



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

**SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA  
KARACİĞER HASARI ÜZERİNE BORİK ASİTİN  
KORUYUCU ETKİSİ**

**MEHMET SAYLAM**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
DR. ÖĞR.ÜYESİ HALİME TOZAK YILDIZ**

**KIRŞEHİR-AĞUSTOS 2024**

## KABUL VE ONAY

“Sepsis Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Karaciğer Hasarı Üzerine Borik AsitinKoruyucu Etkisi” adlı bu çalışma, 26.08.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr.Öğr.Üyesi Halime Tozak Yıldız (Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakóltesi

Doç Dr. Gülistan Sanem SARIBAŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

GATA Tıp Fakóltesi

Dr.Öğr.Üyesi Kübra Tuğçe KALKAN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakóltesi

## **TEZ BİLDİRİMİ**

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 yaptığımı bildiririm.

**Mehmet SAYLAM**

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada sepsis modeli oluşturulan sıçanlarda borik asitin karaciğeri olası koruyucu etkinliği incelenmiştir. Çalışma sürecinde desteğini sürekli olarak yanımda hissettiğim tez danışmanım Dr.Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Histoloji ve Embriyoloji AD.'ından hocalarım Dr.Öğr. Üyesi Tuğçe KALKAN ve Dr.Öğr. Üyesi Ertan KATIRCI'ya, Araş Gör. Nebahat İNCE'ye, Tıbbi Farmakoloji AD'ından Dr.Öğr. Üyesi Gülhan ÜNLÜ, Fizyoloji AD'ından Dr.Öğr. Üyesi Seda KOÇAK'a deneye verdikleri desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yaptığım çalışmalarda beni her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca araştırma süresince gönüllü olarak çalışmaya destek veren tüm katılımcılara teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos 2024

Mehmet SAYLAM

# İÇİNDEKİLER

|                                                           | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------|-------|
| ÖNSÖZ.....                                                | iv    |
| İÇİNDEKİLER.....                                          | v     |
| ŞEKİL LİSTESİ .....                                       | vii   |
| TABLO LİSTESİ .....                                       | viii  |
| KISALTMA LİSTESİ.....                                     | x     |
| ÖZET .....                                                | xi    |
| SUMMARY .....                                             | xii   |
| 1. GİRİŞ .....                                            | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                    | 2     |
| 2.1. Karaciğer.....                                       | 2     |
| 2.1.1 KaraciğerinEmbriyolojisi.....                       | 2     |
| 2.1.2 Karaciğerin Anatomisi.....                          | 3     |
| 2.1.3 Karaciğerin Histolojisi.....                        | 4     |
| 2.1.4. Karaciğerin Yapısal Organizasyonu. ....            | 5     |
| 2.2. Endotoksemi ve Lipopolisakkarit (LPS) .....          | 6     |
| 2.3. Bor.....                                             | 7     |
| 2.3.1 Bor Elementi.....                                   | 7     |
| 2.3.2. Bor Endüstrisi.....                                | 8     |
| 2.3.3. Borun Hastalıkların Tedavisindeinde Kullanımı..... | 8     |

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4. Apoptozis.....                                                           | 9         |
| 2.4.1. Ekstrinsik Apoptozis Yolu.....                                         | 11        |
| 2.4.2. İntrinsik Apoptozis Yolu.....                                          | 12        |
| 2.5. İnflamasyon.....                                                         | 13        |
| 2.5.1. İnflamasyon Bulguları .....                                            | 14        |
| 2.5.2. İnflamasyonun Sebepleri.....                                           | 14        |
| 2.5.3. İnflamasyon Hücreleri.....                                             | 15        |
| 2.5.4. İnflamasyonun Patolojisi.....                                          | 17        |
| 2.5.5. İnflamasyon Çeşitleri.....                                             | 19        |
| 2.6 LPS ve İnflamasyon.....                                                   | 20        |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>                                                | <b>22</b> |
| 3.1. Hayvan Deney ve Çalışma Düzeni.....                                      | 22        |
| 3.1.1. Barındırma yeri.....                                                   | 22        |
| 3.1.2. Yetiştirme ve bakım koşulları... ..                                    | 22        |
| 3.1.3. Çalışma grupları.....                                                  | 22        |
| 3.1.4. Çalışma düzeni ve hayvan deneyi.....                                   | 23        |
| 3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....                                | 24        |
| 3.3. Yapılan Deneyler.....                                                    | 24        |
| 3.3.1. Histopatolojik Analizler.....                                          | 24        |
| 3.3.2. İmmunohistokimyasal Analizler.....                                     | 26        |
| 3.3.3. Karaciğer Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Skorelama Yöntemi.. .. | 28        |
| 3.3.4. İnflamatuar Sitokin Analizleri.....                                    | 28        |
| 3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....                                         | 28        |

|                                               |           |
|-----------------------------------------------|-----------|
| <b>4. BULGULAR .....</b>                      | <b>30</b> |
| 4.1 Vücut Ağırlıklarına İlişkin Bulgular..... | 30        |
| 4.2 Histolojik Bulgular .....                 | 31        |
| 4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular.....         | 32        |
| 4.4. Biyokimyasal Bulgular.....               | 33        |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>             | <b>35</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                         | <b>41</b> |
| <b>EKLER .....</b>                            | <b>49</b> |

## **SEKİL LİSTESİ**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 2.1.</b> Karaciğer Embriyolojisi .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 3  |
| <b>Şekil 2.2.</b> Karaciğerin visseral yüz görünümü.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 4  |
| <b>Şekil 2.3.</b> Ekstrinsik (dışsal) apoptoz yolu.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 12 |
| <b>Şekil 2.4.</b> Mitokondriyal (içsel) apoptoz yolu.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 13 |
| <b>Şekil 4.1.</b> Deneyin birinci günü ve onbeşinci günü tüm gruplara ait deneklerin vücut ağırlıklarının karşılaştırması.....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 30 |
| <b>Şekil 4.2.</b> KC kesitleri H&E, Bar: 50µm A: Kontrol grubu, karaciğer dokusu, Normal histolojik görünüm. B: LPS grubu, karaciğer dokusu, kordonlar ve sinüzoidal yapıda düzensizlikler ve vakuolizasyon, damarlarda hiperemi. C: B+LPS grubu, karaciğer dokusu, Hepatositlerde hafif düzeyde hidropik dejenerasyon. D: B grubu, karaciğer dokusu, normal histolojik görünümü.....                                      | 31 |
| <b>Şekil 4.3.</b> KC, kesitleri Masson Tricrom Boyama Bar: 20µm A: Kontrol grubu, karaciğer dokusu, Normal histolojik görünüm. B: LPS grubu, karaciğer dokusu, portal alanda kollajen birikimi. C: B+LPS grubu, karaciğer dokusu, vena centraliste kontrole yakın kollajen varlığı. D: B grubu, karaciğer dokusu, kontrol grubuna benzer normal histolojik görünüm.....                                                    | 32 |
| <b>Şekil 4.4.</b> KC, kesitleri İmmünohistokimyasal bulgular. KC kesitleri, kaspaz 3 ekspresyonu, x40 büyütme, Bar: 20µm. K grubu, karaciğer dokusu, Cas 3 ekspresyonu negatif. LPS grubu, karaciğer dokusu, hepatositlerde şiddetli düzeyde intrastoplazmik Cas 3 ekspresyonu. B+LPS grubu, karaciğer dokusu, hepatositlerde intrastoplazmik Cas 3 ekspresyonu. B grubu, karaciğer dokusu, Cas 3 ekspresyonu negatif..... | 33 |
| <b>Şekil 4.5.</b> KC dokusu proinflamatuvar sitokin seviyeleri a) TNF-α seviyesi istatistiksel analizi. b) IL-8 seviyesi istatistiksel analizi *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001.....                                                                                                                                                                                                                                    | 34 |

## **TABLO LİSTESİ**

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo3.1:</b> Deney Grupları.....                                           | 23 |
| <b>Tablo3.2:</b> Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği.....                   | 25 |
| <b>Tablo3.3:</b> Hematoksilen&Eozin Boyama Tekniği.....                        | 25 |
| <b>Tablo3.4:</b> Masson Trikrom Boyama Tekniği.....                            | 26 |
| <b>Tablo3.5:</b> İmmünohistokimya Boyama Metodu.....                           | 27 |
| <b>Tablo3.6:</b> Karaciğer dokusunda histopatolojik skorlama tablosu.....      | 28 |
| <b>Tablo4.1:</b> Karaciğer dokusunda histopatolojik değerlendirme tablosu..... | 34 |

## **SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ**

| <b>Simge</b> | <b>Açıklama</b>                                         |
|--------------|---------------------------------------------------------|
| B            | :Bor                                                    |
| LPS          | : Lipopolisakkarit                                      |
| mRNA         | : Mesajcı ribonükleik asit                              |
| NaCl         | : Sodyum klorür                                         |
| TNF          | : Tümör nekroz faktör                                   |
| CAD          | : Kaspaz Aktive Edici DNaz                              |
| CRP          | : C-Reaktif Protein                                     |
| DR           | : Ölüm reseptörleri                                     |
| CD           | : Cluster of Differentiation                            |
| DSÖ          | : Dünya Sağlık Örgütü                                   |
| EDTA         | : Etilendiamin tetraasetik asit                         |
| IAP          | : Apoptoz inhibitör protein                             |
| IC50         | : Hücre canlılığını %50 azaltan inhibitör konsantrasyon |
| ICAD         | : İnaktif kaspaz aktive edici DNaz                      |
| MET          | : Mezenşimal–epitelyal dönüştürücü                      |
| MOMP         | : Mitokondri dışı membran permeabilizasyonu             |
| MPT          | : Mitokondriyal permabiliti transisyon                  |
| mRNA         | : Mesajcı RNA                                           |
| IgA          | :İmmünglobulin A                                        |
| IP           | :İntra peritoneal                                       |
| Ig           | :İmmünglobülin                                          |

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### SEPSİS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KARACİĞER HASARI ÜZERİNE BORİK ASİTİN KORUYUCU ETKİSİ

Mehmet SAYLAM

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr.Öğr. Üyesi Halime TOZAK YILDIZ

Endotoksik şok hipotansiyonu, zayıf doku perfüzyonu, çoklu organ yetmezliği gibi ciddi komplikasyonlarla karakterize edilir ve hastalarda ölüme neden olabilir. Endotoksinlerin başlıca nedenlerinden biri olan lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan endotoksemi, yoğun bakım üniteleri için hala büyük bir sorundur. Patofizyolojik mekanizmaları anlamak ve tedavi etmek için birçok strateji geliştirilmesine rağmen, bu durum hala önemini korumaktadır. Bu araştırma, son zamanlarda antibakteriyel, antiinflamatuvar ve antitümöral etkileri araştırılan borik asitin sıçanlarda deneysel endotoksemi oluşturarak karaciğeri koruma etkinliğini belirlemeyi amaçlamaktadır.

Çalışma için 32 adet Wistar albino türü yetişkin dişi sıçan 4 gruba ayrılmıştır. Borik asit ve borik asit+LPS grubuna 14 gün boyunca 20mg/kg (IP) borik asit uygulanmıştır. 15. günde LPS ve Borik asit+LPS grubuna 7,5mg/kg LPS (IP) uygulanmıştır. Deneyin 15.gününde bütün gruplara intraperitoneal ketamin hidroklorid 60 mg/kg + 10 mg/kg ksilazin HCl (%2 ksilazine hydrochloride) ile anestezi sağlandıktan sonra orta hat kesisi ile laparotomi yapılmıştır. Deri altı bağ dokusu ve abdominal kaslar açılarak organlar diseke edilmiş, organlar formaldehit içine alınarak histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler için kullanılmıştır.

Alınan dokularda yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonucunda LPS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre karaciğer normal histolojik yapısının bozulduğu, kordonlar ve sinüzoidal yapıda düzensizlikler gözlenmiştir. Hepatositlerde vakuolizasyon vena sentralislere açılan sinüzoidlerde dilatasyon, damarlarda hiperemi olmak üzere ciddi doku hasarı izlenmiştir. Vena centralis etrafında fibrozis gözlenmiştir. Borik asitin koruyucu amaçlı önce verildiği gruplarda bu hasarların azaldığı görülmüştür. Yine yapılan immunohistokimyasal değerlendirmelerde apoptotik bir protein olan caspas 3 ekspresyonunun tedavi grubunda azaldığı görülmüştür.

Bu çalışmanın sonuçları LPS ile oluşturulan endotoksemi sonucunda karaciğer de oluşan hasara karşı borik asitin karaciğer dokusu üzerine histopatolojik olarak ve antiapoptotik özelliği ile koruyucu rolünün olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** LPS, sepsis, karaciğer hasarı, borik asit, apoptoz, inflamasyon

## **SUMMARY**

**M.Sc. THESIS**

### **PROTECTIVE EFFECT OF BORIC ACID ON LIVER DAMAGE IN RATS WITH SEPSIS MODEL**

**Mehmet SAYLAM**

**Kırşehir Ahi Evran University Institute of**

**Health Sciences Department of Histology and Embryology**

**Supervisor: Assoc.Prof. Dr. Halime TOZAK YILDIZ**

Endotoxic shock is characterised by severe complications such as hypotension, poor tissue perfusion and multiple organ failure and can cause death in patients. Lipopolysaccharide (LPS)-induced endotoxaemia, one of the major causes of endotoxins, is still a major problem for intensive care units. Although many strategies have been developed to understand the pathophysiological mechanisms and to treat it, this condition still remains important. This study aims to determine the liver protection efficacy of boric acid, whose antibacterial, anti-inflammatory and antitumoural effects have recently been investigated, by inducing experimental endotoxaemia in rats.

For the study, 32 Wistar albino adult female rats were divided into 4 groups. Boric acid and boric acid+LPS groups received boric acid 20mg/kg (IP) for 14 days. On the 15th day, 7.5mg/kg LPS (IP) was administered to LPS and Boric acid+LPS group. On the 15th day of the experiment, all groups were anaesthetised with intraperitoneal ketamine hydrochloride 60 mg/kg + 10 mg/kg xylazine HCl (2% xylazine hydrochloride) and laparotomy was performed through a midline incision. The organs were dissected by opening the subcutaneous connective tissue and abdominal muscles, the organs were placed in formaldehyde and used for histopathological and immunohistochemical evaluations.

As a result of histopathological evaluations of the tissues, it was observed that the normal histological structure of the liver was disrupted in the LPS treated groups compared to the control group and irregularities were observed in the cords and sinusoidal structure. The administration of boric acid prior to the induction of damage resulted in a reduction in the severity of the observed tissue damage, including vacuolisation in hepatocytes, dilatation in the sinusoids opening to the vena centralis, and hyperaemia in the vessels. Additionally, the formation of fibrosis around the vena centralis was also diminished.

The results of this study showed that boric acid has a protective role on liver tissue histopathologically and with its antiapoptotic properties against the damage caused by endotoxemia induced by LPS.

**Keywords:** LPS, sepsis, liver damage, boric acid, apoptosis, inflammation

## 1. GİRİŞ

Endotoksemi, kanda endotoksinlerin varlığını ifade eder ve gram negatif bakterilerin hücre duvarının lipopolisakkarit (LPS) tabakasında bulunan endotoksinler sepsisi tetikleyen başlıca moleküllerdir. LPS, toksisitesini büyük ölçüde içerdiği Lipit A'dan alır. Sepsis, enfeksiyonlar sırasında bağışıklık sisteminin disregülasyonu sonucu ortaya çıkan ve hayatı tehdit eden organ disfonksiyonu olarak tanımlanır. Antik Yunan'dan bu yana bilinen sepsis, yoğun araştırmalara rağmen halen yüksek ölüm oranlarına sahiptir ve dünya genelinde yaklaşık 60 milyon kişiye sepsis tanısı konulmakta, yaklaşık 10 milyon kişi tedaviye cevap vermediği için kaybedilmektedir (1).

Gram negatif bakterilerde hücre duvarı, mürain lipoprotein, dış membran ve LPS tabakasından oluşur. Lipit A, LPS'nin toksisite kaynağıdır ve sepsisle uyarılan karaciğer hasarı, çoklu organ yetmezliği ve kronik karaciğer hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynar (2). Endotoksinler, bakteriler parçalandığında açığa çıkar ve lipopolisakkaritler dış membrana hidrofobik bağlarla bağlanırlar (3).

Bor elementi, "B" sembolüyle gösterilen, yarı iletken özellikte, siyah renkte bir elementtir. Doğada yaklaşık 230 çeşit doğal bor minerali bulunur ve bu mineraller canlı yaşamı için vazgeçilmezdir. Türkiye'de bor üretimi Eti Bor A.Ş. tarafından yapılmaktadır. Bor mineralleri genellikle oksijenle bileşik oluşturmuş halde bulunur ve toprak, su ve kayalarda yaygındır (4). İçme suyu, denizler ve toprakta belirli ppm değerlerinde bor mineralleri mevcuttur. İçerik olarak bor minerali Na, Ca ve Mg'un oksitleri ile bileşik mineralleri şeklinde bulunmaktadır (5).

Endotoksinlerin neden olduğu endotoksemilerin patolojik ve fizyolojik mekanizmalarının belirlenmesi konusunda birçok strateji geliştirilmiş olmasına rağmen, yoğun bakım ünitelerinde bu sebeplerden yatan hasta sayısı önemli bir sorundur.

Bu araştırmada, immün sistem, kemik gelişimi, hormon metabolizması ve özellikle antioksidan sistemde etkin olduğu bilinen borik asitin, deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda karaciğer üzerine koruyucu etkisini belirlemek amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

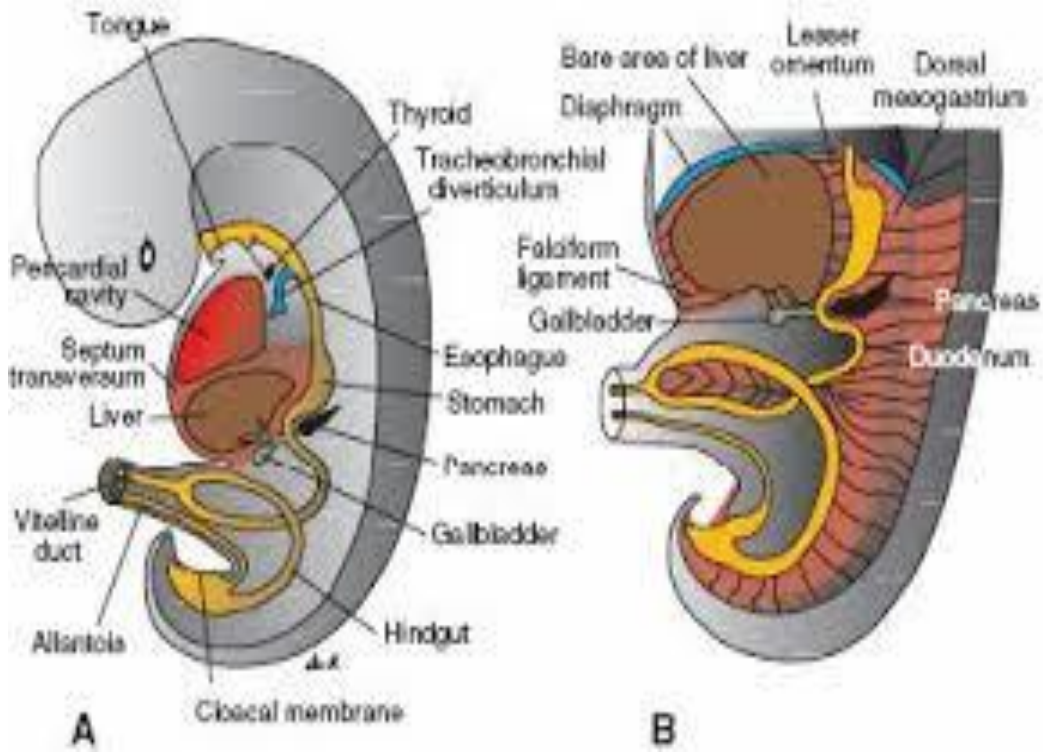
### 2.1 Karaciğer

Karaciğer vücut ağırlığının %2,2' ini oluşturur, deriden sonraki en büyük organdır, yaklaşık 1,1-2,4 kg ağırlığındadır (6). Yeni doğanlarda vücuda oranlandığında büyüktür. Karın boşluğunun sağ üst kadranda yer alır ve sol üst kadrana doğru uzanarak diyaframın altında bulunur. İntraperitoneal bir organ olan karaciğer, sağ hipokondrium, epigastriumun bir kısmı ve sol hipokondriyumu kapsar. Diyafragmatik yüzün arkasındaki küçük bir bölge ile safra kesesi, vena kava inferior ve porta hepatis alanında periton gözlenmez (7).

#### 2.1.1 Karaciğer Embriyolojisi

Fetüs 4. haftasına geldiğinde ön bağırsağın kaudal parçasından hepatik divertikül oluşur. Bu divertikül kalp ve mide arasındaki septum transversum'a uzanır ve ventral mezenter ile diyaframın bir kısmını meydana getirir. Hepatik divertikül büyüme sırasında iki kısma bölünür. (8,9). Büyük olan kranial kısmı endoderm hücrelerinin çoğalarak büyümesi ile karaciğer taslağını oluşturur. Ayrıca safra kanallarının intrahepatik tarafını sarmalayan epitelyum örtüsünü ve karaciğerin hepatosit kordon ağlarını oluştururlar. (9). Hepatik kordonlar endotelle döşenmiş boşlukların etrafında ağ meydana getirir ve böylece karaciğer sinüzoidlerinin taslakları meydana gelmiş olur (8). Septum transversum mezodermi, bağ dokusu hücreleri, kupffer hücreleri ve hematopoetik hücrelerin kökenidir (10) Karaciğer beşinci haftadan itibaren onuncu haftasına kadar, çok hızlı bir şekilde büyür. Karaciğer gelişimi, umbilikal venden gelen kandaki oksijen miktarına bakılarak belirlenir. (9). Hematopoezis altıncı haftada başlar ve kemik iliği tarafından gerçekleştirilir (8,10,11). Onikinci haftada ise karaciğer hücrelerinde safra yapımına başlanır (8). Hepatik divertikulumun küçük olan kaudal parçasından safra kesesi, sapından ise sistik kanal gelişir (Şekil 2.1), (9,10).

Safranın bağırsağa akışı, hepatik, sistik ve koledok kanalını bağlayan kordon tarafından sağlanır (8,10). Koledok kanalı, duodenumun arkasına geçişiyle ve duodenuma girdiği yerin anterio-posterior yönünde yer değiştirmesi ile akışını tamamlar (10).



**Şekil 2.1.** Karaciğer Embriyolojisi (10).

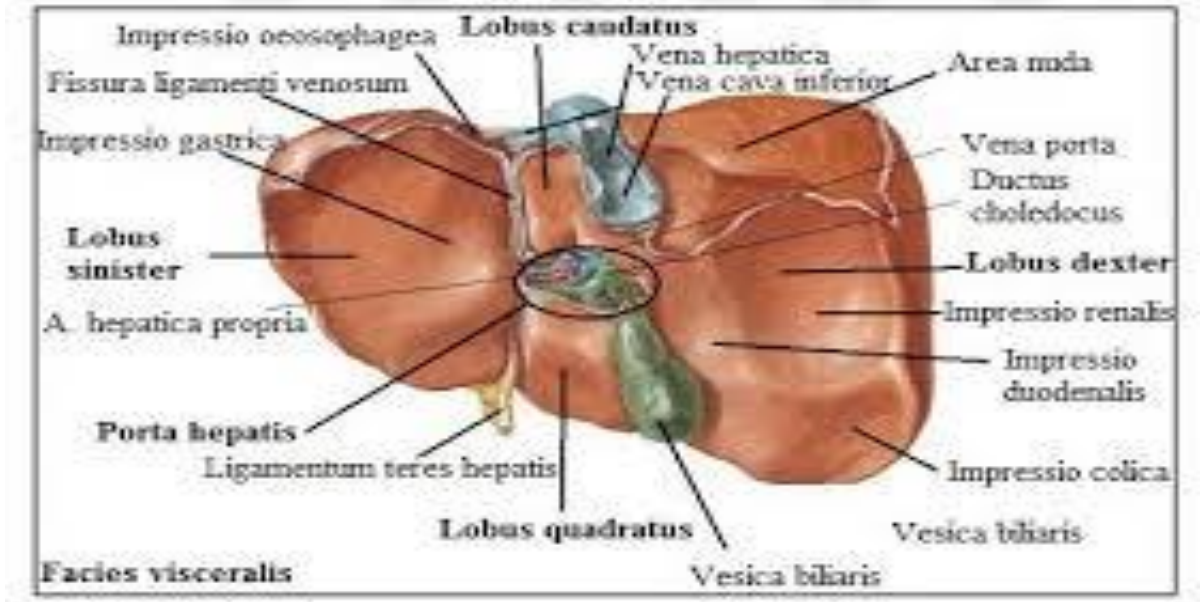
### 2.1.2. Karaciğer Anatomisi

Vücudumuzda bulunan en büyük salgı bezlerinden biridir. Karaciğer, çocukluk çağında bulunanların fiziksel ağırlığının 1/20'ini, büyüklerde vücut ağırlığının 1/50'ini oluştururlar. Vücudun karın bölgesinde diyafragmanın alt kısmında sağ üst kadranda neredeyse tamamında ve epigastrik bölgenin büyük bir kısmında yer alır. Sol ucu, sol midklaviküler hatta doğru uzanır. Ağırlığı yaklaşık 1200-1400 gram, genişliği 25-30 cm, yüksekliği 14-16 cm, ön-arka uzunluğu ise 8-10 cm arasında değişir. Damarsal yapısı oldukça zengin, esnek ve kolay bölünebilen gevrek bir dokusu vardır, bu nedenle dalaktan sonra rüptüre olma riski en yüksek organdır (12-14).

Karaciğerin pozisyonu, vücut yapısı ve konumuna göre değişir; özellikle solunum sırasında inspirasyonda 3 cm aşağı, ekspirasyonda ise 3 cm yukarı hareket eder.

Karaciğerin vücuttaki pozisyonu kabaca; karın ön duvarının üst bölümünde sağda 5. kaburga seviyesinde sağ göğüs ucunun 1 cm altında, solda ise 5. interkostal aralıkta sol göğüsün 2 cm altında ve sağ lateralde ön aksiller çizginin sağ kosta yayı ile kesiştiği noktada bir üçgen yapı olarak tanımlanır.

Bu pozisyon, biyopsi ve fizik muayene sırasında palpasyon için önemlidir ve hepatomegali gibi patolojilerde değişiklik gösterebilir. Hepatomegali durumunda karaciğerin alt kenarı, sağ kosta yayını 1-2 cm geçerek palpasyonda hissedilebilir (12,15).



**Şekil 2.2.** Karaciğerin Visseral Yüz Görünümü (14).

### 2.1.3. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer, hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonları olan önemli bir organdır. Ürettiği safra, safra kanalları yoluyla duodenuma akıtılarak sindirim sistemine katkıda bulunur (6). Karaciğer, karın boşluğunda diyaframın altında yer alır ve sindirim kanalından emilen besinlerin işlenmesinde, vücut için gerekli olanların depolanmasında önemli rol oynar. Karaciğere kanın büyük kısmı portal ven, geri kalanı ise hepatik arter ile gelir. İnce bağırsaktan emilen besinler çoğunlukla portal ven ile, kompleks lipidler ise lenf yoluyla karaciğere ulaşır (16).

Karaciğerin başlıca fonksiyonları şunlardır:

1. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması.
2. Dışarıdan alınan maddelerin (ilaç ve alkol) işlenmesi ve detoksifikasyonu.
3. Safranin salınımı

Karaciğer, stroma ve parankima olmak üzere iki histolojik kısımda incelenir. Karaciğerin işlevinde önemli rol oynayan kısım parankimadır. Stroma ise parankimayı destekleyen bağ dokusu, damar ve sinirlerden oluşur (6).

Karaciğerin en temel birimi hepatik lobüldür. Hepatik lobül, fizyolojik ve histolojik olarak 3 farklı temelde değerlendirilir;

1. Klasik Karaciğer Lobülü Orta kısmında vena centralis bulunur, genellikle hegzagonal bir yapıya sahiptir. Kan sinüzoidleri merkez vende birleşir. Hegzagon yapının köşelerinde portal venül, hepatik arteriol ve safra kanalı bulunur ve bu yapı portal triad olarak adlandırılır (9).

2. Portal Lobül: Üç klasik lobülün vena centralislerinin köşe oluşturduğu üçgen yapıdır. Portal lobülün merkezinde portal alan (Kiernan aralığı) bulunur. Safra kanalı, bu lobülün merkezindedir.

3. Hepatik asinüs: Üç zonda incelenir: zon 1 (periportal zon), zon 2 (midzonal bölge) ve zon 3 (sentrilobular zon). Zon 1'deki hepatositler lipid metabolizmasında, perisantral bölgedeki hepatositler ise detoksifikasyonda daha aktiftir. Glukoneogenez en fazla zon 1'de, glikoliz ise perisantral bölgede gerçekleşir. Zon 1'de oksijen ve besin yoğunluğu daha fazla iken, zon 3 oksijence fakirdir. Büyük safra yollarındaki tıkanıklıklardan en son etkilenen zon, 3. zondur (8).

#### **2.1.4. Karaciğerin Yapısal Organizasyonu**

Diyafragmayı gevşek bir bağ dokusu ile tutan karaciğerde 2 yüz, 2 kenar, 4 lob ve yaygın bir damar ağı mevcuttur (6, 7). Diafragma üzerine temas eden üst yüzeye diafragmatik yüz, karın organ komşuluğu olan alt yüzeye de visseral yüz denir. (Şekil 2. 2) Karaciğeri plevra, akciğer perikardından, kalpten ayrılmasını sağlayan diaphragmadır (17).

Karaciğer, glisson kapsülü adı verilen fibröz bir kapsül ile sarıdır ve bu kapsül, damarların çevresine uzantılar göndererek karaciğeri lob ve lobüllere ayırır (18). Diafragmatik yüzün posterior kısmında bulunan area nuda dışında karaciğer tamamen periton ile kaplıdır. Area nuda, karaciğerin diyafram ile doğrudan temas ettiği bölgedir ve bu bölgenin sınırlarını ligamentum coronarium oluşturur. (Margo Inferior) Keskin yapılı bir ön kenar ve (Margo Süperior) künt bir arka kenardan meydana gelir (6). Sol lop sağdakinden küçük olmak üzere iki loptan meydana gelir. Karaciğere giren iki damar hepatik arter ve hepatik portal vendir.

Safra kanalına Hepatik ven açılır. Sağdan sola sol lob inceler. Önde bulunan visseral lob Quadrat Lob olarak bilinir. Kaudat Lob ise arkada ve üstte bulunur. Periton tarafından karaciğerin tüm ligamentleri oluşturulmuştur. Farklı kökenlenen ligamentum teres embriyonik bir kalıntı olarak bilinir. (6). Fetal duktus venozusun kalıntısı ise Ligamentum venozus'tur. Kaudat Lobun sol tarafında yer alır. Koroner ligament karaciğeri diyafragma bağlanmayı sağlayan ligamenttir (6, 19). Karaciğeri duodonuma, mideye bağlayan ligament ise Omentum minus ligamentidir. Karaciğeri sağ ve sol loba ayıran ise falciform ligamentidir ve ligamentin arka kısmındaki kalınlaşma ise halka ligament (ligamentum teres) adını alır

Karaciğer, lenf üretiminde de önemli bir rol oynar. Yüzeyde bulunan lenf damarları, diyafragmatik ve visseral yüzlerin ön kısmını drene ederken, posterior kısmı inferior vena kava veya inferior frenik noda drene olur. Posterior mediastinal noda ise efferentleri drene olurlar. Porta hepatis, karaciğere lenflerin, sinirlerin ve kan damarlarının giriş çıkış yaptığı yerdir (6). Hepatik portal ven, oksijenin %50'sini, diğer yarısını ise hepatik arter sağlar. Karaciğerdeki santral venler birleşerek intrahepatik venleri oluşturur ve inferior vena kavaya açılır (6, 19).

Lobüller içinde lenfatik damarlar görülmezler. Sinüzoidler ile hepatositlerin endotel hücrelerinin arası boşluğa Disse Aralığı denir ve burada lenf sıvısının oluşumu başlar. Karaciğerdeki lenf sıvısının protein miktarı diğer lenf sıvılarından daha fazladır ve albumin ile globülin miktarları plazmadakinden daha yüksektir (8). Disse aralığındaki plazma, önce Mall aralığına, ardından portal alandaki lenfatik damarlara akar. Karaciğerin lenf damarları, portal alandan başlayarak birleşir ve duktus torasikusa kavuşur. Duktus torasikustaki lenfin büyük kısmı karaciğerden, küçük bir kısmı ise mezenterik lenfatikler ile bağırsaklardan gelir (8).

## **2.2. Endotoksemi ve Lipopolisakkarit**

Lipopolisakkaritler (LPS), gram negatif bakterilerin dış hücre duvarında bulunan ve endotoksin olarak bilinen bileşenlerdir. Pyrogen diye bilinir (20). Endotoksinler, genellikle yaşayan bakteri hücrelerinden salınırken, ölen bakteri hücrelerinden çözünen toksinler ise eksotoksin olarak adlandırılır. Endotoksinler, protein olan eksotoksinlerden farklı olarak lipopolisakkarit yapısındadır ve yüksek ısıya dayanıklıdır. LPS lipid komponenti ve polisakkarit komponentinden oluşmuştur. Isıya dayanıklılığı yüksektir.

LPS'nin biyolojik aktivitesinin ana taşıyıcısı, Lipid A yapısıdır. Diğer kısımlar da kısmi aktivite taşıyabilir. Lipopolisakkaritlerin biyolojik ve patofizyolojik etkileri arasında spesifik belirtiler yer alır, bu nedenle endotoksinlerin tespiti ve kontrolü zor olabilir.

Gram negatif bakteriler ve endotoksinlerin (LPS) patojenik etkileri üzerine yapılan çalışmalar, bu toksinlerin ateş, şok ve damar içi pıhtılaşma gibi belirtilere yol açtığını ortaya koymaktadır. Endotokseminin oluşabilmesi ve endotoksinin toksik etkisini gösterebilmesi için, öncelikle kan dolaşımına girmesi gerekmektedir. LPS'nin bağırsak çeperinden emilme mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış olsa da, bazı araştırmacılar bağırsakta belirli miktarda endotoksin emildiğini tespit etmişlerdir. Vücuda alınan endotoksinlere karşı, karaciğerin ürettiği akut faz proteinleri savunma mekanizması olarak devreye girer ve endotoksinleri nötralize eder (21).

## **2.3. Bor**

### **2.3.1 Bor Elementi**

Bor, “B” simgesi ile gösterilen, yarı iletken özelliklere sahip siyah renkte bir elementtir. Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali bulunur ve tüm canlıların yaşamı için vazgeçilmezdir. Türkiye'de bor üretimi ve ticareti Eti Bor A.Ş. tarafından yürütülmektedir. Bor genellikle beyaz renkte kaya şeklinde olup, bileşik oluşturma eğilimi nedeniyle doğada saf halde bulunmaz.

Özellikle oksijenle bileşik oluşturarak borat (boroksit) formunda yaygındır (4). Bor mineralleri toprak, su ve kayalarda yaygın olarak bulunur. İçme suyunda ortalama 0,02-1,6 ppm, deniz suyunda ortalama 0,6-9,6 ppm, toprakta ise 11-21 ppm arasında bor minerali mevcuttur. Bor mineralleri, Na, Ca ve Mg oksitleriyle bileşik oluşturur (22).

1960'larda keşfedilen bor lifleri, yüksek performanslı cam elyafına alternatif olarak kullanılmıştır. Bor, hava araçlarının dümen, dikey ve yatay dengeleyici unsurlarının kompozit yapılarında da kullanılır (23).

Bor, sağlık, hijyen, tarım ve havacılık gibi birçok sektörde kullanımı olan stratejik bir elementtir. Dünya bor rezervlerinin en zengin olduğu ülke Türkiye'dir ve özellikle Kuzey Ege Bölgesi bu anlamda önemli bir potansiyele sahiptir (24). Borun en kararlı izotopları olan <sup>10</sup>B ve <sup>11</sup>B, doğada yaklaşık %80 oranında bulunur. Nükleer tesislerde

nötron yakalama özelliği nedeniyle 10B izotopu tercih edilir. Türkiye, bor rezervleri bakımından zengindir ve dünya bor ihtiyacını uzun süre karşılayabilecek kapasiteye sahiptir. Diğer ülkelerin bor rezervlerinin ömrü 50 yıl iken, Türkiye'nin bor rezervleri 550-600 yıl kadar yeterli olabilir (22).

### **2.3.2. Bor Endüstrisi**

Bor mineralleri cam endüstrisinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Isı yalıtımı sağlayan elyaf, camın yapısında ve tekstil sektöründe kullanılan borik oksit, bu sektörlerin temel bileşenlerindendir. Deterjanlara yumuşatıcı ve beyazlatıcı etkisi nedeniyle eklenen bor, antiseptik özellik gösterir. Alevlenmeyi geciktirici boratlar, tekstil, PVC ve ahşap sektörlerinde kullanılır. Tarım sektöründe ise bor, sebze ve meyve ağaçlarının büyüme ve gelişiminde önemli rol oynar. Meyve yapraklarına uygulanan bor, meyve miktarını artırır (22).

Yapılan araştırmalarda tekstil malzemelerinin bakterilere karşı dezenfeksiyon sağlanması için sodyum pentaborat pentahidrat ve triklosan karışımı uygulaması yapılmış mikrobiyal faaliyetler izlenmiş sonuçta karışım uygulaması yapılmayan tekstil ürünlerine göre çok çok iyi bir dezenfeksiyon sağlandığı gözlemlenmiştir (23).

### **2.3.3. Borun Hastalıkların Tedavisinde Kullanımı:**

Türkiyede değerli madenlerinden olan bor; anlaşıldığı üzere insan sağlığı üzerine pozitif katkısı olmaktadır. İnsan vücudu az miktarda bor maddesine ihtiyaç duyar, bunu çeşitli besin maddeleri ve su yolu ile dışarıdan aldığı bir mineraldir. 1980'li yıllarda sağlık alanında yapılan araştırmalar neticesinde bor maddesinin insan sağlığına pozitif etkilere yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu durum sağlık sektörlerinde geniş bir kullanım alanına erişmiştir. Bor maddesinin insan vücuduna pozitif etkileri kanıtlanmaya devam etmektedir; besin maddeleri ile tüketildiğinde halsizlik ve stres oluşmasını da minimum seviyelere indirmektedir. Yine sağlık sektöründe prostat kanserinin önlenmesi, göz iltihaplarının engellenebilmesi, merhem yapım işlerinde ve özellikle beyin kanseri tedavilerinde etkin olarak kullanılmaktadır (4,23). Sağlık alanında yapılan araştırmalarda; borun insan vücudunda bakır, magnezyum ve benzeri elementlerin emilimini artırarak kemiklerin güçlenmesini sağladığı da gözlemlenmiştir. Bor insan metabolizmasında kalsiyum, magnezyum ve fosfor dengesini de ayarlar. Yine fosfor dengesini de yeterli seviyelere getirerek kasların ve beyin fonksiyonlarının gelişimine

katkı sağlamaktadır. Bor; osteoporoz tedavisinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kemik gelişiminde, artiritte (iltihaplı romatizma tedavisinde) ve menopoz tedavisinde geniş bir kullanım alanı vardır. Beyin kanseri tedavisinde de etkin bir şekilde kullanılan Borlu Nötron Yakalama yöntemi ile hasta olan hücrelerin seçici bir şekilde yok edilmesi ve sağlıklı hücrelerin ise en az zararla kurtarılmasına yardımcı olmaktadır. Sürdürülen bilimsel çalışmalarda canlıların yaşamları için gerekli element olan bor; insan sağlığı açısından sağlık sektöründe giderek önemli bir konuma erişmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yaptığı açıklamalarda; erişkin sağlıklı insanların besin yolu ile 1-13 mg bor tüketebileceği belirlenmiştir.

Meyvelerden; elma, armut, erik, hurma sebzelerden; fasulye, nohut, mercimek vb. sebzelerde fazla miktarda bor bulunur. Bor yine pastörize sütün içinde de yoğun miktarda bulunmaktadır. Bor ürünlerinin özellikleri nedeni ile yerleri doldurulamaz. Yapılan araştırmalarda insanın günlük belirli miktarlarda bor elementine ihtiyaç duyduğunu gözlemlenmiştir (4).

#### **2.4. Apoptozis**

Apoptozis, organizmanın ihtiyacının olmadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasar almış hücrelerin, zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlamak için genetik olarak kontrol altında olan zaman ayarlı hücre ölümüne denir.

Yunanca terim olan “Apoptosis” ayrılıp düşme olarak tanımlanır, sonbahar mevsiminde ağaçtan düşecek olan yaprakları söylemek için kullanılan eski bir kelimedir (25). Tıp ise “apoptozis” terimini ilk defa Hipokrat tarafından doku ya da hücre ölümünü anlatmakta kullanmıştır. Kerr ekibi ile ölmüş olan hücre nükleuslarında parça parça yoğun kromatin gözlemleyerek organellerin iyi korunduğunu anlamış bunu “büzüşme nekrozu” olarak isimlendirmiştir (26). Apoptozis veya tip 1 hücre ölümü, fizyolojik olaylarda çıkabileceği gibi patolojik oluşumlar esnasında da çıkabilirler (27). Çok hücreli canlılarda iyileşme, yaşlanma ve doku içerisindeki homeostazı sağlamak gibi biyolojik olaylarda rol alırlar. Apoptozis omurgalıların embriyonik gelişimi sırasında da görev almaları sonucu sinir sisteminin gelişimi sırasında sinir hücrelerinin yarısına yakınının ölmesine neden olur. Bağırsak ve kemik iliği devamlı olarak hücresel aktivitesi olması nedeni ile sıklıkla apoptoza uğrarlar (28). Apoptozis, sadece dış etken ya da hücre hasar sonucunda gözlenmez. Normal gelişim esnasında ve morfogenezde oluşan gerekli ve düzenli yok olma mekanizmalarında rol oynar (29).

Apoptozis mekanizması, hücre ölüm sürecinde bir dizi önemli değişikliği içerir. Bu değişiklikler, mitokondriyal dış zarın geçirgen hale gelmesi (MOMP), kromatinlerin yoğunlaşması, çekirdek DNA'sının parçalanması, hücre zarında kabarcıkların oluşması, hücrenin küçülmesi, dinamik membran kabarıklıkları ve hücre dışı matrislere yapışmada kayıp gibi olaylardır (30).

Apoptozis, hücre içi-dışı sinyalle düzenlenir. İntrinsik yol hücre içi sinyaller sonucu, ekstrinsik yolu ise hücre dışı sinyaller harekete geçirir. Tetiklenme intrinsik yol ile olmuş ise; DNA'da hasar, metabolizmada döngüsel bozukluklar, hücrenin içerisinde kalsiyum seviyesinin artması, asiditede artış, hipoksi gözlenir. Ekstrinsik yol ile tetiklenen apoptoz sinyalleri, büyüme ve üreme faktörlerinin yetersizliği, reseptörlerin aktivasyonu, T lenfositlerin sitotoksik etkisi ve dışsal uygulamalardan kaynaklanabilir. Bu dışsal uygulamalar arasında iskemi, UV ışınları, kemoterapi ilaçları, toksik maddeler ve radyasyon etkileri bulunmaktadır. Bu faktörler, hücrelerin kontrollü ölüm sürecini başlatan dış kaynaklı sinyallerdir ve hücrel homeostazın korunmasında önemli rol oynar (31). Apoptoziste aslında; kaspazların aktive edilmesi, DNA ve proteinlerin parçalanması, membrandaki farklılaşmalar ve fagositik hücrelerin tanınması şeklinde üç farklı biyokimyasal değişiklik gözlenir (32). Günümüzde apoptozis kaspazların aktivasyonu ile morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler olarak açıklanmaktadır ve apoptozis genellikle kaspaz-bağımlı programlı hücrel ölüm olarak kabul edilmektedir (33). Sisteinil aspartata özgü proteazlar, hücrenin içerisinde aktif olmayan zimojenler grubu olarak sentezlenirler. Çok ciddi proteaz aktivasyonu sahip değildirler, ölüm uyarısı alana dek aktiviteleri yoktur. Kaspazların sistein proteazları c harfi ile gösterilirler. Aspartik asidin bulunması ve parçalanma özelliği ise aspaz özelliği olarak gösterilir. Kaspaz aktivitesi başladığında fazla hücrel yapıya sahip proteinleri uzaklaştırır, hücre iskeletini parçalar. Ayrıca DNA'ı da aktif hale getirirler (34, 35). Kaspazlar, başlatıcı ve devam ettirici görevleri vardır. Böylece apoptozun merkezinde yer alırlar. Kaspazlar apoptoziste etki ettikleri mekanizmalara göre sınıflandırılırlar. Tetikleyici olan kaspazlar; Kaspaz 2, Kaspaz 8, Kaspaz 9 ve Kaspaz 10 icracı olan kaspazlar ise Kaspaz 3, Kaspaz 6 ve Kaspaz 7'den oluşur (36). İlk apoptotik uyarılara cevap olarak ilk aktive olan kaspazlara başlatıcı kaspazlar denir ve icracı kaspazlarında aktivasyonunu da sağlamış olurlar (37). Hücre kaspaz aktivasyonunu doğru bir şekilde modüle edemiyor ise normal dışı ve beklenmedik apoptotik hücre yok oluşuna sebep olabilirler (38). İntrinsik (içsel) veya ekstrinsik

(dışsal) yoldan apoptozis başlatılabilmektedir. Hücre içi streslere cevaben İntrinsik (içsel) yol aktif olur. Ölüm ligandlarının plazmada bulunan zar üzerindeki benzer menşeli öldürücü reseptörlere bağlantısıyla ekstrinsik (dışsal) yol aktif olur.

Her ne kadar İntrinsik (içsel) ve ekstrinsik (dışsal) yollar ve cevaplar benzemese de sonuç olarak Kaspaz 3'ün aktive edilmesi ile sonuçlanır (39).

#### **2.4.1. Ekstrinsik Apoptozis Yolu:**

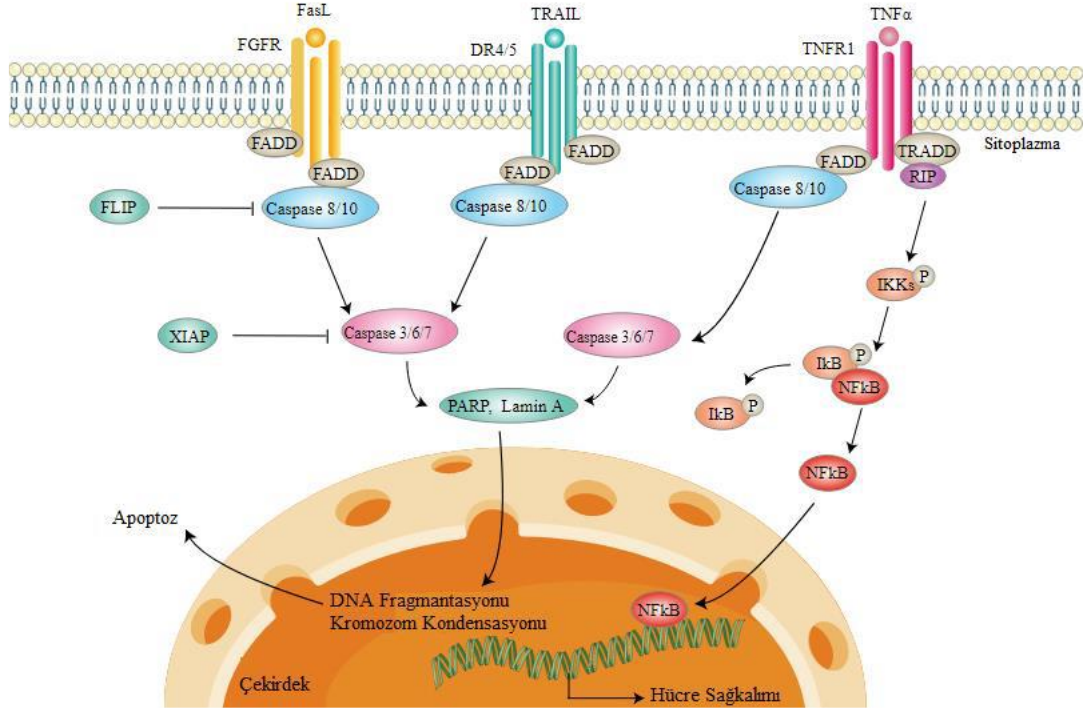
Ölümün başlamasına neden olan ekstrinsik etken, TNF gen süper ailesinden kaynaklanan transmembran reseptör ile etkileşmesi sonucu sağlanmış olur (40). Bu reseptörler; TNFR1, CD95, DR3, DR4, DR5 ve DR6 olarak bilinir. Hücreye gelen ölüm sinyali, hücre zarında bulunan TNF reseptör ailesinin grubundaki ölüm reseptörleri ile etkileşerek etkili olur (41).

TNF ailesi reseptörleri, sistince zengin bölgeler içerir ve hücre dış yüzeyinden iç yollara sinyal iletiminde görevli, seksen aminoasitlik sitoplazmik alanlara sahiptir. Ölüm reseptörlerinden bazıları TNF- $\alpha$ /TNFR1, DR3 ve DR4'tür(31).

Ligand-reseptör etkileşimi sonrasında, ölüm sahasını içeren sitoplazmik adaptör proteinleri görev alır. FasL/FasR ve TNF- $\alpha$ /TNFR1 etkileşimleri, FADD, TRADD ve RIP gibi proteinlerin reseptörlerle etkileşmesine neden olur, böylece apoptoz sinyal yolu aktive edilir (42).

Prokaspaz 8, FADD ile ölüm sahasında bağlanarak etkileşir. Bu etkileşim, Prokaspaz 8'in katalitik aktivitesi sonucunda tetikleyici sinyal kompleksinin (DISC) oluşumuna neden olur. Bu süreçte, kaspaz 8'in proteolitik aktivitesi zimojenin olgunlaşmasını kolaylaştırır. (43). Etkileşim sonucunda prokaspaz 8, aktif kaspaz 8'e dönüşür.

Kaspaz 8, prokaspaz 3'ü aktive ederek apoptozu başlatır. C-FLIP, yoğunluğuna bağlı olarak apoptozu inhibe edebilir veya güçlendirebilir ve bu işlemi FADD ve kaspaz 8'e bağlanarak gerçekleştirir (44). (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. Ekstrinsik apoptozis yolu (45).

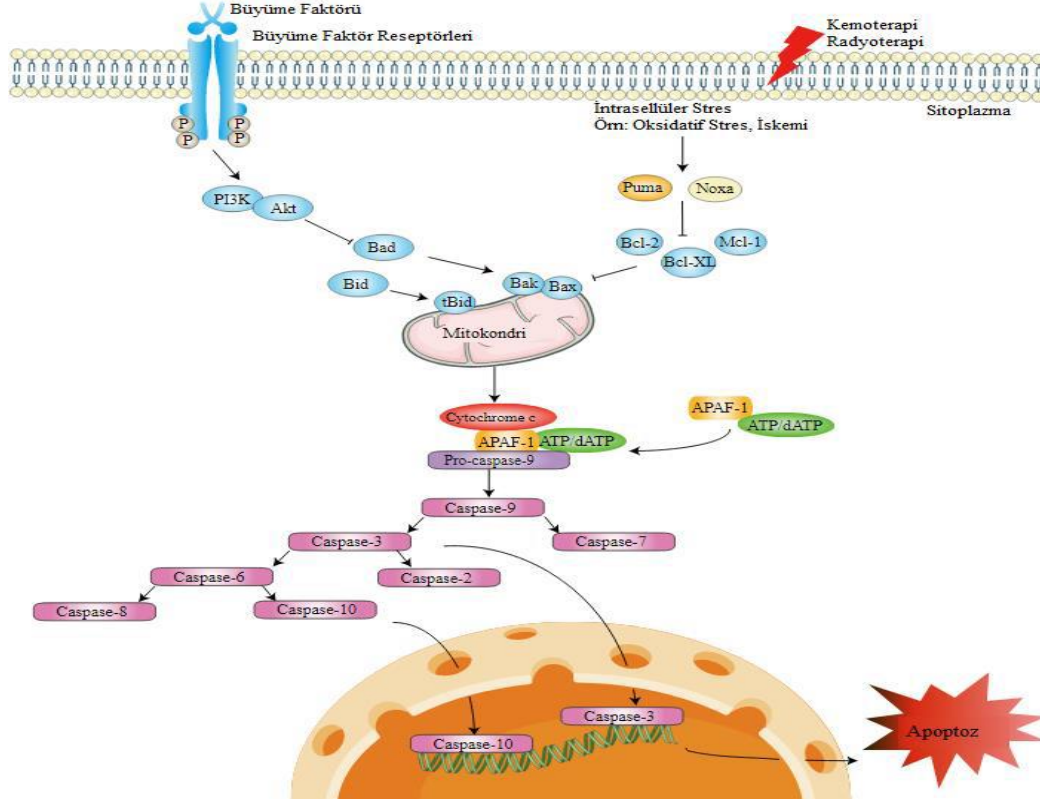
#### 2.4.2. İntrinsik Apoptozis Yolu:

İntrinsik yol, mitokondriden salınan faktörlere bağlı olduğu için içsel (mitokondriyal) yol olarak adlandırılır (46). İç mitokondriyal yolun uyarılması, enfeksiyon, hücre içi yüksek kalsiyum, asidite artışı, oksijensizlik ve DNA hasarı gibi hücre içi uyarılarla tetiklenir (47). Bu uyarılara ek olarak, mitokondriyal geçirgenliğin artışı ve proapoptotik molekül sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması da içsel yolun başlatılmasına yol açar (48).

Mitokondrinin dış zarındaki anti-apoptotik proteinler, iyon taşınması ve sitokrom c'nin mitokondri zarını geçmesini engelleyerek apoptozu düzenler. Proapoptotik proteinler ise sitokrom c'nin sitozole transferini sağlayarak apoptozu başlatır. Hücredeki proapoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin oranı, apoptozun başlayıp başlamayacağını belirler. Proapoptotik proteinlerin fazlalığı apoptozu başlatırken, anti-apoptotik proteinlerin fazlalığı apoptozun başlamasını engeller (49).

BCL 2 ailesine bağlı üyeler Bcl-2 homoloji bölgeler içerirler. Bugüne değin dört adet BH bölgesi belirlenmiştir. Proapoptotik üyelerin BH bölgesel ekspresyonlarında 2 sınıf

olarak toplandığı gözlemlenmiştir; Genellikle antiapoptotik üyelerin müşterek aminoasit dizilerinin dört BH bölgesinde de korudukları gözlemlenmiştir (50). Sadece BH3 proteinleri, anti-apoptotik BCL-2 proteinlerinin inhibasyonunu sağlayarak apoptotik strese cevap olarak yukarı yönlü regüle edilirler (Şekil2.4) (51).



Şekil 2.4. İntrinsik apoptozis yolu (45).

## 2.5. İnflamasyon

İnflamasyon, organizmanın endojen veya ekzojen uyaranlara karşı başlattığı ve doku hasarı sonucu ortaya çıkan humoral, vasküler, sellüler yanıtların toplamıdır. Bu yanıt, yaşamın devamı için gereklidir ancak spesifik olmayan bir savunma mekanizmasıdır. İnflamasyonun amacı, mikroorganizmaların veya toksinlerin hücrelere zarar vermesini engellemek ve hasarlı dokuları uzaklaştırarak organizmanın devamlılığını sağlamaktır. İnfeksiyöz (bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler) veya infeksiyöz olmayan (travma, yanık, yabancı cisim, iskemi, pankreatit) çeşitli mekanizmalarla tetiklenebilir, ancak yanıt benzerdir.

Hücrenin dejenere olması ile birlikte inflamasyonlar, hastalıkların patolojik temelini oluştururlar. Genel olarak hastalığın ilerleyişinde inflamatuvar reaksiyonlar meydana gelmektedir. Otoimmün hastalıklarda sebebin belli olmaması nedeni ile genetik bazı defektler veya özel genler vasıtası ile meydana gelmesinin yanında şu an bilinmeyen birtakım virüslerin de sebep olabileceği düşünülmektedir (52).

### **2.5.1. İnflamasyon Bulguları (Belirtileri)**

1-Kızarıklık (Rubor): İnflamasyonlu alanda birçok medyatörün etki etmesi sonucunda vasküler permeabilite ve vazodilatasyon meydana geldiği için ilgili alan çok fazla aktif olarak kanlanır. Kızarıklık, inflamasyonda erken olarak ortaya çıkar ve hafif seyirli reaksiyonlarda,alerjilerde oldukça tipik bir belirtidir.

2-Isı Artışı (Calor): Vazodilatasyon sonucunda ilgili alana çok fazla kan akışı olacak ve çok aşırı kan akışı sonucunda bölgedeki sürtünme artacağından dolayı bölgesel ısı artışı meydana gelir. Akut inflamasyonun en önemli ve belirgin bulgusu ısı artışıdır.

3-Şişkinlik (Tumor): Vasküler permeabilite nedeniyle ilgili alana kan plazması sızar bunun sonucunda da şişlik meydana gelir. Şişlik sadece bu sebepten dolayı olmaz. Proliferatif tabiatla inflamasyonda meydana gelen granülomlar veya hiperplaziler, fibrotik dönüşümler de söz konusu şişliğe neden olabilir.

4-Ağrı (Dolor): Ağrının oluşumunda çok önemli iki neden; organizmada ağrı oluşumunda rol alan inflamasyonda sebep olan prostaglandinler ve bradikinin gibi kimyasal medyatörler ve inflamasyon sonucu oluşan ödemin sinir uçlarına baskısıdır. İnflamasyona bağlı ağrının zaman geçtikçe arka planda kalıcı hale gelir.

5-Kapsanan Organlarda Disfonksiyon: İnflamasyona bağlı organ normal olarak çalışamaz (53).

### **2.5.2. İnflamasyonun Sebepleri**

Canlı Etkenler: İnflamasyona neden olan çok ehemmiyetli faktör mikroorganizmalardır. Bakteri, virüs, riketsiya, mantar, protozoon, helmintler bu gruptadırlar. Buna benzer etkenlere ait olan antijenler ve yüzeye ait reseptörler aracılığı sonucu nötrofil kemotaksisine sebep olurlar, sonuç olarak inflamasyon gelişir (52).

Fiziksel Etkenler: Mekanik travmalar, sıcak ve soğuk tesirler, elektrik, u.v. ışınlar, iyonizasyon oluşturan ışınlar, muhtelif yabancı cisimler etkendir.

Kimyasal Sebepler: Asitler, alkaliler, dezenfektan, ağır metal bileşikleri, canlıda çok fazla meydana müteşekkil metabolizma ürünleri inflamasyona sebep olurlar. Asidik madde hızla dokuda yıkıma sebep olduklarından inflamatuvar cevap hızlı bir şekilde gelişir.

İmmunolojik Reaksiyona Sebep Olan Maddeler: Yabancı proteinler, hipersensibilite meydana getiren eksojen ve endojen kaynaklı maddeler, doku naklinde doku ya da organ reddi, immunkompleksler. Gerek homoiyoplastik, gerek heteroplastik olsun vücudun kendisindende alınmış dahi olsa yabancı doku daima yabancıdır bu sebeple meydana gelen immun yanıtta inflamasyondur.

Anoksemi ve Nekroz: Dokuya gelen kanın azalması ya da kesilmesi sonucu bu bölgenin çevresinde inflamatuvar reaksiyon meydana getirir.

İdiopatik İnflamasyon: Sebebi tam olarak ortaya konulamamış inflamatuvar hastalıklardır (53).

### **2.5.3. İnflamasyon Hücreleri**

İmmün sisteme ait hücreler inflamasyon oluşumunda önemli bir rol alırlar. İnflamasyonun başlangıcında damar içindeki kan akım seyri değişir. Normal şartlarda damarın en iç yüzde lökositler, etraflarında eritrositler, dış kısımda trombositler damar lümenine en yakın kısmında ise plazma bulunur. Her ne sebeple olursa olsun inflamasyon reaksiyonu başladığında evvel olarak devreye hemen histamin, prostoglandin, kinin-bradikinin gibi tetikleyici ajanlarca damarsal geçirgenlikte artış olur. İnflamatuvar platformlarda bilhassa monositer, makrofajlar ve nötrofiller için rahat eylem gerçekleştirmelerini sağlamak için mahalli hazır etmek üzere plazma sızması gerçekleşir. İnflamasyona bağlı şişlik hücrelerin göçü öncesi meydana gelir, sonrasında damarsal akışta bozulma olur. Lökositler damarın lümen kısmına doğru yaklaşmaya başlarlar, bunun sonucunda damarın lümen kısmına gelen lökositler permeabilitesi artmış damar duvarından kendi salgıladıkları litik enzimler vasıtası ile damarın dışına çıkarlar (52).

Nötrofiller:

Nötrofiller İnflamasyonda önder hücreler olarak görev yaparlar. Nötrofilin özelliğinin kimyasal uyarana karşı tepkisinin neden olduğu düşünülmektedir. Bu tepkide kompleman protein türü, yoğunluğu önemlidir. Bakteri enfeksiyonları ya da ani başlayan

İnflamatuar sebepler nötrofil yapımını artırır. Kinin ve Bradikininler histamine benzeyen etkiler gösterir bu durum inflamatuvar reaksiyonu indüklemiş olurlar. Nötrofiller inflamatuvar yanıtta sahip oldukları granüler yapıların immünolojik özelliğinden dolayı önemlidirler (52).

Lenfositler:

Lenfositler kemik iliği kök(stem) hücreleri tarafınca geliştirilen mühim hücrelerdendir. Olgunlaşmasını birincil lenfoid organlar olan timüsta ya da kemik iliğinde tamamlayıp kan vasıtası ile ikincil lenfoid organ ve dokuların özel bölgelerine ulaşırlar. Sirkülasyon durumunda olan Lenfositler tür ve miktar olarak farklılık gösterebilirler. Yetişkin bir bireyde bir milyona yakın lenfosit vardır. Aynı zamanda binlercesi de yapılır.

İnsan kanının lökositlerinin yaklaşık %25-35'nı karşılık gelir. İnsan kanında bulunanlar büyüklü ve küçüklü lenfositlerden oluşur geneli ufak tip lenfositlerdir (54,55). Görüntüleri benzer iki farklı tip lenfosit bulunur. Bunlar B lenfosit ve T lenfosit olarak adlandırılır. Bunlar her yönüyle birbirinden farklı yapı ve işlevlere sahiptirler (54,56).

B lenfosit antikorlara dayalı savunmadan mesuldürler, buna hümmoral immünite denir. B lenfosit Ig (immünglobulin) sentezini yaparlar. Bunlar antijen karşıtı spesifik reseptörü meydana getirirler (55,57).

T lenfositleri, hüccresel bağışıklıktan sorumludur. Oluşumları kemik iliğinde başlayan kılavuz hücreler tarafından sağlanır ve bu hücreler timusta olgunlaşarak T lenfositlerine dönüşür. Olgunlaşma sürecinde, T lenfositlerinin yüzeylerinde çok sayıda reseptör oluşur. Bu reseptörler, çeşitlilik ve sayı bakımından zengin olup CD (Cluster of Differentiation) olarak adlandırılırlar. Örneğın, CD1, CD5 ve CD7 gibi CD'ler bulunur (58,59).

M Hücreleri:

Lümen yüzünden antijenleri alarak dar yapılı olan sitoplazmalarından geçirip bazal membramları üzerinden bağ doku içinde olan lenfositlere iletip İmmünoglobulin (IgA) yapılmasını başlatır (52).

Makrofaj:

Makrofajlar yabancı dost molekül ayrımı yapabilme kabiliyetine sahiptirler. Makrofajlarda da reseptörler bulunur. Bu reseptörler antikor ya da kompleman ile örtülmüş olan mikroorganizmaları Antikor-Komplemanı tanıyan reseptörleri sayesinde mikroorganizma fagositozunu artırır. Makrofaj interferon gama, interlökin-12 sitokinlerini de üretirler. Bu üretimleri sayesinde uyarlayıcı bağışıklık cevaplarında ayarlayıcı görev yapmalarını sağlar. Makrofaj ve fagositik monosit ölü dokularda inflamatuvar yanıtta artışa neden olan maddelerin serbestisine neden olmuş ölmüş veya ölü hücrelerin ortamdan ayrılmasını sağlarlar (60,61).

Fibroblastlar:

Makrofajlar tarafından salgılanan büyüme faktörleri fibroblastların inflamasyon bölgesine intikalini sağlar.

Böylelikle fibrozis oluşur. Olay bağ dokusu ve fibrin oluşumundan ibarettir. Doku kayıplarının engellenmesinde hücre çoğalması ile karakterize olayların aktörlerindendir (52).

#### **2.5.4. İnflamasyonun Patolojisi**

İnflamasyon patolojik olarak vasküler ve hücresel olarak iki ana olay üzerine şekillenir.

Vasküler Değişiklikler

Vasküler olan değişiklikleri ilk olarak Cohnheim, sonraları Lewis, damarların çaplarındaki değişimleri 3'lü cevap deney ile açıklamaya çalışmıştır. Bunda Lewis bir cetvel ile deriye vurarak şu cevapları almıştır:

-Birinci yanıt:

Başlangıçta kılcal damarlarda daralma meydana gelir ilgili alan solgunlaşır. Ancak 40-50 sn sonra çizgisel kızarma olur. Kızarıklık kapiller ve venüllerin genişlemesine bağlı olarak oluşur.

-İkinci yanıt:

Yaklaşık 2 dk içerisinde kırmızılaşan alan iyice genişler ve başlangıçta meydana gelen kırmızı bölgenin çevresinde 2'inci bir düzensiz kırmızı bir alan oluşur. İlgili alanda sıcaklıkta artış meydana gelir. Kapiller ve venüllerin genişlemesinin yanında arterioller de genişler.

-Üçüncü yanıt:

İlk 30 dakikalık süre içinde, yaralanma alanında şişme ve solma gözlemlenir; bu durum, sıvı sızması sonucunda oluşur. Yaralanmanın şiddetine bağlı olarak, arteriollerde kısa süreli bir daralma ve ardından genişleme meydana gelir, bu da kan akışında artışa yol açar. Bu artış, ısı ve kızarıklıkla karakterizedir.

Damarsal genişleme ve artan kan akışı, damar içi basınçta artışa neden olur ve kılcal damarlarda sıvı filtrasyonunu artırır. Başlangıçta transudat olan bu sıvı, vasküler geçirgenliğin artmasıyla protein açısından zengin eksudat haline gelir ve interstisyel bölgeye geçerek ödem oluşturur. Vasküler permeabilite artışı şu şekilde açıklanabilir:

1. Venüllerde bulunan endotelial boşluklar histamin, bradikinin, lökotrienler, substans P ve diğer meditörler agonist olarak uyarmaları sonucunda kasılmaları sonucunda endotelial aralıklar genişler böylece aktarım mümkün hale gelir.

2. Endotel iskeletinin yeniden yapılanması.

3. Artmış transitozis.

4. Direkt endotel hasarı.

5. Lökosit bağımlı endotel hasarı.

6. Yeni meydana gelen damarların yatağından kaçak olabilir (52).

## Hücresel Olaylar

Lökositlerin en önemli özellikleri, hasarlı dokulara geçiş yetenekleridir. Lökositler, hasarlı bölgeye gitmek için vasküler endotele marginasyon yapar ve adezyon ile hasarlı alana yapışırlar. Hasarlı endotel bölgesinden vasküler alan dışına transmigrasyon gerçekleştirirler. Vasküler alan dışındaki sıvı ve hücreler, eksudat ile dolarak inflamatuvar yanıtı güçlendirir. Lökositler, sitokin salınımı ile inflamasyonu düzenler ve fagositoz yoluyla hasar etkenlerini yutarak degranülasyon sürecinde bu etkenlerin eritilmesini sağlarlar (52).

### 2.5.5 İnflamasyon Çeşitleri

#### Akut İnflamasyon:

Akut inflamasyon hızla başlar çok kısa bir zamanda şekillenmiş olur. Çok hızla oluşmaları nedeni ile inflamasyon alanında zengin hücre nötrofil, lökositler ve bunların yanında makrofajlar sık bir şekilde gözlemlenir. Ayrıca az sayıda da lenfosit gözlemlenebilir (53).

#### Kronik İnflamasyon:

Kronik inflamasyon ise uzunca bir zaman diliminde gelişir. İnflamasyon bölgesinde çok fazla lenfositler bulunur. Fibrin oluşumu gözlemlenir. Duyusal olarak ağrı azdır (53).

#### Eksudatif İnflamasyon:

Eksudatif inflamasyonda, inflamasyonun ilk evresi olarak adlandırılabilir. Sıvısal eksudasyonu ile karakterizedir. Eksuda inflamasyonu içerik ve eksudanın yoğunluğuna göre sınıflandırılır;

Seröz inflamasyon: Alerjik reaksiyonlar, böcek ve sinek ısırıkları, birinci derece yanıklar gibi durumlarda görülür. İyileşme süreleri kısadır ve eksüdasyon dışında belirgin bir özellik gözlemlenmez. Kızarıklık ve ısı artışı sonrası vezikül oluşumu görülür.

Fibrinöz inflamasyon: Genellikle ölü mikroorganizmalar, nötrofiller ve fibrin açısından zengin olan inflamasyon tipidir.

Serö-müköz inflamasyon: Solunum ve sindirim kanalı boşluklarında meydana gelir. Hızlı gelişen vakalarda, bol miktarda nötrofil ve plazma içerir.

Purulent inflamasyon: Piyojen mikroorganizmalar kaynaklıdır ve sıklıkla fistül oluşturma eğilimindedir.

Hemorajik inflamasyon: Virülansı yüksek mikroorganizmalarca oluşur. Eritrositlerin damar dışına çıktığı ve damar geçirgenliğinin arttığı inflamasyon türüdür. Toksinler damar geçirgenliğini artırabilir veya pıhtılaşma faktörlerini engelleyebilir, bu da kanamalara yol açar. İnflamasyon sonucunda oluşan damarsal hasarlar kanama eğilimini artırır (52).

Nekrotik İnflamasyon: Dokuda kaybın olduğu inflamasyon şeklidir. İnflamasyonlu alanda ülserleşme de dikkati çeker .

Proliferatif İnflamasyon: Granülom adı verilen fibröz kapsüllü inflamatuvar olaydır. İnflamasyon alanı vasküler yapılanma, makrofaj ve nötrofillerce zengindir (53).

## **2.6 LPS ve İnflamasyon:**

Lipopolisakkaritler, sistemik, düşük dereceli inflamasyonun ana nedenlerinden biridir. LPS, gram-negatif bakterilerin dış zarında bulunur ek olarak inflamasyon, obezite, meme kanseri ve metabolik bozukluklar arasında önemli bir bağlantı olarak kabul edilmektedir. LPS inflamasyonu önemli derecede arttırıcı etkiye sahiptir. LPS, etkilerini Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) kompleksi üzerinden yapar. Toll benzeri reseptör-2 (TLR2), pro-IL-1 $\beta$  ve inflamazom bileşenlerini sentezlemek için nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B) ve mitojenle aktiveleşen protein kinazı (MAPK) uyarır; daha sonraki süreçte kaspaz-1 aktive olur ve NLRP3 inflamazomu oluşur. İnflamazom proIL-1 $\beta$ 'yı olgun IL-1 $\beta$ 'ya dönüştürür. NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu iki aşamalı bir süreçle gerçekleşir. IL-1 $\beta$ , reseptörüne bağlanarak IL-8 ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin sinyal kaskadını tetikler, nötrofillerin toplanması ve aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, çok sayıda bağışıklık hücresi ve sitokin ile inflamatuvar yanıt oluşur (62).

Sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıtları düzenleyen, 20-30 kDa ağırlığında glikoprotein veya peptit yapısında maddelerdir. Aktive edilmiş lenfositler, monositler, makrofajlar ve

bazı somatik hücrelerden salgılanırlar. Çözünür formda etkilidirler ve inflamasyon, hücre büyümesi, iyileşme süreçlerinde rol oynarlar. Yaralanma durumunda sistemik cevapları içeren inflamatuvar ve immün olayları düzenlemeye yardımcı olurlar. Sitokinler, hücrelerin etkinliklerini artırarak immün veya inflamatuvar yanıtları modüle ederler (49). Sitokinler, görev ve kökenlerine göre sınıflandırılabilirler:

1. Doğal Bağışıklık Mediyatörleri: Tip 1 interferonlar, kemokinler, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6.
2. Lenfosit Aktivasyonu ve Farklılaşma Düzenleyicileri: IL-2, IL-4, TGF- $\beta$ .
3. İnflamasyon Regülatörleri: İnterferon-gama, IL-12, IL-10, IL-5, lenfotoksin.
4. Hematopoetik Stimülanlar: Stem cell faktör (SCF), IL-3, monosit-makrofaj koloni stimülan faktör (G-CSF), granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör (GM-CSF), IL-7, IL-9, IL-11.

İnflamasyon esnasındaki görevlerine göre de proinflamatuvar, antiinflamatuvar ve çift etkili şeklinde 3 gruba ayrılırlar. Proinflamatuvar olanlar; TNF- $\alpha$ , IL-1, 2, 8, 12, 15, 17, 18 ve INF- $\gamma$ , antiinflamatuvar olanlar: IL4, 10, 11, 13 ve TGF- $\beta$ , çift etkili olanlar; TNF-  $\beta$ , IL-6 (63).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

“Sepsis Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Karaciğer Hasarı Üzerine Borik Asitin Koruyucu Etkisi” isimli bu tez çalışmasının tüm deneysel protokolleri, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Onay No:68429034/12.01.2023); TIP.A4.23.002 no’lu proje olarak Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Çalışmada Eti Bor Maden İşletmelerinden alınan Borik Asit ( $H_3BO_3$ ) bor bileşiği kullanılmıştır.

#### **3.1 Hayvan Deney ve Çalışma Düzeni**

##### **3.1.1 Barındırma yeri**

Sıçanlar, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı’nda barındırıldı. Deney sonrasında elde edilen dokuların analizleri ise Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi AR-GE ve Histoloji-Embriyoloji A.D. araştırma laboratuvarında yapıldı.

##### **3.1.2 Yetiştirme ve bakım koşulları:**

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.

##### **3.1.3 Çalışma Grupları:**

Çalışma için 32 adet Wistar albino türü yetişkin dişi sıçan 4 gruba ayrılmıştır. Bu tür, insandaki pek çok durumu taklit etmek için uygun bir histopatolojik model oluşturmaktadır. Hayvanların tamamı deneye başlamadan önce tartılmış, daha sonraki günlerde de 15 gün boyunca beslenme, sıvı alımı, kilo kaybı, ishal açısından takip edilmiştir. Kontrol grubu hariç tüm gruplara deneyin ilk 14 günü IP olarak 20 mg/kg B uygulanmış, kontrol grubuna aynı hacimde serum fizyolojik uygulanmıştır. Deneyin 14. gününde 7,5 mg/kg LPS IP olarak belirlenen deney gruplarına uygulanmıştır.

### 3.1.4 Çalışma düzeni ve hayvan deneyi;

**Grup 1 “K” (Kontrol):** Çalışmanın 15. gününde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık ip. ve ketamin (60 mg ketamin hidraktorür/kg canlı ağırlık, ip. ile genel anestezisi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir (n=6).

**Grup 2 “B” (Borik Asit):** Deneyin ilk 14 gününde sıçanlara 20 mg/kg BA ip. verilmiş, çalışmanın 15. gününde gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık ip.) ve ketamin (60 mg ketamin hidraktorür/kg canlı ağırlık, ip.) ile genel anestezisi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir. (n=6).

**Grup 3 “B+LPS” (Borik Asit + Lipopolisakkarit):** Deneyin ilk 14 gününde 20 mg/kg BA ip. verilmiş, 14.günün akşamında 7,5 mg/kg LPS ip. olarak uygulanmış çalışmanın 15. gününde (18 saat sonra) gruptaki sıçanlar ksilazin (60 mg ketamin hidraktorür/kg canlı ağırlık, IP.) genel anestezisi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir(n=10).

**Grup 4 “LPS” (Lipopolisakkarit):** Deneyin 14.gününde 7,5 mg/kg LPS ip. olarak uygulanmış çalışmanın 15. gününde (LPS enjeksiyonundan 18 saat sonra) gruptaki sıçanlar ksilazin (10 mg/kg canlı ağırlık ip.) ve ketamin (60 mg ketamin hidraktorür/kg canlı ağırlık, ip.) genel anestezisi altında doku örnekleri ve kanları alındıktan sonra servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir (n=10).

**Tablo 3.1:** Deney Grupları

|                |                                                                                                                           |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kontrol</b> | % 0,9'luk serum fizyolojik ip. Olarak 14 gün boyunca hergün bir defa                                                      |
| <b>LPS</b>     | Deneyin 14.gününde 7,5 mg/kg LPS ip., 15. günde sakrifikasyon                                                             |
| <b>B+LPS</b>   | Deneyin ilk 14 gününde sıçanlara ip. 20 mg/kg BA uygulaması, 14.günün akşamında 7,5 mg/kg LPS ip. 15. günde sakrifikasyon |
| <b>B</b>       | Deneyin ilk 14 gününde sıçanlara ip. 20 mg/kg BA uygulaması, 15. günde sakrifikasyon                                      |

Tüm uygulamalar günün aynı saatinde yapılmıştır. Deneyin 1.gününde, 14.gününde ve 15.gününde hayvan ağırlıkları tartılmış, sonuçlar kaydedilmiştir. Deneyin 15.gününde bütün gruplara intraperitoneal ketamin hidroklorid 60 mg/kg + 10 mg/kg ksilazin HCl (%2 ksilazine hidroklorid) ile anestezi sağlandıktan sonra steril koşullar altında orta hat kesisi ile laparotomi yapılmıştır. Deri altı bağ dokusu ve abdominal kaslar açılarak organlar diseke edilmiştir. Organlar formaldehit içine alınarak histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler için kullanılmıştır.

### **3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Çalışmada Eti Bor Maden İşletmelerinden alınan Eti Bor 48 (Boraks Pentahidrat) bor bileşiği kullanıldı. Çalışmada endotoksemi oluşturulan gruba uygulanan LPS (Escherichia coli O26:B6; Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) bir E.coli suşundan seçildi. LPS'in uygulama dozu ve şekli, kullanılan E.coli suşu ile uyumlu olacak şekilde belirlendi. LPS Sigma– Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edildi. Masson Trikrom boyama için; Masson Trikrom with Anilin Blue (Beslab) Histomed firmasından temin edildi. İmmünohistokimyasal boyamada primer antikor olarak cleaved caspase-3 (Cell Signaling Technology Cat# 9929, RRID:AB 329984) kullanılmıştır. TNF- $\alpha$  ve IL 8 in dokudaki ölçümü için; Rat TNFA Elisa kiti Marka:BTLAB (Bioassay Technology) Katalog no: E0764Ra, Rat TNFA Elisa kiti Marka:BTLAB (Bioassay Technology) Katalog no: E0764Ra kullanılmıştır.

### **3.3 Yapılan Deneyler;**

#### **3.3.1 Histopatolojik Analizler**

Tüm deneklerden elde edilen karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için ilk olarak en az 72 saat süresince %10' luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiştir. Tespit işleminden sonra doku örnekleri kasetlere konularak akarsu altında 24 saat süresince yıkanmıştır. Suyun uzaklaştırılması için dokular artan alkol serilerinden (%50, %70, %80, %90, %100) geçirilecek (Tablo 3.2). Sonrasında dokular şeffaflandırma amacıyla ksilolden geçirilmiş ve ardından erimiş parafine gömülmüştür. Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4-5  $\mu$ m kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve masson trikrom (MT) ile boyanmıştır. H&E boyama ile, karaciğer dokusu için genel histomorfolojik yapı değerlendirilmesi (Tablo 3.3), MT ile bağ dokusu alanlarındaki kollajen birikimleri gösterilmiştir (Tablo 3.4).

**Tablo 3.2:** Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği

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

**Tablo 3.3:** Hematoksilen&Eozin Boyama Tekniği

| Sıra | Yapılan işlem   | Süre   | Sıra | Yapılan işlem    | Süre   |
|------|-----------------|--------|------|------------------|--------|
| 1    | Etüv (60 °C)    | 2 saat | 14   | Eozin            | 3-5 dk |
| 2    | Ksilen I        | 10 dk  | 15   | Akarsu           | 1 dk   |
| 3    | Ksilen II       | 10 dk  | 16   | %50 Alkol        | 1 dk   |
| 4    | Ksilen III      | 10 dk  | 17   | %70 Alkol        | 1 dk   |
| 5    | Absolu Alkol I  | 5 dk   | 18   | %80 Alkol        | 1 dk   |
| 6    | Absolu Alkol II | 5 dk   | 19   | %96 Alkol        | 1 dk   |
| 7    | %96 Alkol       | 5 dk   | 20   | Absolu Alkol I   | 1 dk   |
| 8    | %80 Alkol       | 5 dk   | 21   | Absolu Alkol II  | 2 dk   |
| 9    | %70 Alkol       | 5 dk   | 22   | Absolu Alkol III | 2 dk   |
| 10   | %50 Alkol       | 5 dk   | 23   | Ksilen I         | 20 dk  |
| 11   | Akarsu          | 2 dk   | 24   | Ksilen II        | 20 dk  |
| 12   | Hematoksilen    | 5-8 dk | 25   | Ksilen III       | 20 dk  |
| 13   | Akarsu          | 5 dk   | 26   | Kapatma          |        |

**Tablo3.4:** Masson Trikrom Boyama Tekniği

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

### 3.3.2 İmmunohistokimyasal Analizler

İmmünohistokimyasal boyamalar için oluşturulan parafin bloklardan polilizinli lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler 37°C' deki etüvde bir gece tutulmuş, daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C' ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat, sonrasında 61°C' de 20 dakika bekletilmiştir. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 20'şer dakika ksilele bırakılmıştır. Daha sonra kesitler 10'ar dakika sırasıyla %100, %96, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinden geçirilmiştir. Dehidrate edilen kesitleri alkolden arındırmak için kesitler 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilmiştir. Daha sonra doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, dokulara sitrat tamponu (pH 6.0) ile mikrodalga fırında retriver işlemi uygulanmıştır. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki kesitler 20 dakika dışarıda soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilip, dokuların etrafı PAP-pen ile çevrilerek nemli ortam olan immünohistokimya barına dizilmiştir. Dokular 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Ph:7.4) ile yıkandıktan sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi ile bloke edilmesi sağlanmıştır. İşlem sonrasında

PBS ile kesitler yıkanmıştır. Yıkanan kesitlere 5 dakika UltraV block uygulanmış, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlanmıştır. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, uygun dilasyonun caspas 3 primer antikörlerine belirli sürelerde etkin bırakılarak inkübasyonları sağlanacak. Primer antikörden sonra kesitler 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika biotinli sekonder antikör uygulanarak primer antikora bağlanması sağlanmıştır. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kesitler enzimin biotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine etkin bırakılmıştır. İşlem sonunda kesitler yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkanmıştır. Son olarak ortama DAB kromojen eklenerek yaklaşık 2-6 dakika bekletilip mikroskop altında gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandıktan sonra zemin boyası olarak Mayer'in hematoksileni kullanılmıştır. Kesitler yıkandıktan sonra, artan alkol serilerinden geçirilip ksilene alınmış, daha sonra kesitler entellan ile kapatılmıştır. Değerlendirmeler sonunda her primer antikör için immünohistokimyasal tutulum yoğunlukları incelenerek istatistiksel verileri oluşturulmuştur.

**Tablo 3.5: İmmünohistokimya Boyama Metodu**

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

### 3.3.3 Karaciğer Histopatolojik ve İmunohistokimyasal Skorlama Yöntemi

Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitlerde hepatositlerdeki dejenerasyon ve nekroz, damarlardaki hiperemi, sinüzoidlerdeki dilatasyon ve santral ven fibrozisi semikantitatif olarak değerlendirildi. Her karaciğer kesitinde 10 farklı alanda her bir hasar parametresi skorlanarak, grup içindeki ortalama yüzdelik değerler hesaplandı. Histopatolojik değişimler, karaciğer hücrelerinin %33'ünden azında gözlemlendiğinde 1 (hafif), %33-66 arasında olduğunda 2 (orta) ve %66'dan fazla olduğunda 3 (şiddetli) olarak derecelendirildi (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3) (Tablo 3.6).

**Tablo 3.6:** Karaciğer dokusunda histopatolojik skorlama tablosu

| SKORLAMA TABLOSU            |     |       |      |          |
|-----------------------------|-----|-------|------|----------|
|                             | YOK | HAFİF | ORTA | ŞİDDETLİ |
| Hepatositlerde dejenerasyon | 0   | 1     | 2    | 3        |
| Hepatositerde nekroz        | 0   | 1     | 2    | 3        |
| Damarlarda hiperemi         | 0   | 1     | 2    | 3        |
| Sinüzoidlerde dilatasyon    | 0   | 1     | 2    | 3        |
| Vena centraliste fibrozis   | 0   | 1     | 2    | 3        |

### 3.3.4 İnflamatuvar Sitokin Analizleri

Dokuların homojenizasyonu sonucu elde edilen protein örneklerinde antiinflamatuvar etkileri değerlendirmek için proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$ , IL-8 düzeylerine bakılmıştır. TNF- $\alpha$ , IL-8 düzeyleri ilgili kitlerin protokollerine uygun olarak ölçüldü. Örnekler ELISA okuyucu (Model: Elk808 Biotek Marka)'da değerlendirildi

### 3.4. İstatistiksel Değerlendirme

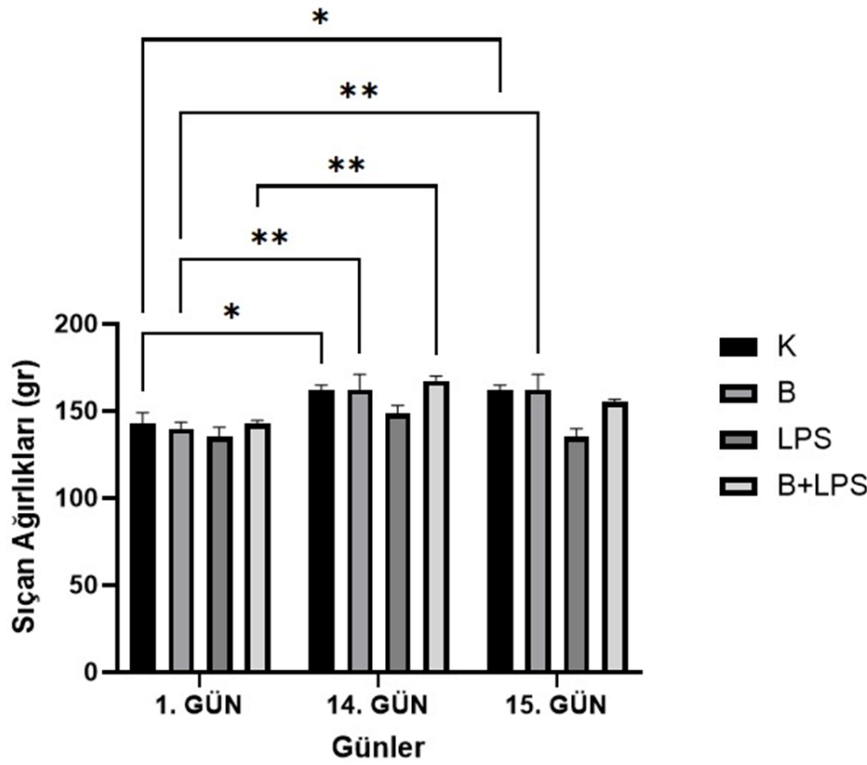
Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism Version 9 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. İki'den fazla grup arasında genel karşılaştırma yapmak için normal dağılım verilerde One-Way ANOVA testi uygulandı ve post-hoc analizde Bonferroni düzeltmesi kullanıldı.

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

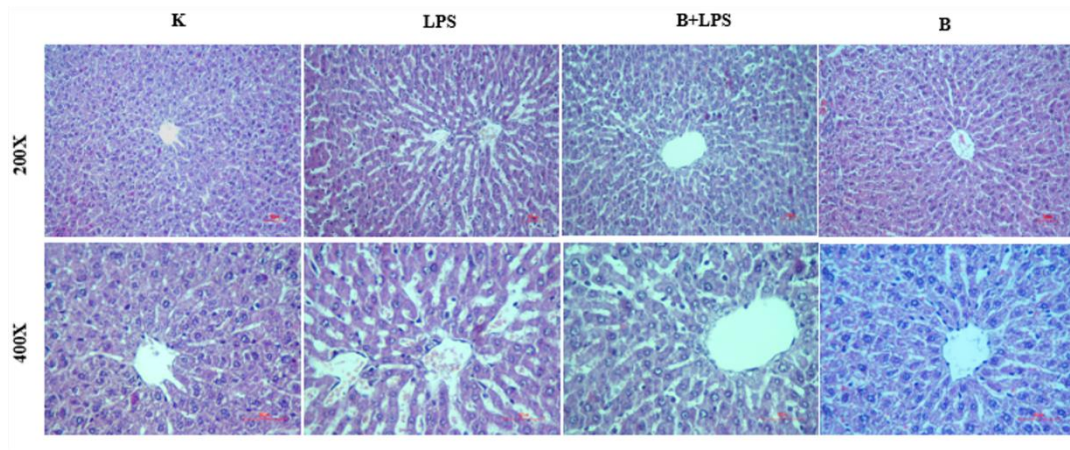
Çalışmada tüm deneklerin ağırlıkları 1. günde gruplar oluşturulduktan sonra ölçülmüştür. 14.gün B ve B+LPS gruplarına bor uygulaması yapılmış, LPS gruplarına LPS verilmeden önce tüm hayvanların ağırlıkları yeniden ölçülmüştür. 20 saat sonra; 15.günde deney sonlandırılmadan yeniden hayvan ağırlıkları ölçülüp deney sonlandırılmıştır. Deney gruplarının vücut ağırlığı ölçümlerinin istatistiksel karşılaştırmasında K grubu ( $p<0.05$ ) ve B grubu ( $p<0.01$ ) ağırlıklarında deney boyunca anlamlı bir artış olmuştur. B+LPS grubu ağırlıkları 14. günde anlamlı bir artış göstermiş ( $p<0.01$ ), 15. günde ise anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. LPS grubunda LPS enjeksiyonu sonrasında bir düşüş gözlenmiş fakat anlamlı bir düşüş olmamıştır.



**Şekil 4.1.** Deneyin birinci günü, 14 ve 15. günü tüm gruplara ait deneklerin vücut ağırlıklarının karşılaştırması. \*;  $p<0.05$ , \*\*;  $p<0.01$ . Tüm gruplar makroskopik olarak incelendiğinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı.

## 4.2. Histopatolojik Bulgular

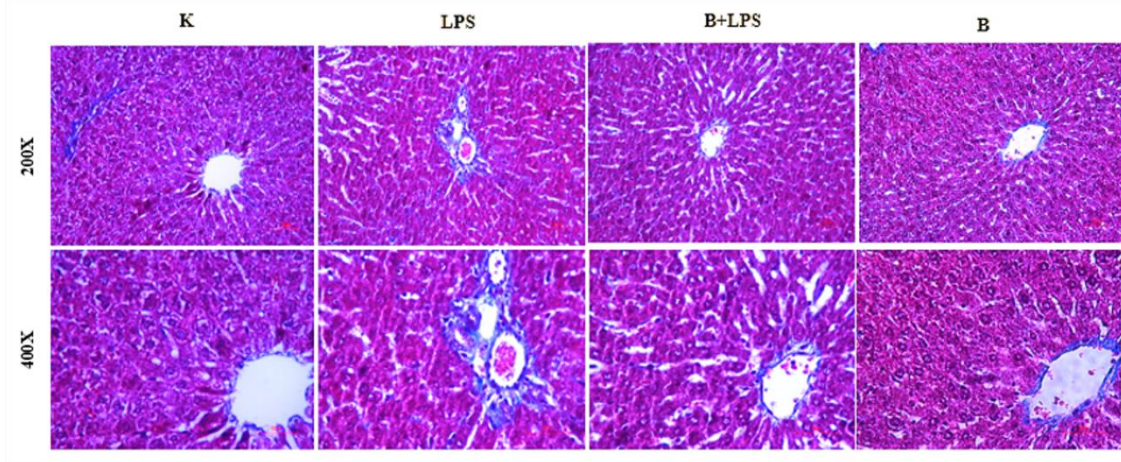
Kontrol grubu karaciğer kesitlerinde hepatositler belirgin nükleusları ile düzenli bir şekilde vena sentralis etrafında sıralanmış ve düzenli bir şekilde kordonları oluşturmuşlardır. Hücre kordonları arasındaki sinüzoidler normal bir görüntü sergilemektedir. Sadece bor verilen grupta hepatositler ve kordon oluşumları kontrol grubu ile benzerlik göstermekte, sinüzoidler bir miktar genişlemiştir. LPS uygulanan deney gruplarında karaciğer kesitleri kontrol grubu ile kıyaslandığında parankimada özellikle hepatositlerin vakuolizasyon göstermeleri, büyümüş ve yer yer nekrotik hepatositler, sinüzoidlerde düzensizlik ve dilatasyon, damarlarda dilatasyon ve hiperemi, vena centraliste bütünlüğün bozulduğu gözlenmiştir. Koruma amaçlı bor verilen ve LPS uygulanan grupta karaciğer kesitlerinde, periasiner bölgede çok az sayıda hepatositte hidropik dejenerasyon, sinüzoidlerde hafif dilatasyon ve hiperemi gözlenmiştir. Bu grupta patolojik değişikliklerin daha az olması dikkat çekiciydi (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** KC kesitleri H&E, x400 büyütme Bar: 50µm A: Kontrol grubu, karaciğer dokusu, Normal histolojik görünüm. B: LPS grubu, karaciğer dokusu, kordonlar ve sinüzoidal yapıda düzensizlikler ve vakuolizasyon, damarlarda hiperemi. C: B+LPS grubu, karaciğer dokusu, Hepatositlerde hafif düzeyde hidropik dejenerasyon. D: B grubu, karaciğer dokusu, normal histolojik görünümü.

Karaciğerde parankimal alanlar dışındaki bağ dokusu histopatolojik değişimleri için Masson Trikrom (MT) boyama metodu kullanılmıştır. MT boyama özellikle kollajen birikimi ve fibrozisi belirlemek için kullanılır. Kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde MT boyama özellikle vena centralis ve diğer damarların duvarında tek sıra ince kollajen liflerini mavi renkte belirgin hale getirmiştir. Bu grupta kollajen lifler normal bir dağılım göstermiştir. B grubu bağ dokusu kontrol grubuna benzer olarak vena centralis etrafında ince kollajen lifler

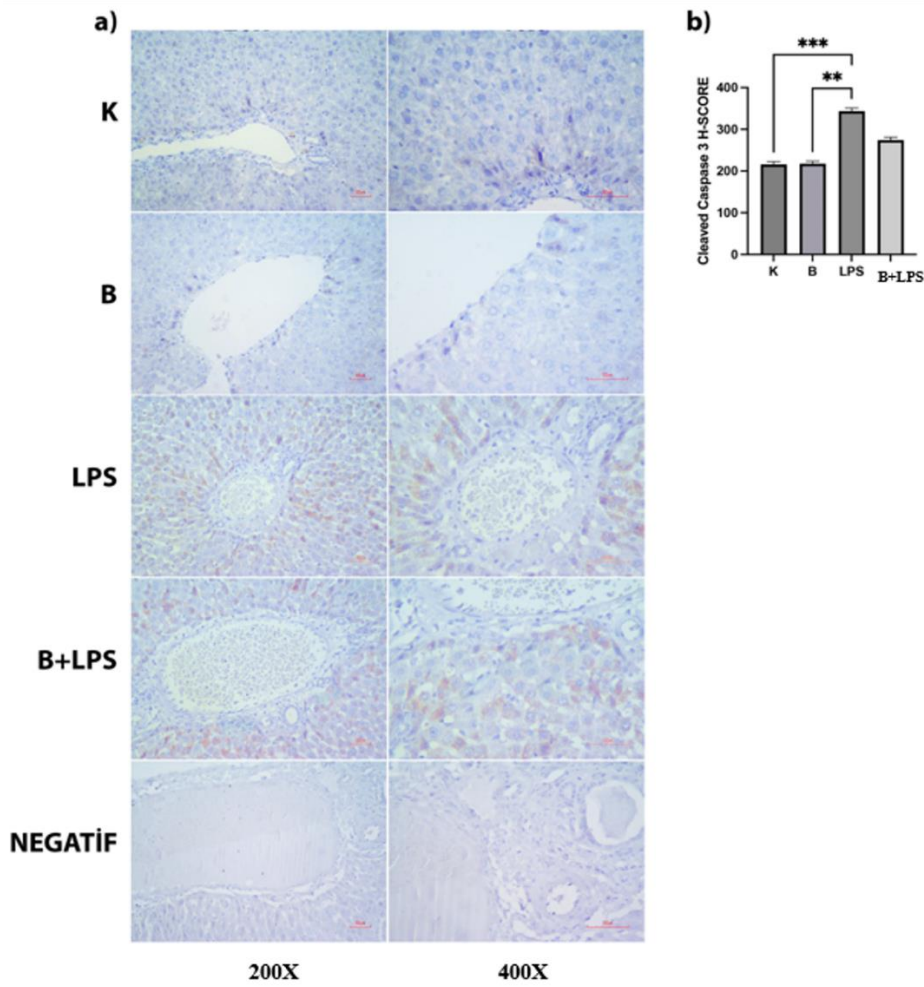
içermektedir. Sadece LPS uygulanan grupta bağ dokusu alanlarında özellikle kollajen artışına bağlı olarak stromal alanlar daha yoğun boyanmış özellikle portal alanlarda bu artış belirgin hale gelmiştir. B+LPS grubu LPS grubu ile kıyaslandığında borun koruyucu olabilecek etkisi bağ dokusunda kollajen artışını engellemiş görünmektedir. Kontrol grubuna benzer bir şekilde damar etrafında özellikle vena centraliste kollajen lifleri ince bir hat şeklinde gözlenmektedir (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** KC, kesitleri Masson Tricrom Boyama x400 büyütme Bar: 20µm A: Kontrol grubu, karaciğer dokusu, Normal histolojik görünüm. B: LPS grubu, karaciğer dokusu, portal alanda kollajen birikimi. C: B+LPS grubu, karaciğer dokusu, vena centraliste kontrole yakın kollajen varlığı. D: B grubu, karaciğer dokusu, kontrol grubuna benzer normal histolojik görünüm.

#### 4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

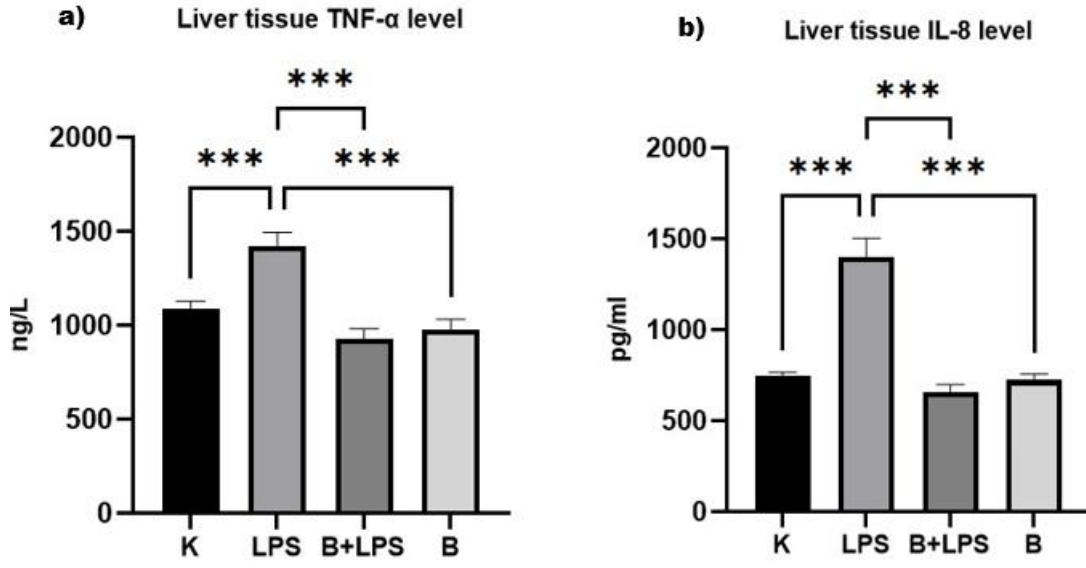
Deney gruplarında LPS'ye bağlı apoptotik sürece bağlı hücre ölümünü tespit etmek amacı ile hücre ölümü için önemli bir belirteç olan kaspaz-3 proteini primer antikoru kullanılarak immünohistokimyasal olarak değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirmede LPS verilen gruplarda apoptotik hücrelerde dikkate değer bir artış gözlenmiştir. Sadece LPS verilen grupta özellikle vena centralis etrafında yerleşim gösteren hücrelerde kaspaz-3 pozitif hücre sayısı artmıştır. B+LPS grubu karaciğer kesitlerinde apoptotik hücre sayısında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Hepatositlerde intrastoplazmik kaspaz-3 ekspresyonu azalmıştır. K grubu ve B grubunda kaspaz-3 ekspresyonu negatiftir (Şekil 4.4a). LPS grubu immünreaktivitesi K grubu ve B grubu ( $p<0.01$ ) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.4b).



**Şekil 4.4.** KC, kesitleri İmmünohistokimyasal bulgular. **a)** KC kesitleri, kaspaz 3 ekspresyonu, x400 büyütme, Bar: 20µm. K grubu, karaciğer dokusu, Cas 3 ekspresyonu negatif. LPS grubu, karaciğer dokusu, hepatositlerde şiddetli düzeyde intrastoplazmik Cas 3 ekspresyonu. B+LPS grubu, karaciğer dokusu, hepatositlerde intrastoplazmik Cas 3 ekspresyonu. B grubu, karaciğer dokusu, Cas 3 ekspresyonu negatif **b)** KC dokusu Cas-3 immunreaktivite yoğunluğu istatistiksel analizi. \*;  $p<0.05$ , \*\*;  $p<0.01$ , \*\*\*;  $p<0.001$ .

#### 4.4. Biyokimyasal Bulgular

Endotoksin ile indüklenen inflamasyon sonucu Tnf- $\alpha$  ve IL-8 sitokinleri LPS grubunda artış göstermiştir. K grubu ile diğer gruplar arasında kıyaslama yapıldığında; B grubunun K grubuna benzer bir sonuç verdiği, LPS grubu ile arasında anlamlı bir fark gösterdiği ( $p<0.001$ ); B+LPS grubunun ise LPS grubuna göre daha az ekspresyon gösterdiği ( $p<0.001$ ), dokuda inflamasyon bulgusunda daha az olduğu gözlenmiştir. (Şekil 4.5a/b)



**Şekil 4.5.** KC dokusu proinflamatuvar sitokin seviyeleri **a)** TNF- $\alpha$  seviyesi istatistiksel analizi. **b)** IL-8 seviyesi istatistiksel analizi \*;  $p<0.05$ , \*\*;  $p<0.01$ , \*\*\*;  $p<0.001$

**Tablo 4.1:** Karaciğer dokusunda histopatolojik değerlendirme tablosu (yok=0, hafif=1, orta=2, şiddetli=3).

|                             | K grubu | LPS grubu | B+LPS grubu | B grubu |
|-----------------------------|---------|-----------|-------------|---------|
| Hepatositlerde dejenerasyon | 0       | 3         | 1           | 0       |
| Hepatositerde nekroz        | 0       | 3         | 0           | 0       |
| Damarlarda hiperemi         | 0       | 2         | 2           | 0       |
| Sinuzoidlerde dilatasyon    | 0       | 3         | 1           | 1       |
| Vena centraliste fibrozis   | 0       | 2         | 1           | 1       |

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Sepsis, enfeksiyona yanıt olarak gelişen sistemik bir tepki ve Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) ile karakterize edilen bir durumdur. SIRS, yaygın inflamatuvar yanıtların fizyolojik özelliklerini tanımlamak için kullanılan spesifik olmayan bir terimdir. Vücudun zararlı bir stres faktörüne (enfeksiyon, travma, akut inflamasyon, cerrahi müdahale, kanser, iskemi veya reperfüzyon vb.) aşırı tepkisi olarak ortaya çıkar. Bu tepki, etkenin kaynağını sınırlamak ve ortadan kaldırmak amacı taşır. İnflamatuvar yanıtın temel amacı, patojenleri ortadan kaldırmak ve hasarlı dokuların onarımını sağlamaktır. Bu sürecin kontrol altına alınması ve hem patojenlerin hem de hasarlı dokunun etkili bir şekilde ortadan kaldırılması en istenilen sonuçtur. Ancak, inflamatuvar yanıt lokal hasarlı dokularla sınırlı kalmadığında, yaygın sistemik inflamasyon meydana gelir. Şiddetli sepsiste, sepsise ek olarak organ işlev bozuklukları (böbrek, akciğer, karaciğer, kalp, bağırsak gibi) gözlemlenebilir (64).

Gram-negatif bakterilerin dış zarında bulunan lipopolisakkaritler (LPS), Gram-pozitif bakterilerde bulunan lipoteikoik asit, maya hücre duvarlarında bulunan mannan ve Gram-pozitif bakterilerde daha kalın olan peptidoglikan, patojenle ilişkili moleküler yapılar (PAMP) olarak kabul edilmektedir. Bunlar arasında LPS özellikle önemlidir. Bu moleküller doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından tanımlanan bakteriyel ürünlerdir (65).

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilen lipopolisakkarit (LPS), deneysel hayvan modellerinde septik şok oluşturmak amacıyla kullanılan glikolipid yapıda bir maddedir. Genellikle liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilir ve deneysel septik şok çalışmalarında daha çok E. coli kaynaklı LPS molekülleri tercih edilir. Literatüre göre uygulama dozları 1 mg/kg ile 80-100 mg/kg arasında geniş bir aralıkta değişir. Sağkalım çalışmalarında dozlar genellikle yüksek tutulur.

Dozların belirlenmesinde önemli bir diğer faktör ise LPS'nin elde edildiği bakteri suşlarıdır (66). Çalışmamızda Escherichia coli O26:B6 serotipi bakteri suşuna ait LPS, belirlenen deney gruplarına 7,5 µg/kg dozda intraperitoneal uygulanarak sepsis modeli oluşturulmuştur.

Bor, özellikle bazı minerallerin (Ca, P), vitamin D'nin, belirli enzimlerin (aldehit dehidrojenaz, ksantin oksidaz, sitokrom b5 redüktaz), hormonların (insülin, östrojen, testosteron, tiroid hormonları), enerji substratlarının (trigliserid, glikoz) ve reaktif oksijen türlerinin metabolizmalarını etkileyen bir elementtir. Borun bu etkileri, tam olarak

açıklanamayan biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarla ilişkilidir. İki hipotez öne sürülmektedir: Borun hücre zarı ve transmembran sinyal iletimini etkileyebileceği ve çeşitli enzimatik sistemleri düzenleyici rolü olabileceği. Ayrıca bor bileşikleri, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz seviyeleri üzerinden antioksidan sistemlere de etki etmektedir (67).

Bu çalışmada etkinliklerine dair çok sayıda araştırmaya konu olan borik asit'in sıçanlarda LPS ile oluşturulan deneysel sepsis modeli üzerinde karaciğer olası etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır. Mevcut çalışmanın sonuçları, LPS öncesi borik asit uygulanmasının LPS'nin oluşturduğu karaciğer dokusu hasarında önemli bir koruyucu etki sağladığını göstermiştir.

Model oluşturulmadan önce tüm deneklerin ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir. Yine 1. günden itibaren B ve B+LPS gruplarına 14 gün boyunca günlük 20 mg/kg BA uygulaması yapılmıştır. 14. günde tüm deneklerin yeniden ağırlıkları ölçülmüş, daha sonra LPS uygulaması yapılmıştır. LPS uygulamasından 20 saat sonra 15. günde son bir ağırlık ölçümü yapılarak deney sonlandırılmıştır. Deney boyunca K grubu ve B grubu ağırlıklarında anlamlı bir artış gözlenmiştir. B+LPS grubu 14. güne kadar anlamlı artış göstermiş, LPS enjeksiyonundan sonra ağırlıklarında anlamlı bir değişiklik olmamıştır. LPS grubunda, LPS enjeksiyonu sonrası ağırlıklarda bir düşüş olmuş, fakat anlamlı bir düşüş olmamıştır.

LPS enjeksiyonu sonrası 20 saatlik bir sürecin ağırlık ölçümü sonuçlarına etkili bir yansıması olmadığı düşünülebilir. Kalkan ve ark. yaptığı melatoninin endotoksemi hasarına koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada LPS uygulamasından 24 saat sonra baktıkları ağırlık ölçümlerinde LPS ve MEL+LPS gruplarında anlamlı değişiklikler gözlenmiştir (68).

Çalışmada deney gruplarına ait sıçanlardan sadece LPS verilen grupta hepatositlerde vakuolizasyon, büyüme, yer yer nekroz, sinüzoidlerde dilatasyon ve düzensizlik, damarlarda dilatasyon ve hiperemi, vena centraliste ise bütünlüğün yer yer bozulduğu görülmüştür.

Daha önce yapılan pek çok çalışmada, LPS uygulamasının karaciğer histolojisinde patolojik değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. LPS, hepatoselüler nekroz, sinüzoidlerde ve portal vende nötrofil birikimi ve intraparakimal kanamayı artırarak akut karaciğer hasarına neden olmaktadır (69). Sushma ve çalışma arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir araştırmada, dişi Wistar sıçanlar üzerinde yapılan deneyde, bir gruba intraperitoneal (i.p.) yolla LPS (10 mg/kg) uygulanmış, diğer gruba ise 15 gün boyunca oral olarak  $\alpha$ - tokoferol (35 mg/kg) içeren gıdalar verilmiş ve 16. gün LPS uygulanmıştır. Histolojik incelemede, kontrol grubu

ve sadece tokoferol verilen grupta herhangi bir morfolojik değişiklik gözlenmezken, LPS uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda portal triad inflamasyonu, Kupffer hücre hiperplazisi, nekroz ve lenfositik infiltrasyon gibi bozukluklar tespit edilmiştir. Araştırmacılar, tokoferolün (vitamin E) bu hasarlara karşı önemli bir koruyucu etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (70).

BA'ın koruyucu amaçla uygulandığı B+LPS grubu karaciğer kesitlerinde daha az sayıda nekrotik hepatosit, sinüzoidlerde hafif dilatasyon ve hiperemi şeklinde daha az patolojik değişiklik gözlenmiştir. BA bir lewis asittir. Bu özelliği sayesinde peptidazlar, aldehit dehidrojenaz, proteazlar, ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz ve sitokrom b redüktaz gibi enzimler üzerinde inhibitör etkisi vardır. BA; kalsiyum, magnezyum ve potasyum gibi iyonların, D vitamini, insülin, östrojen, testosteron ve glukoz metabolizmasının seviyelerini etkiler. Glikolipitler ve glikoproteinler gibi hidroksil grubu içeren moleküllerle kompleks oluşturarak membran bütünlüğünü değiştirir.(71) BA, kanser ve inflamatuvar hastalık tedavilerinde antioksidan ve anti-inflamatuvar ajan olarak, yara iyileşmesinde, oksidatif stresi önlemede, ağır metallerin toksik etkilerini azaltmada ve mitokondriyal membran potansiyelini düzenlemede kullanılır.(72) Doğal bir mineral olan BA'ın birçok çalışmada antioksidan ve hepatoprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir.(73) BA'nın vücuttaki glutatyon miktarını artırdığı, diğer reaktif oksijen türlerini inhibe ettiği ve oksidatif hasarı önlediği de öne sürülmüştür (74).

Apoptoz ile ilgili morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler günümüzde büyük ölçüde kaspazların aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir (75). Kaspazlar, hücre içinde proteaz aktivitesi olmayan inaktif zimojenler olarak sentezlenir ve yalnızca spesifik ölüm uyarımları alındığında aktif hale gelir (76). "Kaspaz" terimi, "c" harfiyle sistein proteazını, "aspaz" ise enzimin aspartik asit kalıntılarından sonra parçalama yeteneğini ifade eder (77). Aktif kaspazlar, hücresel proteinleri parçalar, hücre iskeletini yok eder ve DNA'ı aktive ederek apoptozu başlatır (78).

Kaspazlar, apoptoz mekanizmasının merkezinde yer alır ve hem başlatıcı hem de yürütücü roller üstlenirler. Bu enzimler, görevlerine göre iki gruba ayrılmıştır: başlatıcı kaspazlar (Kaspaz-2, Kaspaz-8, Kaspaz-9 ve Kaspaz-10) ve yürütücü kaspazlar (Kaspaz-3, Kaspaz-6 ve Kaspaz-7) (79). Başlatıcı kaspazlar, apoptozun başlangıç sinyallerine yanıt olarak ilk aktive olan kaspazlardır ve yürütücü kaspazları aktive ederler. Hücrelerde kaspaz aktivitesinin uygun şekilde modüle edilememesi, karsinogenez, otoimmünite,

nörodejenerasyon ve immün yetmezlik gibi anormal veya zamansız apoptotik hücre ölümüne yol açabilir (80).

Hepatik iskemi reperfüzyon hasarı üzerine Elabela'nın koruyucu etkilerini araştıran bir çalışmada erken dönemde karaciğer dokusunda kaspaz-3 düzeylerinde gruplar arasında fark saptanmazken, geç dönemde ELA grubunda daha belirgin olmak üzere hem ELA hem NAC grubunda, HI-R grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Geç dönemde IL-6 ve kaspaz-3 doku düzeylerinin beraberce yüksek seyretmesi, apoptozisin aktive olmasıyla iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası oluşan hasarlı hepatositlerin elimine edildiği, IL-6'nın proliferasyon uyarısı sayesinde karaciğer rejenerasyonun uyarılarak histolojik hasarın azaltılmasında birlikte görev yaptıklarını ortaya koymuşlardır (81).

Caspase-3, DNA fragmentasyonu veya sitoskeletal proteinlerin parçalanması veya hücre sel yapıların yıkılması gibi hücre sel yapıların imhasını koordine etme rolünden dolayı apoptozda uygulayıcı kaspaz olarak bilinir. Diğer adıyla cellat kaspaz olarak bilinen Caspase-3 apoptozisin son yolağıdır. Bu basamaktan genellikle geri dönüşü mümkün olmadığı için cellat kaspaz olarak adlandırılmıştır (82). Bu nedenle yapılan çalışmada hücrelerde apoptozisi belirlemek için Caspase-3 tercih edilmiştir.

İmmunohistokimyasal boyamada LPS grubunda karaciğer dokularında hepatositlerde, özellikle vena centralis etrafında şiddetli düzeyde Caspase-3 ekspresyonları gözlenirken B+LPS grubunda hepatositlerde Caspase-3 ekspresyonunun daha az olduğu gözlenmiştir. BA uygulaması yapıp LPS uygulanan grupta apoptotik bir protein olan Caspase-3 ekspresyonunun baskılanması BA'in hepatosit disfonksiyonuna karşı koruyucu etkisini kanıtlamaktadır.

Sepsis ile organizmanın verdiği anormal cevap, yaygın inflamasyon, organ işlev bozukluğu ve organ yetersizlikleri ile sonuçlanır. Bu süreçten hücre hipoksisi ve apoptozu sorumludur (83). En büyük organ hasarı akciğerler, karaciğer, böbrekler, kalp ve gastrointestinal sistemde meydana gelir (84). İnflamasyon, bağışıklık sistemi hücrelerinin patojenler, hasarlı hücreler ve eksojen toksik bileşikler gibi tetikleyici faktörlere verdiği biyolojik yanıt olarak tanımlanır. Bu faktörler kalp, pankreas, karaciğer, böbrekler, akciğer, beyin ve bağırsak gibi organlarda akut veya kronik inflamatuvar yanıtı başlatabilir, bu da doku hasarına veya hastalık gelişimine yol açar. Enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan faktörler ve hücre hasarı, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna neden olur (85).

LPS, akut karaciğer hasarında dokuda TNF- $\alpha$  ifadesini artırır. LPS'nin TNF- $\alpha$  ile etkileşimi, hepatosit ve Kuffer hücrelerinden proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen radikallerin salgılanmasını tetikler. Bu çalışmada LPS ile oluşturulan akut karaciğer hasarında proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$ 'nın lokal olarak (karaciğer dokusunda) artışı inflamasyon belirteci olarak karakteristiktir. Yapılan önceki çalışmalarda karaciğer dokusu proinflamatuvar sitokinleri TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerine bakıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir (86). Koruyucu amaçlı günlük 20mg/kg dozda BA verilip LPS uygulanan grupta TNF- $\alpha$  sitokin düzeylerinin LPS grubu ile kıyaslandığında düşük olması, BA'nin anti-inflamatuvar ajan olarak etkinliğini göstermiştir. B ve K gruplarında TNF- $\alpha$  düzeyleri birbirine yakındı.

İnterlökin 8 (IL-8 veya CXCL8), makrofajlar ve mikroglia gibi hücreler tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. CXCR1 ve CXCR2 adlı iki G proteinine bağlı reseptör üzerinden hücre içi sinyal yollarını aktive eder. IL-8, nötrofil adezyonu, kemotaksis ve lizozomal deşarj gibi proinflamatuvar etkiler gösterir. Klinik olarak, çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda önemli bir rol oynar. IL-8, diğer inflamatuvar sitokinlerden farklı olarak, inflamatuvar yanıtın erken döneminde üretilir ve varlığı uzun süre devam edebilir (87). Sepsis modelinde levosimendan'ın proinflamatuvar sitokinler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada sepsis grubunda 6 adet proinflamatuvar sitokin (IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1, TNF- $\alpha$ )'in ortalamalarının, hem 5.saat hem de 10.saatte, kontrol grubundaki ratlardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (88). Bu çalışmada LPS grubu IL-8 seviyeleri proinflamatuvar inflamasyon belirteci olarak yüksek çıkmıştır. Koruyucu amaçlı 14 gün boyunca BA verilip LPS uygulanan grupta IL-8 düzeyleri yine LPS grubu ile anlamlı seviyede düşük çıkmıştır. Kontrol grupları; B ve K grubu IL-8 seviyeleri birbirine yakın gözlenmiştir.

Sonuç olarak;

En yaygın bor bileşiklerinden biri olan borik asit, antioksidan, anti-apoptotik ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptir ve tıbbi ürünlerde bir katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Tek başına borik asidin organlar üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada LPS ile sepsis modeli oluşturulmuş ratlara öncesinde uygulanan borik asidin karaciğer dokusuna olası koruyucu, anti-apoptotik ve anti-inflamatuar etkisi incelenmiştir.

Çalışmada kullandığımız LPS organizmada sepsis (endotoksemi) oluşturmuş ve karaciğer dokusunda hasara sebep olmuştur. Histolojik olarak incelendiğinde sadece LPS uygulanan grupta karaciğer dokusunda önemli ölçüde bağ dokusu değişimi ve hepatositlerde normal yapının bozulduğu gösterilmiştir. Koruyucu borik asit uygulaması yapılan gruba verilen LPS sonrasında incelenen karaciğer dokularında histopatolojik yapının daha az hasarlandığı, daha az ödem ve hepatositlerde daha az dejenerasyon görüntülenmiştir.

LPS grubunda görülen apoptozun son yolağı olan caspas-3 proteini ekspresyonundaki artış, borik asidin koruyucu olarak verildiği B+ LPS grubunda düşüş göstermiş fakat anlamlılık göstermemiştir. Bu sonuç anti-apoptotik özelliği kanıtlanmış borik asidin uygulanan dozu ve süresi ile ilgili yeni çalışmalara bir projeksiyon sağlamıştır.

Çalışmada sepsis sonrası proinflamatuar mediatörlerin karaciğer dokusundaki miktarları artmış, koruyucu amaçlı borik asit verilip LPS uygulanan grupta ise TNF- $\alpha$  ve IL-8 sitokinleri anlamlı düzeyde düşük kalmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, borik asitin sepsis patolojisi üzerine olan etkilerinin anlaşılmasına, yeni tedavi ajanlarının belirlenmesine ve güncel tedavi yaklaşımlarını geliştirmek için bir ön veri sunmuştur. Çalışma verileri ve elde edilen sonuçlardan yola çıkarak, yeni daha moleküler düzeydeki çalışmalar için temel oluşturulmuştur. Bu proje ile elde edilen bilgiler yayına dönüştürülerek literatürde yer alan sınırlı sayıdaki bilgi ve yayına katkı sağlanacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315 (8): 801–10.  
Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. et al: 2016. 2017; 45 (3): 486552. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sepsis?>
2. Jawetz, E.Melnck,LJ.Review. Medical Microbillogy. 12 th ed. Los Altos,Calif. Lang; 1976.
3. Senece H, Grant P.J. Gluncocorticoid Therapy in Sepsis Shock Caused by Gram Negative Microorganism. Joynal of American Geriatrics Society. 1975; Vol. XXIII. No. II, 493.
4. Bor. 2019. <http://www.etimaden.gov.tr>
5. Sokmen N,Büyükakinci B.Y. The Use Of Boron / Boron Compounds In The Text Industry And Their Use In Turkey, Cbu International Innovation Conference Science And Education; 2018 March 21-23; Prague, Czech Republic
6. Aydın S, *İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi*. 5. Baskı. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi; 2000:252.
7. Pawlina W. Ross MH Histology. 5nd ed. Minesota:Lippincott Williams & Wilkins; 2006:100.
8. Şentürk M. Karabıyık TN. Hepatektomi ve Karaciğer Rejenerasyonu,1.Baskı. Rating Academy Ar-Ge Yazılım Yayıncılık Eğitim Danışmanlık ve Organizasyon; 2019:30.
9. Genel ŞA, Özel İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı.Ankara: Ankara Tıp ve Teknik Yayıncılık Ltd. Şti; 1998:57.
10. Sadler TW, Langman's Medikal Embriyoloji. 9.Baskı. Başaklar AC (çeviri editörü); 2005; 9:235-64.
11. Sweeney LJ. Basic Concepts İn Embryology.1st ed. McGraw: Hill Professional;1998.

12. Arıncı K, Elhan A, Anatomi. 1. Cilt. 4. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi;2006.
13. Ozan H, Ozan Anatomi. 3. Baskı. Ankara: Klinisyen tıp kitabevleri; 2014.
14. Floch M. H, Netter Gastroenteroloji. (Cengiz Pata, Güldal İzbirak, Çev. Ed.), (662-684). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;2011
15. Skandalakis J. E, Skandalakis P. N, Skandalakis L. J, Cerrahi Anatomi ve Teknik. (Yeşim Erbil, Rıdvan Seven, Ünal Değerli, Çev. Ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;2010.
16. Junqueira LCU, Temel histoloji: text & atlas, 14.Baskı. Ankara:Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:70.
17. Moore KL, Dalley A.F. Kliniğe Yönelik Anatomi,Ankara 4.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2007:54.
18. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi: Baş-Boyun Ve İç Organlar, 1.baskı. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı; 2002:150.
19. Aktümsek A, Anatomi ve Fizyoloji (İnsan Biyolojisi), 1. Baskı, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001:444-490.
20. Oysun G. Lipopolisakkarit. Dergipark Akademik. 1991;16(4):255-257.
21. Oysun G. Lipopolisakkarit. Dergipark Akademik. 1991;16(4):255-257.
22. Sokmen N, Büyükakinci B. Y. The Use Of Boron / Boron Compounds In The Text Industry And Their Use In Turkey. Cbu International Innovation Conference Science And Education; 2018 March 21-23; Prague, Czech Republic
23. Baker A, Dutton S, Kelly D. Composite Materials For Aircraft Structures, Properties Of Composite Systems: American Institute Of Aeronautics And Astronautics, Inc. 1801 Alexander Bell Drive. Reston; 2019:1-4344
24. Gelgeç E, Yildirim F. F, Tümru Ş, Çerekcioğlu M. Developing Flame Retardant Properties Of Cotton Factories With Boron Compounds, Mcbü Soma Profession School Of Technical Science Journal Of The Year; 2018 Issue: 26 Volume: II, Jain A, Anthonysamy S, Ananthasivan K, Gupta, G. S. Studies on the ignition behaviour of boron powder. Thermochimica Acta;2010;500(1-2): 63-68.
25. Akşit H, Bildik A. Apoptozis. Dergipark Akademik. 2008;19(1):55-63.
26. Diamantis A, Magiorkinis E, Sakorafas G. H. ve Androutsos G. A brief history of apoptosis, from ancient to modern times. Onkologie. 2008; 31(12):702-706.
27. Fulda S, Gorman A. M, Hori O, Samali A. Cellular stress responses, cell survival and cell death. Int J Cell Biol, 2010. 214074.

28. Dasgupta A, Goldar S, Khaniani M. S, Derakhshan S. M, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015; 16(6): 2129- 2144.  
Dasgupta A, Nomura M, Shuck R, Yustein J. Cancer's Achilles' Heel, Apoptosis and Necroptosis to the Rescue. *Int J Mol Sci.* 2016; 18(1).
29. Nikolettou V, Markaki M, Palikaras K, Tavernarakis N. "Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy". *Biochim Biophys Acta.*2013; 1833(12): 3448-3459.
30. Su Z, Yang Z, Xu Y, Chen Y, Yu Q. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol Cancer.* 2019; 14, 48.  
Jan R, Chaudhry G. E. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Adv Pharm Bull.* 2019; 9(2): 205-218.
31. Elmore S. Apoptosis, a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4): 495- 516.
32. Sharma H. P, Jain P, Amit P. Apoptosis (Programed Cell Death) - A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 2014;3(4): 1854-1872.
33. Zhang X, Lu H, Wang Y, Liu C, Zhu W, Zheng S. Taurine induces the apoptosis of breast cancer cells by regulating apoptosis-related proteins of mitochondria. *Int J Mol Med.* 2015;35(1): 218-226.
34. Moulin M, Arrigo A. P. Caspases activation in hyperthermia-induced stimulation of TRAIL apoptosis. *Cell Stress Chaperones.* 2008; 13(3): 313-326.  
Parrish A. B. Freel C. D. Kornbluth S. Cellular mechanisms controlling caspase activation and function. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(6).
35. Larsen B. D, Sørensen C. S. The caspase-activated DNase, apoptosis and beyond. *Febs j.* 2017; 284(8): 1160-1170.
36. McIlwain D. R, Berger T, Mak T. W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol,* 2013; 5(4),  
Kâhya M. C, Nazıroğlu M, Çiğ B. Selenium reduces mobile phone (900 MHz)-induced oxidative stress, mitochondrial function, and apoptosis in breast cancer cells. *Biol Trace Elem Res.* 2014; 160(2): 285-293.
37. Adrain C, Martin S. J. The mitochondrial apoptosome, a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci.* 2001; 26(6), 390-397.
38. Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene.* 2008;27(48): 6194-6206

39. Matsuura K, Canfield K, Feng W. Kurokawa M. Metabolic Regulation of Apoptosis in Cancer. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2016; 327: 43-87.
40. Locksley R. M, Killeen N, Lenardo M. J. The TNF And TNF Receptor Superfamilies, Integrating Mammalian Biology. *Cell*. 2001;104(4): 487-501.
41. Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, Wesselborg S, Peter M. E. Apoptosis Signaling By Death Receptors. *Eur J Biochem*. 1998;254(3): 439-459.
- Su Z, Yang Z, Xu Y, Chen Y, Yu Q. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol Cancer*, 2015;14, 48.
42. Wajant H. The Fas signaling pathway, more than a paradigm. *Science*. 2015;296(5573): 1635-1636.
43. Graf R. P, Keller N, Barbero S, Stupack D. Caspase-8 as a regulator of tumor cell motility. *Curr Mol Med*, 2014;14(2): 246-254.
44. Scaffidi C, Schmitz I, Krammer P. H, Peter M. E. The role of c-FLIP in modulation of CD95-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 199;274(3):1541-1548.
45. Creative Biolabs. 2021
46. Brenner D, Mak T. W. Mitochondrial cell death effectors. *Curr Opin Cell Biol*, 2009;21(6); 871-877.
47. Wong, R. S. Apoptosis in cancer, from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res* 2011;30(1): 87.
48. Danial N. N, Korsmeyer S. J. "Cell death, critical control points." *Cell*, 2004;116(2):205- 219.
49. Wong R, Reed, J. C. Bcl-2 family proteins, regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies. *Semin Hematol*, 1997;34(4 Suppl 5): 9-19.
- Wong R. S. Apoptosis in cancer, from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30(1): 87.
50. Adams J. M, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis, mechanism and therapeutic potential. *Curr Opin Immunol*. 2007;19(5): 488-496.
- Shamas-Din A, Kale J, Leber B, Andrews D. W. Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013;5(4): a008714.
51. Pfeffer C. M, Singh A. T. K. Apoptosis, A Target for Anticancer Therapy." *Int J Mol Sci*, 2018;19(2).

- Samali A, Fulda S, Gorman A, M. Hori O, Srinivasula S. M. Cell stress and cell death. *Int J Cell Biol*, 2010; 245803.
52. İnflamasyon.2020[10 Nisan 2024]. <https://www.fizyoplatforum.com/konu-inflamasyon-fizyolojisi.html>
53. Bağışıklık,İnflamasyon,Ağrı[İnternet].2022[10NİSAN2024].  
[https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/107347/mod\\_resource/content/0/1.%20BA%C4%9EI%C5%9EIKLIK%20%C4%B0NFLAMASYON%20A%C4%9ERI.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/107347/mod_resource/content/0/1.%20BA%C4%9EI%C5%9EIKLIK%20%C4%B0NFLAMASYON%20A%C4%9ERI.pdf)
54. Bloom W, Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. 12th Ed., Chapman and Hall, Newyork:London; 1994.
55. Sağlam M, Aştı RN, Özer A. *Genel Histoloji*. Ankara:Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd:Ankara;2001;212-216.
56. Hein R Organization of mucosal lymphoid tissue. *Curr Top Microbiol.Immunol*. 2000;(1): 1-14.
57. Stites DP, Terr Al. *Basic and Clinical İmmunology*. 7th Ed. Appleton&Lange: Connecticut; 1991.
58. Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS. *İmmunoloji*. 1 baskı.Ankara:Medisan Yayınevi;1994.
59. Diker KS. *İmmunoloji*. 1.baskı.Ankara: Medisan Yayınevi;1998
60. Noakes P.S, Michaelis L.J. Innate and adaptive immunity. In: *Diet, Immunity, Inflammation*, Editors: Philip C. Calder, Parveen Yacoob, Chapter 1, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Kasım 2020;Ankara; 232, pp 3-33.
61. Özel Tekin İ, Marotta F. Polyphenols and immune system .In: *Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease*.2 nd. USA:Elsevier;2018
62. Peng X, Li X, Xie B, Lai Y, Sosnik A, Boucetta H, Chen Z, He W. Gout therapeutics and drug delivery. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*. 2023; 362, 728–754.
63. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol*. 2018; 281:197-232.
64. Pardon, B. ve Deprez, P. Rational antimicrobial therapy for sepsis in cattle in face of the new legislation on critically important antimicrobials. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*;2018;87(1), 37-46.

- Chakraborty R. K, Burns B. Systemic inflammatory response syndrome. In: StatPearls. StatPearls Publishing LLC.;2019
65. Arslantas MK, Cinel Ğ, Günerli A. Sepsis ve Ekstrakorporeal Membran Oksijenizasyonu/Sepsis and Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO). Türk Yogun Bakim Dergisi. 2013; 11(3): 86.
  66. İskit AB. Sepsiste deneysel modeller. Yoğun Bakım Dergisi. 2005 ;5(2) :133-6.
  67. İnce S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2010; 24(3):161-4.
  68. Kalkan KT, Esrefoglu M, Terzioğlu-Usak S, Yay A. Protective effect of melatonin on blood-brain barrier damage caused by Endotoxemia. Neurol Res. 2024 Feb;46(2):195-206. doi: 10.1080/01616412.2023.2265244.
  69. Liu Z, Wang M, Wang X, Bu Q, Wang Q, Su W, Li L, Zhou H, Lu L. XBP1 deficiency promotes hepatocyte pyroptosis by impairing mitophagy to activate mtDNA-cGAS-STING signaling in macrophages during acute liver injury. Redox Biol. 2022 Jun; 52:102305. doi: 10.1016/j.redox.2022.102305
  - Chen SN, Tan Y, Xiao XC, Li Q, Wu Q, Peng YY, Ren J, Dong ML. Deletion of TLR4 attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis. Acta Pharmacol Sin. 2021 Oct;42(10):1610-1619. doi: 10.1038/s41401-020-00597-x
  - Han YH, Onufer EJ, Huang LH, Sprung RW, Davidson WS, Czepielewski RS, Wohltmann M, Sorci-Thomas MG, Warner BW, Randolph GJ. Enterically derived high-density lipoprotein restrains liver injury through the portal vein. Science. 2021 Jul 23;373(6553):eabe6729. doi: 10.1126/science.abe6729. PMID: 34437091; PMCID: PMC8478306
  70. Sushma Bharrhan, Kanwaljit, Chopra, Praveen Rishil. Vitamin E Supplementation Modulates Endotoxin-induced Liver Damage in a Rat Model. Am. J. Biomed. Sci. 2010; 2: 51-62
  71. Nielsen, F.H.. Boron deprivation decreases liver S-adenosylmethionine and spermidine and increases plasma homocysteine and cysteine in rats. J Trace Elem Med Biol.2009 doi: S0946-672X(09)00029-7
  72. Henderson, K., Stella, S.L., Kobylewski, S, Eckhert C.D. Receptor activated Ca (2+) release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells. PLoS One. 2009 doi:10.1371/journal.pone.0006009.

- Sogut, I., Oglakci, A., Kartkaya, K., Ol, K.K., Sogut, M.S., Kanbak, G., Inal, M.E. Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome. *Exp Ther Med*. 2015. doi:10.3892/etm.2014.2164 etm-09-03-1023
73. Sogut I, Paltun SO, Tuncdemir M, Ersoz M, Hurdag C. The antioxidant and antiapoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2018. doi: 10.1139/cjpp-2017-0487.
- Güneş E, Büyükgüzel E. Oxidative effects of boric acid on different developmental stages of *Drosophila melanogaster* Meigen, *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 2017, 41(1):3-15.
74. Cengiz M. Boric acid protects against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2018 30;64(12):11-14.
75. Zhang, X., Lu, H., Wang, Y., Liu, C., Zhu, W., Zheng, S. Taurine induces the apoptosis of breast cancer cells by regulating apoptosis-related proteins of mitochondria." *Int J Mol Med*. 2015: 35(1), 218-226.
76. Moulin, M, Arrigo, A. P. Caspases activation in hyperthermia-induced stimulation of TRAIL apoptosis. *Cell Stress Chaperones*. 2008: 13(3), 313-326.
77. Wong, R. S. Apoptosis in cancer, from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011: 30(1), 87.
78. Larsen, B. D, Sørensen, C. S. The caspase-activated DNase, apoptosis and beyond. 2017: *Febs j*, 284(8), 1160-1170.
79. McIlwain, D. R, Berger, T, Mak, T. W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013: 5(4), a008656.
80. Li, J, Yuan, J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*. 2008: 27(48), 6194-6206.
81. Özocak AB, Atıcı AE. Elabela'nın Hepatik İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerindeki Olası Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi, Genel Cerrahi AD. 2023. İstanbul.)
82. McIlwain D. R, Berger, T, Mak, T. W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; (4), a008656.
83. Altinöz HC, Gökbudak R, Bayraktar A, Belli S. A pilot study of measurement of the frequency of sounds emitted by high-speed dental air turbines. *Journal of oral science*. 2001; 43(3): 189-92.

84. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. The New England journal of medicine, 1999; 340(3): 207-14.
85. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget. 2017; 14;9(6):7204-7218.
86. Liu Y, Li F, Zhang L, Wu J, Wang Y, Yu H. Taurine alleviates lipopolysaccharide- induced liver injury by anti- inflammation and antioxidants in rats. Mol Med Rep. 2017 ;16(5):6512-6517  
Dong J, Li W, Cheng L, Wang G. Lycopene attenuates LPS-induced liver injury by inactivation of NF- $\kappa$ B/COX-2 signaling. Int J Clin Exp Pathol. 2019;12(3):817-825.
87. Nordsieck K, Baumann L, Hintze V. The effect of interleukin-8 truncations on its interactions with glycosaminoglycans. Biopolymers 2018;109:e23103.
88. Dedeler Ertanır E. Deneysel Sepsis Modelinde Levosimendan'ın Proinflamatuvar Sitokinler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması.[ Tıpta Uzmanlık Tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2023.

## EKLER

### EK.1 ETİK KURUL İZNİ



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



Sayı : 68429034/  
Konu: Onay belgesi

12.01.2023

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi Halime Tozak Yıldız

Sorumlu yürütücü olarak planladığınız "Sepsis Modeli Oluşturulan ,Sıçanlarda Karaciğer Hasarı Üzerine Borik Asidin Koruyucu Etkisi" başlıklı araştırmanıza ait Etik Kurulu kararı ekte olup;  
Gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU  
Etik Kurulu Başkanı

Ek: 1 Adet Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

12/ OI /2023 Veteriner Hekim D.ERG ---C---

Adres: Ahi Evran Üniversitesi Rektörlük Merkezi Yerleşkesi, 40200 KIRŞEHİR  
Telefon: 0386 280 4800

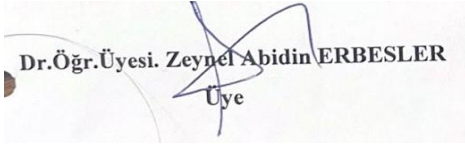
## EK.2 ETİK KURUL İZNİ

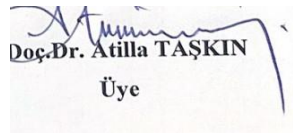
|                                                                                                                                                                                                                           |                 |                |              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------|--------------|
| <div><div><div>10Ub</div></div><div>T.C.<br/>KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ<br/>HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARLARI</div></div> |                 |                |              |
| Toplantı Tarihi                                                                                                                                                                                                           | Toplantı Sayısı | Toplantı Saati | Karar Sayısı |
| 11/01/2023                                                                                                                                                                                                                | 1               | 14:00          | 3            |

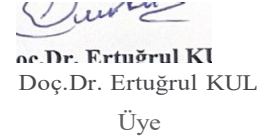
Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU başkanlığında yapılan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu toplantısında aşağıdaki karar alınmıştır.

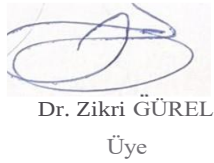
**KARAR 'O - 3:** Araştırma yürütücüsü Dr. Öğr. Üyesi Halime Tozak Yıldız Liderliğinde 32 Adet sıçan (Rat) üzerinde yapılması planlanan "Sepsis Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Karaciğer Hasarı üzerine Borik Asidin Koruyucu Etkisi" adlı araştırmanın etik açıdan yapılabilirliğine ve konunun ilgiliye tebliğine oybirliği ile karar verildi.

P,or. <sup>ol,</sup> **yet.** DAĞLIOĞLU  
(Başkan)

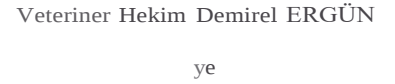
  
Dr.Öğr.Üyesi. Zeynel Abidin ERBESLER  
Üye

  
Doç.Dr. Atilla TAŞKIN  
Üye

  
Doç.Dr. Ertuğrul KUL  
Üye

  
Dr. Zikri GÜREL  
Üye

  
Ecz. Suat YAĞMUR  
Üye

  
Veteriner Hekim Demirel ERGÜN  
Üye

### EK.3 ÖZGEÇMİŞ

| <b><u>Kişisel</u></b><br><b><u>Bilgiler</u></b> |               |
|-------------------------------------------------|---------------|
| <b>Adı, Soyadı</b>                              | Mehmet SAYLAM |
| <b>Doğum Yeri -Tarihi</b>                       | Kırşehir-1980 |
| <b>Uyruğu</b>                                   | T.C           |
| <b>Yabancı Dili</b>                             | İngilizce     |

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

| <b><u>Eğitim</u></b><br><b><u>Bilgileri</u></b> |                              |
|-------------------------------------------------|------------------------------|
| <b><u>Lisans</u></b>                            |                              |
| <b>Üniversite</b>                               | : Ondokuz Mayıs Üniversitesi |
| <b>Fakülte</b>                                  | : Dış Hekimliği Fakültesi    |
| <b>Bölümü</b>                                   | : Dış Hekimliği              |
| <b>Mezuniyet Yılı</b>                           | : 2001                       |
| <b><u>Lisans</u></b>                            |                              |
| <b>Üniversite</b>                               | Anadolu Üniversitesi         |
| <b>Fakülte</b>                                  | İktisat Fakültesi            |
| <b>Bölümü</b>                                   | Kamu Yönetimi                |

| <b>Makale ve Bildiriler</b>                                                                                                                                                              |  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Araştırma Makalesi : İnhaler İlaç Kullanımına Bağlı Oral Yan Etkiler: Doğru Bilinen Bir Yanlış mı? Yıl:2022 Cilt:24 Sayı:1,23-33,30.04.2022 |  |