nin iştah regülasyonu, bağırsak bariyer fonksiyonu ve enerji metabolizması üzerindeki spesifik etkilerinin moleküler düzeyde incelenmesi önerilmektedir.

Hipotalamus-hipofiz-endokrin organ eksenleri, organizmanın homeostatik dengesinin sürdürülmesinde merkezi rol oynayan kompleks bir regülasyon ağıdır. Bu sistemin işleyişindeki bozukluklar, büyüme-gelişme geriliği, üreme fonksiyonlarında azalma, metabolik bozukluklar ve nöroendokrin hastalıklar gibi ciddi patolojilere yol açabilmektedir

(84). Yapılan çalışmalar, endüstriyel bir kimyasal olan nonilfenolün (NP) bu hassas sistem üzerinde çoklu etki mekanizmaları ile endokrin bozucu olarak davrandığını ortaya koymaktadır (85). NP özellikle hipotalamus-hipofiz-gonad (HPG) eksenini hedef almakta, GnRH nöronlarının pulsatile salınımını bozarak üreme fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir (86). Deneysel çalışmalar, NP maruziyetinin hipofizer gonadotropin salgılanmasını baskıladığını, bunun sonucunda gonadal steroidogenezisin bozulduğunu göstermektedir. Bu etkilerin temelinde, NP'nin östrojen reseptörleri (ER α ve ER β) ile yapısal benzerlik göstererek endojen hormonların bağlanma bölgelerine kompetitif inhibisyon yapması yatmaktadır. Ayrıca NP'nin aromataz enzim aktivitesini artırarak androjenlerin östrojene dönüşümünü uyardığı, böylece hormon dengesini bozduğu bildirilmiştir (87). NP'nin endokrin sistem üzerindeki uzun vadeli etkilerinden biri de kanser gelişimine olan etkisidir. Özellikle hormona-duyarlı kanserler (meme, prostat, over ve testis kanserleri) açısından risk oluşturan NP, tümör oluşumunu çeşitli mekanizmalarla tetikleyebilmektedir (88). NP maruziyeti sonucu artan oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) gibi DNA hasar belirteçlerinde artışa neden olmaktadır. Ayrıca NP, hücre döngüsü regülasyonunu bozarak kontrolsüz hücre çoğalmasını tetiklemektedir (89). Apoptozisin inhibisyonu ve anjiyogenezin uyarılması da NP'nin karsinojenik etkilerine katkıda bulunmaktadır (90). Epidemiyolojik çalışmalar, NP'ye mesleki maruziyetin hormona-duyarlı kanser insidansında artışla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, NP maruziyetinin kanser riski üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için moleküler epidemiyoloji çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Sharma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sucul bir organizma olan benekli yılanbaşı türünün nonilfenol subletal dozları ile subkronik maruziyeti sonucu karaciğer ve böbrek başta olmak üzere tüm dokularda genotoksik etkilerin gözlemlendiği belirtilmiştir (91). Bu çalışmada, farklı dozlarda uygulanan nonilfenol maruziyetinin karaciğer dokusunda oluşturduğu histopatolojik değişiklikler doz bağımlı bir etki göstermiştir. Kontrol ve sham gruplarında hepatositlerin normal morfolojisi korunmuşken, düşük doz NP grubunda hafif düzeyde vakuolizasyon ve sinüzoidal düzensizlikler gözlenmiştir. Orta doz NP uygulanan grupta ise belirgin hepatosit dejenerasyonu, vakuolizasyon, hücresel şişme ve merkezi ven çevresinde lenfositik infiltrasyon dikkat çekmiş, bu da inflamatuvar sürecin başladığını göstermektedir. Yüksek doz NP uygulamasında ise hepatik mimarinin ciddi şekilde bozulduğu, yaygın nekroz alanları, belirgin fibrotik değişiklikler ve kollajen birikimi ile karakterize karaciğer hasarının geliştiği saptanmıştır. Masson Trikrom boyamaları da bu

bulguları desteklemiş, özellikle orta ve yüksek doz gruplarında fibrozis bulgularının yoğunlaştığı görülmüştür. Bu sonuçlar, nonilfenolün hepatotoksik etkisinin histopatolojik düzeyde açıkça gözlemlenebildiğini ve bu etkinin doza bağlı olarak arttığını ortaya koymaktadır. Benzer doz çalışmalarında ortaya çıkan oksidatif stres böbrek ve karaciğer histomimarisini bozarak inflamasyon, otofaji ve fibrozis süreçlerini harekete geçirmektedir (5, 92).

Li ve ark. [93].gerçekleştirdiği çalışmada, NP maruziyetinin rat pankreası üzerindeki etkileri araştırılmış; özellikle insülin sekresyonu, glukoz toleransı ve olası oksidatif stres mekanizmaları değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, NP'ye maruz kalan ratlarda pankreas dokusunda mitokondriyal disfonksiyon, artmış oksidatif stres düzeyleri ve adacık hücrelerinde apoptozun indüklenmesiyle ilişkili doku hasarı geliştiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, NP maruziyetine bağlı olarak pankreatik adacıkların boyutlarında doza bağlı azalmalar gözlenmiş; bu yapısal küçülmenin insülin salınımında azalmaya ve glukoz toleransında bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Tabassum ve ark. [88] yaptığı çalışmada, nonilfenol NP maruziyetinin erişkin erkek sıçanların beyin dokusu üzerindeki olumsuz etkileri incelenmiş, NP'nin nörotoksik etkiler oluşturduğu ve davranışsal bozulmalara neden olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, NP'nin neden olduğu oksidatif stresin beyinde toksikolojik hasara sebep olduğu ve bilişsel fonksiyonlardaki bozulmanın temel etkenlerinden biri olduğu bildirilmiştir.

Hüls [1995b, 1996g] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, erkek Wistar sıçanlara 14 gün boyunca oral yolla farklı dozlarda benzer bir fenol türevi olan oktilfenol verilerek toksikokinetik davranışı değerlendirilmiştir. Günde 50 ve 200 mg/kg doz uygulanan gruplarda, kandaki oktilfenol düzeyleri 1 saat içinde pik yapmış, 24 saat sonunda belirgin şekilde azalmıştır. Organ ve doku analizlerinde, özellikle yüksek doz grubunda oktilfenol 'ün en fazla yağ dokusunda, ardından ise karaciğer dokusunda biriktiği saptanmıştır. Bu bulgu, oktilfenolün karaciğerde belirgin düzeyde depolandığını ve bu organın toksik etkiler açısından hedef olabileceğini göstermektedir (94).

Hansen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada oral tekrarlı doz çalışmalarında, 28 ve 90 gün boyunca diyetle verilen NP, özellikle yüksek dozlarda (≥ 140 mg/kg/gün) karaciğer ağırlığında artışa ve bazı bireylerde hepatosit nekrozu ile birlikte ALT ve AST düzeylerinde yükselmeye neden olmuştur. Bu bulgular NP'ün karaciğerde yapısal ve fonksiyonel toksisite oluşturabileceğini ve bu organın potansiyel bir hedef doku olduğunu göstermektedir (95).

Çalışmada elde edilen immünohistokimyasal boyama ve analizleri, NP maruziyetinin karaciğer dokusunda fibrotik ve inflamatuvar yanıtları belirgin şekilde aktive ettiğini ortaya koymuştur. TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA gibi kritik belirteçlerin ekspresyon düzeylerinde, NP dozuna bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı artışlar gözlenmiştir ($p < 0,05$). Bu bulgular, NP'nin karaciğerde patolojik süreçleri çoklu mekanizmalarla tetiklediğini göstermektedir. Yüksek doz NP grubunda, TGF- β 1 immünreaktivitesinde belirgin artış tespit edilmiştir. Bu artış özellikle portal alanlar ve parankimal bölgelerde yoğunlaşmış olup, inflamasyon ve fibrojeniz sürecinin aktivasyonuna işaret etmektedir.

Paralel olarak, α -SMA pozitifliğindeki artış hepatik stellat hücrelerinin aktivasyonunu ve miyofibroblast transdiferansiyasyonunu göstermektedir. Bu bulgular, NP maruziyetinin progresif fibrotik değişikliklere yol açtığını ve ekstrasellüler matriks birikimini artırdığını ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada deneysel diyabet ile böbrekte hasar oluşturulan ratlarda profibrotik bir belirteç α -SMA'nın ekspresyon düzeyi fibröz ile uyumlu olarak artmıştır. TGF β /Smad sinyalizasyonu fibronektin ve α -SMA genlerinin ifade edilmesini sağlar. Bu proteinlerin üretimi ve birikimi ise ECM'te fibrozis ile sonuçlanmaktadır (96).

TLR-4 ekspresyonundaki doza bağımlı artış, NP'nin hepatik inflamasyonu uyardığını göstermektedir. İnflamatuvar yanıtın özellikle periportal alanlarda yoğunlaştığı gözlenmiştir. Bu bulgular, NP kaynaklı inflamasyonun fibrozis gelişimine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Bir başka fenol türevi olan bisfenol a (BPA) ile yapılan bir çalışmada, BPA maruziyetinin TLR4 ve NF- κ B protein düzeylerini belirgin şekilde artırarak alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığını (NAFLD) tetiklediği gösterilmiştir. NAFLD, obezite salgınıyla paralel seyreden, yaygın hepatik makroveziküler yağlanma ile karakterize bir sendrom olup, ilerleyen dönemlerde şiddetli fibroz ve siroza dönüşebilmektedir (97).

İnflamasyon ve fibrozis belirteçlerindeki paralel artış, bu iki patolojik sürecin birbirini besleyerek ilerlediğini göstermektedir. Dikkat çekici bir bulgu olarak, düşük doz NP grubunda dahi TGF- β 1 ve TLR-4 ekspresyonunda anlamlı artışlar gözlenmiştir. Bu sonuç, NP'nin toksik etkilerinin yalnızca yüksek dozlarla sınırlı olmadığını, düşük doz maruziyetlerde dahi patolojik süreçleri başlatabildiğini göstermektedir. Bu bulgu, NP'nin çevresel maruziyet düzeylerinin bile potansiyel risk oluşturabileceğine işaret etmesi açısından önemlidir. Elde edilen immünohistokimyasal veriler, NP'nin karaciğerde inflamasyon ve fibrozisi paralel olarak aktive eden önemli bir çevresel toksikan olduğunu desteklemektedir. Bu bulgular, özellikle mesleki olarak NP'ye maruz kalan bireylerde

karaciğer sağlığının izlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, TGF- β 1 ve TLR-4 gibi belirteçlerin, NP kaynaklı karaciğer hasarının erken tanısında potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabilirdiği düşünölmektedir.

Çalışmada elde edilen biyokimyasal veriler, NP maruziyetinin karaciğer dokusunda oksidatif stres parametreleri üzerinde belirgin etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur. MDA düzeylerindeki anlamlı artış, nonilfenolün karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonunu uyararak oksidatif hasarı tetiklediğini göstermektedir. Buna karşılık, SOD enzim düzeylerinin doza bağımlı olarak azalması, antioksidan savunma kapasitesinin baskılandığını ve serbest radikallerin detoksifikasyonunda yetersizlik geliştiğini ortaya koymaktadır. Literatürde de benzer şekilde nonilfenol ve diğer endokrin bozucuların reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırarak hücrenel oksidatif dengeyi bozduğu, bu dengenin bozulmasının fibrozis ve inflamatuvar yanıtların şiddetlenmesinde kritik rol oynadığı bildirilmektedir (98-100). Elde ettiğimiz sonuçlar, nonilfenolün hepatik dokuda oksidatif stres aracılığıyla fibrotik süreçleri hızlandırabileceğini ve bu etkilerin doza bağımlı olarak güçlendiğini göstermektedir. Bu bulgular, nonilfenol maruziyetinin karaciğer patofizyolojisi açasından ciddi bir risk faktörü olabileceğini desteklemektedir.

Sonuç olarak;

Bu çalışmada, farklı dozlarda uygulanan nonilfenol maruziyetinin sıçan karaciğer dokusunda oluşturduğu histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal etkiler kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir;

Histopatolojik Sonuçlar:

- Orta ve yüksek doz nonilfenol gruplarında belirgin hücrenel dejenerasyon, hepatosit nekrozu, sinüzoidal bozulma ve fibrotik değişiklikler gözlemlenmiştir.
- H&E ve Masson Trikrom boyamaları ile bu değişiklikler doğrulandı; yüksek doz grubunda yaygın mimari bozulma ve bağ dokusu birikimi saptanmıştır.
- Histopatolojik skorlamalar, nonilfenol dozlarının artışıyla hepatik hasarın şiddetinin paralel şekilde arttığını göstermiştir.

İmmünohistokimyasal Sonuçlar:

- TGF- β 1, TLR-4 ve α -SMA ekspresyonu özellikle orta ve yüksek nonilfenol gruplarında anlamlı düzeyde artmıştır.

- Düşük doz nonilfenol dahi kontrol ve sham gruplarına göre inflamatuvar yanıt oluşturmuş; ancak yanıt, doz artışıyla daha belirgin hale gelmiştir.
- α -SMA'daki anlamlı artış yalnızca orta ve yüksek dozlarda gözlenmiştir; bu durum fibrotik sürecin özellikle yüksek dozlarla aktive edildiğini işaret etmektedir.

Biyokimyasal Sonuçlar:

- Malondialdehit (MDA) düzeylerinde artış tespit edilmiştir; bu durum lipid peroksidasyonunun yükseldiğini göstermektedir.
- Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde azalma gözlenmiştir; bu da antioksidan savunmanın zayıfladığını ortaya koymaktadır.
- Bulgular, nonilfenol maruziyetinin oksidatif stres mekanizmalarını aktive ederek hücrel savunmayı azalttığını desteklemektedir.

Nonilfenol maruziyeti, karaciğerde inflamasyon, fibrogenez ve oksidatif stresi doza bağımlı olarak uyarmaktadır. Özellikle yüksek dozlarda karaciğer mimarisinde ciddi hasar, fibrotik değişiklikler ve biyokimyasal bozulmalar ortaya çıkmaktadır. Çalışma, nonilfenolün hepatotoksik potansiyeline dair güçlü kanıtlar sunmakta ve çevresel/toksikolojik risklerin önemle değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Öneriler;

Nonilfenolün doza bağlı toksik etkilerini önlemek için antioksidan ve antiinflamatuvar bileşiklerin koruyucu potansiyeli deneysel olarak değerlendirilmelidir. Özellikle TGF- β 1/Smad ve TLR-4/NF- κ B sinyal yollarını hedefleyen moleküler müdahaleler, fibrozis ve inflamasyonun düzenlenmesinde incelenebilir. In vitro hepatosit ve stellat hücre modelleri bu mekanizmaların araştırılmasında yararlı olacaktır.

Nonilfenolün uzun süreli maruziyetinin karaciğerde oluşturduğu hasarın geri dönüşüm potansiyelinin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, 6 ay ve üzeri kronik maruziyet modellerinde kollajen yıkım belirteçleri (MMP-1/TIMP-1 oranı), hepatik rejenerasyon kapasitesi (PCNA ve Ki-67 ekspresyonu) ile epigenetik değişikliklerin kalıcılığı (DNA metilasyon analizleri) kapsamlı şekilde incelenmelidir. Bu çalışmalar, NP kaynaklı karaciğer hasarının geri dönüşümü hakkında değerli bilgiler sunacaktır.

Nonilfenolün endokrin sistem ve diğer organlardaki etkilerinin daha iyi anlaşılması için çok disiplinli araştırmalara ihtiyaç vardır. Hipotalamus-hipofiz-gonad, adrenal ve tiroit eksenlerindeki değişikliklerin karaciğer fonksiyonları ile ilişkisi, nöroendokrin hormonlar

(CRH, ACTH, kortikosteron) üzerinden incelenebilir. Ayrıca, organlar arası eksozom sinyalizasyonu ve mikrobiyota-karaciğer-beyin eksenindeki değişimlerin değerlendirilmesi, nonilfenolün sistemik etkilerini açıklamada önemli olacaktır.

İleri genetik ve epigenetik çalışmalar, nonilfenolün karaciğerde fibrozis ve inflamasyona neden olan moleküler mekanizmalarının anlaşılması için önemlidir. Tek hücre RNA sekanslama ile fibrotik hücreler tanımlanmalı, kromatin değişiklikleri incelenmelidir. Hücreler arası iletişim ağlarının belirlenmesi de nonilfenol toksisitesinin mekanizmalarını aydınlatacaktır. Bu araştırmalar, etkili terapötik hedeflerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Nonilfenol maruziyetinin azaltılması için kapsamlı halk sağlığı önlemleri alınabilir. Endüstriyel alanda nonilfenol içeren atık suların ileri oksidasyon prosesleri ile arıtımı zorunlu hale getirilebilir. Tüketici ürünlerinde nonilfenol yerine daha güvenli alternatiflerin kullanımı teşvik edilebilir. Kamu sağlığı düzeyinde ise populasyon taramaları yapılarak maruziyet düzeyleri izlenmeli ve halk nonilfenolün zararları konusunda bilinçlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- Friedman SL. Liver fibrosis—from bench to bedside. *J Hepatol.* 2003;38 Suppl 1:S38-53.
- 2- Huang Q, Bu L, Yang T, Yang Y, Huang S, Yang J, et al. Effects of nonylphenol administration on serum, liver and testis estrogen metabolism. *Chemosphere.* 2019;235:543-9.
- 3- Bahar AN, Akbulut KG. Karaciğer Fibrozisinde Sinyal Yolakları. *Gazi Med J.* 2023;34(1):53-70.
- 4- Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol.* 2012;590(3):447-58.
- 5- Kazemi S, Kani SNM, Ghasemi-Kasman M, Aghapour F, Khorasani H, Moghadamnia AA. Nonylphenol induces liver toxicity and oxidative stress in rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016;479(1):17-21.
- 6- Zong Y, Friedman JR. Liver development. In: Suchy FJ, Sokol RJ, editors. *Liver disease in children.* Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 1-813.
- 7- Carlson BM. İnsan Embriyolojisi ve Gelişim Biyolojisi. 6. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2022.
- 8- Sumadewi KT. Embryology, anatomy and physiology of the liver. *Indian J Clin Anat Physiol.* 2023;10(3):138-44.
- 9- Lemaigre FP. Mechanisms of liver development: concepts for understanding liver disorders and design of novel therapies. *Gastroenterology.* 2009;137(1):62-79.
- 10- Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Klinik yönleriyle insan embriyolojisi. 9. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2014.
- 11- Sadler TW. Langman'ın Medikal Embriyoloji Kitabı. 13. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2015.
- 12- Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol.* 2010;176(1):2-13.
- 13- Ugo L, Quaia E. Embryology and Development of the Liver. In: Quaia E, editor. *Imaging of the Liver and Intra-hepatic Biliary Tract.* Cham: Springer; 2021. p. 3-13.

- 14- Standring S, Ellis H, Healy J, Johnson D, Williams A, Collins P, et al. *Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice*. 39th ed. London: Churchill Livingstone; 2005.
- 15- Yıldırım M. *İnsan Anatomisi*. 10. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2019.
- 16- Agur AMR, Dalley AF II. *Grant's Atlas of Anatomy*. 16th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2024.
- 17- Mann FC, Magath TB. Studies on the physiology of the liver: II. The effect of the removal of the liver on the blood sugar level. *Arch Intern Med*. 1922;30(1):73-84.
- 18- Rappaport AM. The microcirculatory hepatic unit. *Microvasc Res*. 1973;6(2):212-28.
- 19- Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, McCuskey RS. The liver sieve: considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology*. 1985;5(4):683-92.
- 20- Eipel C, Abshagen K, Vollmar B. Regulation of hepatic blood flow: the hepatic arterial buffer response revisited. *World J Gastroenterol*. 2010;16(48):6046-57.
- 21- Matsumoto T, Kawakami M. The unit-concept of hepatic parenchyma—a re-examination based on angioarchitectural studies. *Acta Pathol Jpn*. 1982;32:285-314.
- 22- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev*. 2008;88(1):125-72.
- 23- Lautt WW. *Hepatic circulation*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2009.
- 24- Tanaka M, Iwakiri Y. The hepatic lymphatic vascular system: structure, function, markers, and lymphangiogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2016;2(6):733-49.
- 25- Hsu MC, Itkin M. Lymphatic anatomy. *Tech Vasc Interv Radiol*. 2016;19(4):247-54.
- 26- Tahara Y, Shibata S. Circadian rhythms of liver physiology and disease: experimental and clinical evidence. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(4):217-26.
- 27- Hundt M, Basit H, John S. Physiology, bile secretion. *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017. [Erişim Tarihi: 15.04.2025] Erişim adresi : <https://europepmc.org/article/NBK/nbk470209>.
- 28- Carotti S, Morini S, Carpino G, Gaudio E. Liver histology. In: *Liver Diseases: A Multidisciplinary Textbook*. Cham: Springer; 2020. p. 17-28.
- 29- Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *Surg Clin North Am*. 2010;90(4):643-53.
- 30- Burt AD, Ferrell LD, Hübscher SG. *MacSween's pathology of the liver*. 7th ed. London: Elsevier Health Sciences; 2022.

- 31- Untaroiu CD, Lu YC. Material characterization of liver parenchyma using specimen-specific finite element models. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2013;26:11-22.
- 32- Müller PC, Linecker M, Kirimker EO, Oberkofler CE, Clavien PA, Balci D, et al. Induction of liver hypertrophy for extended liver surgery and partial liver transplantation: state of the art of parenchyma augmentation–assisted liver surgery. *Langenbecks Arch Surg.* 2021;406:1-15.
- 33- Kiernan F. The anatomy and physiology of the liver. *Philos Trans R Soc Lond.* 1833;123:711-70.
- 34- Mitra V, Metcalf J. Metabolic functions of the liver. *Anaesth Intensive Care Med.* 2012;13(2):54-5.
- 35- Campbell I. Liver: metabolic functions. *Anaesth Intensive Care Med.* 2006;7(2):51-4.
- 36- Reinke H, Asher G. Circadian clock control of liver metabolic functions. *Gastroenterology.* 2016;150(3):574-80.
- 37- Mahdessian H, Taxiarchis A, Popov S, Silveira A, Franco-Cereceda A, Hamsten A, et al. TM6SF2 is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(24):8913-8.
- 38- McCullough AJ, Tavill AS, editors. Disordered energy and protein metabolism in liver disease. *Semin Liver Dis.* 1991;11(3):265-72.
- 39- Jepson MM, Pell JM, Bates PC, Millward DJ. The effects of endotoxaemia on protein metabolism in skeletal muscle and liver of fed and fasted rats. *Biochem J.* 1986;235(2):329-36.
- 40- Roberts HR, Cederbaum AI. The liver and blood coagulation: physiology and pathology. *Gastroenterology.* 1972;63(2):297-320.
- 41- Bischoff K, Mukai M, Ramaiah SK. Liver toxicity. In: Gupta RC, editor. *Veterinary toxicology.* 3rd ed. London: Elsevier; 2018. p. 239-57.
- 42- Ponchon G, DeLuca H. The role of the liver in the metabolism of vitamin D. *J Clin Invest.* 1969;48(7):1273-9.
- 43- Nava A, Mazza E, Furrer M, Villiger P, Reinhart W. In vivo mechanical characterization of human liver. *Med Image Anal.* 2008;12(2):203-16.
- 44- Sia D, Villanueva A, Friedman SL, Llovet JM. Liver cancer cell of origin, molecular class, and effects on patient prognosis. *Gastroenterology.* 2017;152(4):745-61.
- 45- Vitek L. Bilirubin as a signaling molecule. *Med Res Rev.* 2020;40(4):1335-51.
- 46- Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:425-56.

- 47- Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013;3:1473-92.
- 48- Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *Turk J Gastroenterol*. 2018;29(1):14-21.
- 49- Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta*. 2006;364(1-2):33-60.
- 50- Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. *World J Gastroenterol*. 2006;12(46):7413-20.
- 51- Peng Y, Li Y, He Y, Wei Q, Xie Q, Zhang L, et al. The role of neutrophil to lymphocyte ratio for the assessment of liver fibrosis and cirrhosis: a systematic review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12(5):503-13.
- 52- Karin D, Koyama Y, Brenner D, Kisseleva T. The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis. *Differentiation*. 2016;92(3):84-92.
- 53- Lay AJ, Zhang HE, McCaughan GW, Gorrell MD. Fibroblast activation protein in liver fibrosis. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2019;24(1):1-17.
- 54- Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol*. 2016;22(48):10512-22.
- 55- Cubero FJ, Urtasun R, Nieto N. Alcohol and liver fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2009;29(2):211-21.
- 56- Singal AK, Hasanin M, Kaif M, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the most rapidly growing indication for simultaneous liver kidney transplantation in the United States. *Transplantation*. 2016;100:607-12.
- 57- Sun M, Kisseleva T. Reversibility of liver fibrosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39 Suppl 1:S60-3.
- 58- Penz-Österreicher M, Österreicher CH, Trauner M. Fibrosis in autoimmune and cholestatic liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011;25(2):245-58.
- 59- Anthony B, Allen JT, Li YS, McManus DP. Hepatic stellate cells and parasite-induced liver fibrosis. *Parasites Vectors*. 2010;3:1-7.
- 60- Onozuka I, Kakinuma S, Kamiya A, Miyoshi M, Sakamoto N, Kiyohashi K, et al. Cholestatic liver fibrosis and toxin-induced fibrosis are exacerbated in matrix metalloproteinase-2 deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;406(1):134-40.

- 61- Ma N, Bansal MB, Chu J, Woodward M, Branch AD. Heavy metals are liver fibrosis risk factors in people without traditional liver disease etiologies. *J Environ Sci.* 2025;155:329-42.
- 62- Bolondi L, Gaiani S, Gebel M. Portohepatic vascular pathology and liver disease: diagnosis and monitoring. *Eur J Ultrasound.* 1998;7:S41-52.
- 63- Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, et al. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell.* 2008;134:657-67.
- 64- Paradis V, Dargere D, Vidaud M, et al. Expression of connective tissue growth factor in experimental rat and human liver fibrosis. *Hepatology.* 1999;30:968-76.
- 65- Weber SN, Bohner A, Dapito DH, Schwabe RF, Lammert F. TLR4 deficiency protects against hepatic fibrosis and diethylnitrosamine-induced pre-carcinogenic liver injury in fibrotic liver. *PLoS One.* 2016;11(7):e0158819.
- 66- Zakim D, Boyer TD. *Hepatology: A Textbook of Liver Disease.* New York: Saunders; 2002.
- 67- Gao Y, Xi B, Li J, Li Z, Xu J, Zhong M, et al. Scoparone alleviates hepatic fibrosis by inhibiting the TLR-4/NF- κ B pathway. *J Cell Physiol.* 2021;236(4):3044-58.
- 68- Ying GG, Williams B, Kookana R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. *Environ Int.* 2002;28(3):215-26.
- 69- Kovarova J, Blahova J, Divisova L, Svobodova Z. Alkylphenol ethoxylates and alkylphenols – update information on occurrence, fate and toxicity in aquatic environment. *Pol J Vet Sci.* 2013;16(4).
- 70- Bennie DT. Review of the environmental occurrence of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates. *Water Qual Res J.* 1999;34(1):79-122.
- 71- Cserháti T. Alkyl ethoxylated and alkylphenol ethoxylated nonionic surfactants: interaction with bioactive compounds and biological effects. *Environ Health Perspect.* 1995;103(4):358-64.
- 72- Karci A. Degradation of chlorophenols and alkylphenol ethoxylates, two representative textile chemicals, in water by advanced oxidation processes: the state of the art on transformation products and toxicity. *Chemosphere.* 2014;99:1-18.
- 73- Naylor CG, Mieure JP, Adams WJ, Weeks JA, Castaldi FJ, Ogle LD, et al. Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J Am Oil Chem Soc.* 1992;69(7):695-703.
- 74- Zemheri F, Uğuz C. Endokrin bozucu kimyasallar: Nonilfenol ve Bisfenol A. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi.* 2018;30(1):71-6.



- 75- Ergün SS. Nonilfenol ve Bisfenol A'nın Sığırlarda Gamet Fizyolojisine Olan Etkileri [doktora tezi]. Afyonkarahisar: Afyon Kocatepe Üniversitesi; 2013.
- 76- Uğuz C, Iscan M, Erguven A, Isgor B, Togan I. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Res.* 2003;92(3):262-70.
- 77- Jambor T, Greifova H, Kavacık A, Kovacıkova E, Turda EF, Mossonyi P, et al. Parallel effect of 4-octylphenol and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) alters steroidogenesis, cell viability and ROS production in mice Leydig cells. *Chemosphere.* 2018;199:747-54.
- 78- Abd-Elkareem M, Aboukhalil NS, Sayed AH. Hepatotoxic responses of 4-nonylphenol on African catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant and histochemical biomarker. *Fish Physiol Biochem.* 2018;44:969-81.
- 79- Hong Y, Li H, Feng C, Liu D, Yan Z, Qiao Y, et al. A review on the water quality criteria of nonylphenol and the methodological construction for reproduction toxicity endocrine disrupting chemicals. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2022;260(1):5.
- 80- Gibson-Corley KN, Olivier AK, Meyerholz DK. Principles for valid histopathologic scoring in research. *Vet Pathol.* 2013;50(6):1007-15.
- 81- Katirci E, Kendirci-Katirci R, Korgun ET. Effects of stevioside on the expressions of GLUT 1, GLUT 3, and GLUT 4 proteins in diabetic rat placenta. *Planta Med.* 2023;89(7):735-45.
- 82- Gu W, Wang Y, Qui Z, Dong J, Wang Y, Chen J. Maternal exposure to nonylphenol during pregnancy and lactation induces microglial cell activation and pro-inflammatory cytokine production in offspring hippocampus. *Sci Total Environ.* 2018;634:525-33.
- 83- Pan J, Lu D, Yu L, Ye Z, Duan H, Narbad A, et al. Nonylphenol induces depressive behavior in rats and affects gut microbiota: a dose-dependent effect. *Environ Pollut.* 2024;344:123357.
- 84- Papadimitriou A, Priftis KN. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation.* 2009;16(5):265-71.
- 85- İnkaya EN, Tokgöz E, Barlas N. In vivo investigation of the effects of nonylphenol on the pituitary-adrenal axis and pineal gland in male rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2025;136(3):e70003.
- 86- Tokgöz E. Erkek sıçanlarda nonilfenolün hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini ve epifiz bezi üzerine etkilerinin incelenmesi [doktora tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2023.

- 87- Soares A, Guieysse B, Jefferson B, Cartmell E, Lester JN. Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environ Int.* 2008;34(7):1033-49.
- 88- Tabassum H, Ashafaa M, Paruez S, Raisuddin S. Role of melatonin in mitigating nonylphenol-induced toxicity in frontal cortex and hippocampus of rat brain. *Neurochem Int.* 2017;104:11-26.
- 89- Noorimotlagh Z, Mirzaee SA, Ahmadi M, Jaafarzadeh N, Rahim F. The possible DNA damage induced by environmental organic compounds: The case of Nonylphenol. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018;158:171-81.
- 90- Yao G, Yang L, Hu Y, Liang J, Hou Y. Nonylphenol-induced thymocyte apoptosis involved caspase-3 activation and mitochondrial depolarization. *Mol Immunol.* 2006;43(7):915-26.
- 91- Sharma M, Chadha P. From genotoxicity induction to recovery in different organs in fish *Channa punctatus* after sub chronic exposure to 4-nonylphenol. *Toxicol Int.* 2020;27(1&2):8-13.
- 92- Yalcın B, Onder GO, Goktepe O, Suna PA, Mat OC, Koseoglu E, et al. Enhanced kidney damage induced by increasing nonylphenol doses: impact on autophagy-related proteins and proinflammatory cytokines in rats. *Toxicol Mech Methods.* 2024;34(8):867-76.
- 93- Li X, Zhou L, Ni Y, Wang A, Hu M, Lin Y, et al. Nonylphenol induces pancreatic damage in rats through mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicol Res.* 2017;6(3):353-60.
- 94- Hüls AG. Toxicokinetics of octylphenol PT in male Wistar rats after repeated oral (gavage) and drinking water application. Hüls report no. BT-95/0125. &&& Hüls AG. Determination of octylphenol PT concentrations in tissue samples of male Wistar rats after repeated gavage and drinking water application. Hüls report no. BT-95/0125-3.
- 95- Hansen BG, Munn SJ, De Bruijn J, Pakalin S, Luotamo M, Berthault F, et al. European Union risk assessment report: 4-Nonylphenol (branched) and nonylphenol. Vol. 10. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities; 2002.
- 96- Sarıbaş GS, Tozak Yıldız H, Gorgulu O. Ellagic acid inhibits TGFβ1/Smad-induced renal fibrosis in diabetic kidney injury. *Duzce Med J.* 2022;24(3):321-7.
- 97- Lin R, Wu D, Wu FJ, Meng Y, Zhang JH, Wang XG, et al. Non-alcoholic fatty liver disease induced by perinatal exposure to bisphenol A is associated with activated mTOR and TLR4/NF-κB signaling pathways in offspring rats. *Front Endocrinol.* 2019;10:620.

- 98- Shi R., Liu Z., & Liu, T. The antagonistic effect of bisphenol A and nonylphenol on liver and kidney injury in rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2021;43(5):527-535.
- 99- Yılmaz G, Eren Ü, Güleş Ö, Boyacıoğlu M. Investigation of the Effects of Selenium Against 4-Nonylphenol-induced Toxicity in Rat Testis. *Biol Trace Elem Res*. 2025; 203:4774–4788 <https://doi.org/10.1007/s12011-025-04539-8>.
- 100- Elewa HS, Salama DA, Hikal MS, El hamid MFA, Eid MH, Khalil FM, et al. Protective effects of resveratrol and naringenin against nonylphenol-induced oxidative stress in rats. *AMB Expr*. 2025; 15:1-7. <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01788-z>

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 68429034/ 40
Konu: Onay belgesi

26.09.2024

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ

Sorumlu yürütücü olarak planladığınız “**Karaciğer Fibrozis Modeli: Farklı Dozlarda Nonylphenol Maruziyet**” başlıklı araştırmanıza ait Etik Kurulu kararı ekte olup;
Gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Muttalip ÇİÇEK
Etik Kurulu Başkanı

Ek: 1 Adet Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

Adres: Ahi Evran Üniversitesi Rektörlüğü Merkez Yerleşkesi, 40200 KIRŞEHİR



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Toplantı Saati	Karar Sayısı
26/ 09/ 2024	18	14: 00	3

Prof. Dr. Muttalip ÇİÇEK başkanlığında yapılan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

KARAR NO – 3: Araştırma yürütücüsü Dr. Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ Liderliğinde 30 Adet Sıçan (Rat) üzerinde yapılması planlanan “ “Karaciğer Fibrozis Modeli: Farklı Dozlarda Nonylphenol Maruziyeti”” adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine ve konunun ilgiliye tebliğine oybirliği ile karar verildi.

Prof. Dr. Muttalip ÇİÇEK
(Başkan)

Doç. Dr. Zeynel Abidin ERBESLER
Üye

Prof. Dr. Atilla TAŞKIN
Üye

Doç. Dr. Ertuğrul KUL
Üye

Dr. Öğr. Üyesi. Cihat ÖZTÜRK
Üye

Dr. Hakan AHİ
Üye

Ecz. Suat YAĞMUR
Üye

(İzmitli)

Veteriner Hekim Demirel ERGÜN
Üye

ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı, Soyadı	Parisa Kahedi Zadeh
Doğum Yeri -Tarihi	****_ **/**/****
Uyruğu	****
Yabancı Dili	Farsça

<u>Eğitim Bilgileri</u>	
<u>Yüksek Lisans:</u>	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Anabilim Dalı	Histoloji ve Embriyoloji
Mezuniyet Yılı	2025

<u>Eğitim Bilgileri</u>	
<u>Lisans</u>	
Üniversite	İslami azad Borujerd üniversitesi
Fakülte	Sağlık Hizmetler Fakültesi
Bölümü	Laboratuvar Bilimleri Bölümü
Mezuniyet Yılı	22/07/2013

<u>Makale ve Bildiriler</u>	
<p><u>Kahedi P</u>, İnce Çağlayan N, Tozak Yıldız H. “Dose-Dependent Testicular Damage Induced by Nonylphenol Exposure”. Oral Presentation; 9. International Dicle Scientific Research And Innovation Congress 29-30 July 2025, Diyarbakır.</p>	