



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**FARELERDE YÜKSEK YAĞLI DİYET VE ALKOL
TÜKETİMİNİN KARACİĞERDE APELİN VE
APELİN RESEPTÖR EKSPRESYONU ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEÇİL BAYRAKCI

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 10102.16



BALIKESİR
2026

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE YÜKSEK YAĞLI DİYET VE ALKOL
TÜKETİMİNİN KARACİĞERDE APELİN VE APELİN
RESEPTÖR EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEÇİL BAYRAKCI

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. HASAN ÖZEN

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.16

Proje No: 2024/185-Balıkesir Üniversitesi BAP

BALIKESİR

2026



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde
Seçil BAYRAKCI tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Farelerde Yüksek Yağlı Diyet ve Alkol Tüketiminin Karaciğerde Apelin ve Apelin
Reseptör Ekspresyonu Üzerine Etkilerinin Araştırılması”**

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/05/2026

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Hasan ÖZEN
Balıkesir Üniversitesi
(Danışman)

Prof. Dr. Musa KARAMAN
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Kadir ÖZCAN
Uşak Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 02/06/2026 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi **beyan ederim.**

05/05/2026

Seçil BAYRAKCI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin konusunun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar geçen tüm süreçte bilgi, deneyim ve akademik birikimiyle bana rehberlik eden; her aşamada sabır, anlayış ve yapıcı eleştirileriyle çalışmama yön veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Özen'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecinde karşılaştığım zorlukların aşılmasında sunduğu değerli katkılar ve teşvik edici yaklaşımı, bu çalışmanın bilimsel niteliğinin gelişmesinde büyük rol oynamıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca dersleriyle akademik bakış açımı geliştiren, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan başta Prof. Dr. Musa Karaman, Prof. Dr. Fatma İlhan ve Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Usta'ya ve tüm değerli öğretim üyelerine teşekkür ederim. Çalışmamızda verilerin istatistiki analizlerinde yardımcı olan Prof. Dr. Yılmaz Çiğremiş'e teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan başta Dr. Asım Ayaz olmak üzere tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, sabır ve anlayışlarıyla bana güç veren aileme sonsuz teşekkür ederim. Bunun yanı sıra, bu süreçte bilgi paylaşımı ve moral desteğiyle yanımda olan arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2024/185 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer	3
2.1.1. Karaciğer Anatomisi	4
2.1.2. Karaciğerin Lipid Metabolizması	5
2.2. Obezite ve Karaciğer Dokusu İlişkisi.....	6
2.2.1. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı.....	7
2.2.2. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi	8
2.3. Alkolik Karaciğer Hastalığı.....	10
2.3.1. Alkolik Karaciğer Hastalığının Patofizyolojisi.....	10
2.3.2. Alkolik Karaciğer Hastalığının Histomorfolojisi.....	12
2.3.3. Alkolik Karaciğer Hastalığının Tanısı	12
2.4. Apelin/APJ	13
2.4.1. Apelin Peptit İzofomları	15
2.4.2. Apelin/APJ'nin Karaciğer Hasarındaki Rolü.....	16
2.4.3. Apelin/APJ'nin Aşağı ve Yukarı Akış Faktörleri	18
2.4.4. Apelin/APJ'nin Karaciğer Fizyolojisi ve Patofizyolojisindeki Rolü.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanları.....	21

3.2. Hayvan Deneyinin Sonlandırılması ve Numunelerin Toplanması	24
3.3. Kan Serum Analizleri	24
3.4. Karaciğer Oksidatif Stres Analizleri	24
3.5. Histopatoloji	25
3.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler	25
3.7. İstatistiksel Analizler	27
4. BULGULAR	28
4.1. Deney Hayvanlarının Kilo ve Karaciğer Organ Ağırlıkları	28
4.2. Makroskopik Bulgular	30
4.3. Biyokimyasal Bulgular	30
4.4. Histopatolojik Bulgular	36
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular	39
4.5.1. Apelin İmmunoreaktivitesi	39
4.5.2. APJ İmmunoreaktivitesi.....	41
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR	54
EKLER.....	66
Ek-1. Yerel Etik Kurulu Kararı	66

ÖZET

FARELERDE YÜKSEK YAĞLI DİYET VE ALKOL TÜKETİMİNİN KARACİĞER APELİN VE APELİN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Karaciğer, birçok hayati fizyolojik fonksiyonu düzenleyen moleküler yapıların üretimi ve metabolizmasında aktif rol alması nedeniyle kritik öneme sahiptir. İlaçlar, ksenobiyotikler, alkol ve/veya yüksek yağlı diyetler gibi karaciğerin homeostatik dengesini bozan etkenler karaciğerde hasar oluşumuna sebebiyet verebilir. Bu çalışmada 8 hafta boyunca alkol ve yüksek yağlı diyet ile beslenen 32 adet BALB/c erkek farede karaciğerde oluşan hasarda apelin/APJ ekspresyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Fareler kontrol, alkol, yüksek yağlı diyet ve alkol+ yüksek yağlı diyet gruplarına ayrıldı. Bu gruplardan kontrol grubuna ad libitum olarak çeşme suyu ve standart fare yemi, alkol grubuna %20 etanol içeren çeşme suyu ve standart fare yemi, yüksek yağlı diyet grubuna çeşme suyu ve %24 yağ içeren fare yemi, alkol+yüksek yağlı diyet grubuna ise %20 etanol içeren çeşme suyu ve %24 yağ içeren fare yemi verildi. Deneklerin kan serumlarından ALT, AST enzimleri ve trigliserid seviyelerinin ölçümleri yapıldı ve gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Deneklerin karaciğer dokularından TAS ve TOS analizleri yapıldı ve OSİ değerleri belirlendi. Kontrol grubunun TAS sonuçlarının diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. TOS analizleri sonucu kontrol grubunun diğer tüm gruplara kıyasla düşük seviyelere sahip olduğu tespit edildi. Histopatolojik incelemelerde alkol+yüksek yağlı diyet grubunda ortadan yüksek şiddete kadar seyreden dejenerasyon, steatozis ve nekrozis şekillendiği görüldü. İmmunohistokimyasal boyamalarda ise alkol+ yüksek yağlı diyet ile beslenen grubun hem apelin hem de APJ immunoreaktivitesinin diğer tüm gruplara kıyasla en yüksek düzeyde olduğu tespit edildi. Elde edilen bulgular, alkol ve yüksek yağlı diyetin ayrı ayrı veya birlikte kullanımında karaciğer hasarına neden olduğu, apelin ve APJ ekspresyonlarının artmasına neden olarak oluşan hasarda bu yapıların fonksiyonları olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alkol, yüksek yağlı diyet, apelin, APJ, karaciğer

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF HIGH-FAT DIET AND ALCOHOL CONSUMPTION ON LIVER APELIN AND APELIN EXPRESSION IN MICE

The liver is critically important because it plays an active role in the production and metabolism of molecular structures that regulate many vital physiological functions. Factors that disrupt the liver's homeostatic balance, such as drugs, xenobiotics, alcohol, and/or high-fat diets, can cause liver damage. This study aimed to determine apelin/APJ expression in liver damage that occurred in 32 male BALB/c mice fed alcohol and a high-fat diet for 8 weeks. The mice were divided into control, alcohol, high-fat diet, and alcohol+high-fat diet groups. The control group received tap water and standard mouse food ad libitum, the alcohol group received tap water containing 20% ethanol and standard mouse food, the high-fat diet group received tap water and mouse food containing 24% fat, and the alcohol + high-fat diet group received tap water containing 20% ethanol and mouse food containing 24% fat. Blood serum measurements of ALT and AST enzymes and triglyceride levels were taken from the subjects, and no significant difference was found between the groups. TAS and TOS analyses were performed on the liver tissues of the subjects, and OSI values were determined. It was determined that the TAS results of the control group were significantly higher than the other groups. TOS analyses revealed that the control group had lower levels compared to all other groups. Histopathological examinations showed degeneration, steatosis, and necrosis ranging from moderate to severe in the alcohol+high-fat diet group. Immunohistochemical staining revealed that the group fed alcohol+high-fat diet had the highest levels of both apelin and APJ immunoreactivity compared to all other groups. These findings suggest that alcohol and high-fat diets, used separately or in combination, cause liver damage and increase apelin and APJ expression, suggesting that these structures may play a role in the resulting damage.

Keywords: *Alcohol, high-fat diet, apelin, APJ, liver*

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALT	: Alanin aminotransferaz
APJ	: Anjiyotensin II reseptör benzeri 1
AST	: Aspartat aminotransferaz
AT1R	: Anjiyotensin II reseptörü tip 1
CYP2E1	: Sitokrom P450 2E1
HE	: Hematoksilen ve Eozin
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
MDA	: Malondialdehit
PBS	: Fosfat buffer solüsyonu
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TAS	: Total antioksidan kapasite
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TOS	: Total oksidan kapasite

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Dört farklı gruba ayrılmış kafeslerdeki fareler	21
Şekil 4.1. Gruplara ait karaciğer makroskopik görüntüleri	30
Şekil 4.2. Deneklerin serum ALT değerleri	31
Şekil 4.3. Deneklerin serum AST değerleri	32
Şekil 4.4. Deneklerin trigliserid değerleri	33
Şekil 4.5. Gruplara ait TAS değerlerinin karşılaştırılması.....	34
Şekil 4.6. Gruplara ait TOS değerlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.7. Gruplara ait OSİ değerlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.8. Karaciğer histopatolojisi	37
Şekil 4.9. Gruplara göre histopatoloji skorlarının dağılım grafiği	38
Şekil 4.10. Karaciğerde apelin immunoreaktivitesi	40
Şekil 4.11. Gruplara göre apelin immunohistokimyasal skarlama sonuçları	41
Şekil 4.12. Karaciğerde APJ immunoreaktivitesi	42
Şekil 4.13. Gruplara göre APJ immunohistokimyasal skarlama sonuçları	43

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Çalışma grupları ve uygulamalar	22
Tablo 3.2. Yüksek yağlı diyetin besin yapı taşları ve kalori değerleri	22
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan yemin yem içeriği	23
Tablo 3.4. İmmunohistokimyasal boyamada kullanılan primer antikorlar ve dilüsyonları	26
Tablo 4.1. Deney hayvanlarının deney sonundaki kilo ve boy uzunlukları ile Li indeksi değerleri	28
Tablo 4.2. Deney sonunda deneklerin karaciğer ve relatif organ ağırlıkları	29
Tablo 4.3. Deneklere ait ortalama serum ALT seviyeleri (U/L) ve Post-hoc analiz sonuçları	31
Tablo 4.4. Deneklere ait ortalama serum AST seviyeleri (U/L) ve Post-hoc analiz sonuçları	32
Tablo 4.5. Gruplara ait trigliserid düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri	33
Tablo 4.6. Gruplara ait karaciğer TAS değerleri (μmol/L)	34
Tablo 4.7. Gruplara ait karaciğer TOS değerleri (μmol/L)	35
Tablo 4.8. Gruplara ait karaciğer OSI değerleri.....	36
Tablo 4.9. Gruplara göre histopatoloji skorlarının tanımlayıcı istatistikleri	38
Tablo 4.10. Gruplara göre apelin düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri	40
Tablo 4.11. Gruplara göre APJ düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri	43

1. GİRİŞ

Karaciğer, vücutta çeşitli metabolik fonksiyonların yürütülmesinden sorumludur. Pek çok hayati fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan moleküler yapıların üretilmesi ve metabolize edilmesi süreçlerindeki aktif rolünden dolayı karaciğer hayati öneme sahip olan bir organdır. Karaciğerin özellikle besin metabolizması, ilaçların metabolize edilmesi, endoktrin kontrol ve çeşitli toksik ajanların detoksifikasyonu gibi önemli faaliyetlerin yürütülmesinde rol aldığı görülmektedir. Karaciğerin karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması üzerine etkisi nedeniyle genel olarak besin metabolizmasındaki rolü önem arz eder.

Karaciğerin çok fazla metabolik süreçlerin yürütülmesinde modülatör görevinde bulunması bu organın kolaylıkla hasarlanmasına neden olabilir. Karaciğerin homeostatik denge içerisinde metabolize etme kapasitesinin aşıldığı durumlarda karaciğer hasarı şekillenebilir. Örneğin; yaygın kullanılan bir analjezik olan asetaminofenin aşırı kullanımı karaciğerde hasara neden olabilmektedir (Ayaz, 2025). Benzer olarak aşırı alkol tüketimi ve/ya uzun süreli yüksek yağlı diyet ile beslenmenin de karaciğer hasarına neden olduğu iyi bilinen bir olgudur (Arteel ve ark, 2003).

Aşırı alkol tüketimine bağlı olarak şekillenen alkolik karaciğer hastalığı, Amerika kıtası ve Avrupa coğrafyasında en yaygın görülen karaciğer hastalıklarından biridir. Hastalık, bireyler arasında önemli ölçüde değişen, günlük olarak tüketim miktarını aşan kronik alkol alımından kaynaklanır. Uzun süreli ve günde >40 g saf alkol tüketiminin, alkolik karaciğer hastalığının görülme riskini arttırdığı bildirilmektedir (Seitz ve ark, 2018). Alkolik karaciğer hastalığı, dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir (Arteel ve ark, 2003). Alkolik karaciğer hastalığının semptomları arasında steatozis, alkolik hepatit ve siroz yer almaktadır (Maurice ve Manousou, 2018). Asetaldehit, reaktif oksijen ve nitrojen türleri, inflamatuvar mediatörler ve genetik faktörler arasındaki etkileşimlerin alkolik karaciğer hastalığının gelişiminde önemli roller oynadığı görülmektedir (Arteel ve ark, 2003). Alkolik karaciğer hastalığının oluşumu için en önemli faktörler alkol alımının örüntüsü, dozu ve obezite ile birlikte seyretme durumudur.

Global ölçekte karaciğer hasarının oluşmasına neden olan en önemli sebep obezitedir. Aşırı miktarda yüksek yağlı diyet ile beslenme obezitenin en önemli sebebidir. Obeziteye bağlı olarak şekillenen karaciğer hasarı alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı başlığı altında yer almaktadır. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, karaciğerde alkol dışı nedenlerle yağ birikimiyle karakterize, günümüzde en yaygın görülen kronik karaciğer hastalıklarından biridir. Obezite ve diyabetin artışıyla birlikte, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının görülme sıklığı dünya genelinde %25'e ulaşmıştır ve bu oran giderek artmaktadır (Cotter ve Rinella, 2020).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, alkol kullanımı dışındaki nedenlerle hepatositlerin $\geq$ %5'inde makroveziküler steatozisin bulunması olarak tanımlanır. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, alkolik olmayan yağlı karaciğerden alkolik olmayan steatohepatite, fibrozis ve siroza kadar değişen formlarda şekillenebilir (Maurice ve Manousou, 2018). Lipid metabolizmasında oluşan dengesizlikler, hücresel strese ve inflamasyon aktivasyonuna neden olur, bu durum lipotoksik lipidlerin oluşumuna yol açar (Powell ve ark, 2021).

Apelin, G proteinine bağlı reseptör olan APJ' nin bir ligandı olarak tanımlanır ve endojen bir peptittir. Apelinin, yağ dokusu tarafından salgılandığı ve biyoaktif araçlar olan adipokin ailesine ait olduğu bilinmektedir. Apelin ve reseptörünün yaygın doku dağılımı, vücut sıvı homeostazı, kan basıncı, kardiyak kontraktilite, anjiyogenez, endokrin stres yanıtı ve enerji metabolizması gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca apelin/APJ sistemi kalp yetmezliği, obezite, diyabet ve kanser gibi patolojik süreçlerde de rol oynar (Wysocka ve ark, 2018).

Alkolik ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hasarında karaciğerde oluşan hasara yanıt olarak dokularda bazı yangısal ve metabolik belirteçlerin düzeyleri değişebilmektedir. Biz bu çalışmada alkolik karaciğerin ve/ya obezitenin karaciğerde apelin ve APJ seviyelerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

Karaciğer, vücutta çok sayıda fizyolojik sürecin yönetildiği kritik bir merkezdir. Makrobesin metabolizması, bağışıklık sistemi desteği, kan hacmi düzenlemesi, büyüme sinyal yollarının endokrin kontrolü, lipid ve kolesterol homeostazisi ve kullanılan birçok ilacın metabolize edilmesi karaciğerin fonksiyonları arasındadır. Makrobesinlerin işlenmesi, fizyolojik süreçleri yönetmek için gereken enerjiyi sağlaması nedeniyle karaciğerin en kritik işlevleri arasındadır. Karaciğerin beslenmeyle glikozu glikojen formunda depolama ve açlığa yanıt olarak glukoneojenik yolla glikozu oluşturma kapasitesi oldukça önemlidir. Karaciğer lipidleri okside edebilir, aynı zamanda fazla lipidi yağ gibi diğer dokulara salgılanmak ve depolanmak üzere hazır hale getirir. Karaciğerin bir başka fonksiyonu protein ve aminoasit metabolizmasının önemli bir işleyicisi olmasıdır. Bu hususta karaciğer, kana salınan proteinlerin çoğundan enerji için amino asitlerin işlenmesinden ve üre metabolizması şeklinde protein yıkımlanmasından kaynaklanan azotlu atıkların atılmasından sorumludur (Trefts ve ark, 2017).

Karaciğer, önemli bir ön cephe bağışıklık dokusudur. Bağırsak yoluyla vücuda giren patojenleri tespit etmek için ideal bir konumdadır. Bakterileri, virüsleri, makromolekülleri tespit etmek, yakalamak ve temizlemek görevleri arasındadır. Vücuttaki en büyük fagositik hücre koleksiyonunu barındıran bu organ, vücuttaki önemli savunma bariyerlerinden biridir. Portal kan aynı anda çok sayıda yabancı ancak gıda antijenleri gibi zararsız molekülleri de taşır. Karaciğerin varsayılan bağışıklık durumu immüno toleranslıdır, ancak uygun koşullar altında hızlı ve güçlü bir bağışıklık tepkisi oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bağışıklık ve tolerans arasında oluşan denge, karaciğerin fonksiyonları için esastır. Enfeksiyon oluşmadığı durumlardaki aşırı iltihaplanma steril karaciğer hasarına, doku hasarına ve yeniden şekillenmeye yol açar. Ancak yetersiz bağışıklık kronik enfeksiyonlara ve kansere kadar ilerleyebilen patolojilere neden olabilir (Kubes ve Jenne, 2018).

2.1.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, hem atardamar hem de toplardamar kanıyla beslenmesi dolayısıyla anatomik yönden eşsiz bir organdır. Karaciğerin anatomik organizasyonu, bu iki kan kaynağının karışmasına ve karaciğerdeki çeşitli yapı ve hücreleri içerikleriyle temizlemesine olanak tanır. Oksijen açısından zengin olan atardamar kanı, hepatik atardamar yoluyla karaciğere girer ancak bu kaynak, karaciğere gelen kanın küçük bir kısmını oluşturur. Karaciğere giren kanın büyük kısmı portal ven tarafından sağlanır. Portal kan, hem besin maddeleri hem de lipopolisakkaritler gibi patojen kaynaklı moleküller açısından zengindir (Berg, 1999).

Karaciğer hepatositler, safra epitel hücreleri (kolanjiyositler), uydu hücreleri, Kupffer hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri olmak üzere farklı embriyolojik kökenli hücre tiplerinden oluşur. Bu hücre tiplerinin her biri, hepatik işlevi düzenleyen benzersiz fonksiyonlara sahiptir. Hepatositler, karaciğerin birincil epitel hücre popülasyonudur. Bu hücreler karaciğer hücrelerinin büyük bir kısmını oluşturur ve karaciğere atfedilen fonksiyonların çoğunu gerçekleştirir (Trefts ve ark, 2017). Olgun hepatositler, insanlarda 2 yıl, kemirgenlerde ise yaklaşık 6 ay gibi uzun bir ömre sahiptir (Braun ve Sandgren, 2000). Yetişkin bir kemirgen karaciğerindeki olgun hepatositler, çoğalma kabiliyetlerine göre üç alt sınıfa ayrılır. Bunlar yüksek büyüme kabiliyetine ve bazal hepatosit fonksiyonlarına sahip kararlı progenitor hücreler olan tip I hücreler, sınırlı çoğalma kabiliyetine sahip tip II hücreler ve bölünme kabiliyetini kaybeden (replikatif senesans) ve son farklılaşmış duruma ulaşan tip III hücrelerdir (Mitaka ve ark, 2023). Karaciğerde bulunan kök/öncü hücre sistemi, karaciğer fonksiyonu ciddi şekilde bozulduğunda ve hemen eski haline getirilemediğinde genellikle aktive olur. Oval hücreler ve küçük hepatositler sırasıyla karaciğer kök ve öncü hücreleri olarak bilinir. Oval hücreler oval çekirdekleri ve az miktarda sitoplazmalarıyla ayırt edilir. Küçük epitel hücreleri portal bölgeden yayılır ve hepatositik kordon boyunca tübüler yapılar veya portal bölgenin dışında küçük kümeler oluşturur (Bucher ve Malt, 1971).

Karaciğerde önemli fonksiyonları olan diğer bir hücre kolanjiyositlerdir. Bu hücreler, karaciğerde en fazla bulunan ikinci epitel popülasyonudur ve safra kanallarının lümenini kaplayan hücreler olarak çeşitli işlevlere sahiptirler (Trefts ve

ark, 2017). Kolanjiyositler karaciğer hasarına veya yangısına yanıt olarak mekanik sinyallere ve sitokinlere tepki vererek aktive olurlar (Kim ve Kim, 2024). Uydu hücreleri, durgun veya aktif bir durumda bulunabilen hücrelerdir. Karaciğerde oluşan hasar, uydu hücrelerinin aktivasyonuna yol açar. Karaciğerin diğer önemli bir hücre popülasyonu Kupffer hücreleridir ve karaciğerin yerleşik halde bulunan makrofaj popülasyonu olarak bilinirler. Bu hücreler, portal dolaşım yoluyla getirilen birçok patojenik uyarıyı tanıyabilir ve karaciğerin iyileşmesinde rol oynar. Karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri, karaciğerde bulunan bir diğer endotel hücre popülasyonudur. Bu hücreler, fenestra adı verilen delikli endotel döşeli sinüzoidleri oluşturan hücrelerdir. Bu organizasyon, protein ve partiküllerin değişimi için kritik öneme sahiptir ve aynı zamanda belirli bariyer işlevi gösterir (Trefts ve ark, 2017; Kubes ve Jenne, 2018)

2.1.2. Karaciğerin Lipid Metabolizması

Karaciğer, lipitlerin ve lipoproteinlerin alınması, sentezlenmesi, paketlenmesi ve salgılanmasında çeşitli işlevlere sahiptir. Karaciğer, sentezlediği ve salgıladığı safra ile lipitlerin sindirimi ve sonrasında bağırsakta emilimini sağlar. Lipoproteinler, lipitlerin çözünür hale geldikten sonra hücre içine taşınan moleküller olarak tanımlanmaktadır. Lipoproteinler yoğunluk farklılıklarına göre 5 alt grupta incelenmektedir. Bunlar, şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler, düşük yoğunluklu lipoproteinler, orta yoğunluklu lipoproteinler ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler olarak isimlendirilir. Şilomikron, bağırsakta bulunan lipoproteinlerden ve sindirilmiş lipitlerden meydana gelmektedir. Karaciğerde, yağ asitleri lipoprotein lipaz enzimi ile şilomikron kalıntılarından ayrıştırılmaktadır. Ayrışan yağ asitleri daha sonra taşıyıcı proteinlerle hepatositlere gönderilir. Karaciğer, yağ asitlerini oksitleyerek enerji üretilmesinde merkezi rol oynar. Ancak asetoasetat ve beta hidroksibutirat gibi ketojenik ürünlerden diğer doku ve organlar için de enerji sağlayabilmektedir. Karaciğerden ketonların salınması durumunda, trikarboksilik asit döngüsü ara ürünlerinin aşırı oluşumu önlenmektedir ve bu sayede oksidatif durum korunmaktadır. Karaciğer beslenme ile vücut için gerekli olan lipit substratlarını sağlamaktadır. Karaciğer, yağ asitlerini ve gliserolü, hepatositlerden kan dolaşımına

geçişini sağlamak için çok düşük yoğunluklu lipoprotein parçacıkları ile paketlenen trigliseritlerde toplar. Toplanan materyel depolanmak ve enerji kaynağı olarak kullanılmak için diğer organlara da ulaştırılmaktadır. Karaciğerin lipit metabolizmasındaki bu işlevi, yağda çözünen vitaminlerin emilimini sağlamak için oldukça önemlidir (Ezer Özer, 2022). Karaciğer, aynı zamanda vücuttaki kolesterol homeostazı konusunda da önemli bir role sahiptir. Kolesterol bağırsaklardan emilebilir, aynı zamanda karaciğerde de sentezlenebilir. Kolesterol vücutta membran akışkanlığının korunmasını sağlamada önemli role sahip olan bir moleküldür. Kolesterolün vücutta eksiklik veya fazlalığı sağlık açısından sorun teşkil edebilir (Ponziani ve ark, 2015).

2.2. Obezite ve Karaciğer Dokusu İlişkisi

Karaciğer fonksiyonları omurgalı canlıların yaşamını devam ettirebilmesi için oldukça önem teşkil etmektedir. Karaciğer, hücrelerde enerji dengesini düzenleyen insülin metabolizmasında görev almaktadır. Karaciğer fonksiyonlarında görülen anormallikler insülin direnci oluşumuna sebep olabilmektedir (Petersen ve ark, 2002). Vücuda alınan besinlerdeki lipitlerin çoğu doğrudan veya dolaylı olarak karaciğere gelmekte ve karaciğerde işlendikten sonra vücut metabolizmasına katılmaktadır. Canlıların yüksek kalorili diyetlerle beslenmeleri ile artan lipid miktarı, karaciğerde lipid birikimine sebep olmaktadır. Bazı metabolik hastalıklar sonucunda da vücutta lipit miktarında artışlar ve protein profilinde değişiklikler gözlemlenmektedir. Bu durum karaciğerde çeşitli değişikliklere ve anormalliklere yol açmaktadır (Ezer Özer, 2022; Machado ve ark, 2012).

Obeziteye bağlı olarak meydana gelen karaciğer fonksiyon bozuklukları, bunların oluşturduğu etkiler ve hücre içi etkileşimlere ilişkin yollar pek çok çalışmada araştırma konusu olmuştur. Serum karaciğer enzimlerinde meydana gelen artışın vücutta yağ birikimine sebep olması ortaya çıkan problemlerin gözlemlenmesinde elde edilen önemli bulgular arasındadır (Chung ve ark, 2015). Karaciğer dokusunda lipit ve protein metabolizmasında rol alan farklı enzimler sentezlenmektedir. Bundan dolayı vücutta lipit miktarındaki artışın sebep olabileceği enzimler de dahil olmak üzere protein bozukluklarının gözlemlenebilmesi için

karaciğer önemli bir doku haline gelmektedir (Inoue ve ark, 2005; Motomura ve ark, 2006; Schmid ve ark, 2004)

2.2.1. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, ilk olarak William Bowman tarafından 1842 yılında insan karaciğer örneklerinde yağ birikiminin mikroskopik olarak gözlemlenmesiyle tanımlanmıştır (Bowman, 1842). Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı dünya çapında kronik karaciğer hastalığının en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir. Az veya hiç alkol tüketmeyen kişilerde hepatositlerin %5'inden fazlasında steatozisin varlığı ile tanımlanır (Sanyal ve ark, 2011). Etiyolojisinde genellikle yüksek şekerli ve yüksek yağlı diyetle beslenme bulunur ve insülin direnci, tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik bozukluklarla yakından ilişkilidir (DeFronzo ve ark, 1981). Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, basit steatozisten alkolik olmayan steatohepatite, fibrozis ve siroza kadar uzanan geniş bir klinik spektrumda seyredebilir (Maurice ve Manousou, 2018). Karaciğer fibrozisi, alkolik olmayan karaciğerin daha ileri bir formudur ve steatozis, hepatoselüler dejenerasyon, lobüler inflamasyon ve neredeyse her zaman fibrozisin gelişmesi ile karakterizedir (Kleiner ve Makhlouf, 2016). Alkolik olmayan steatohepatitiste karaciğer hepatositlerini yenilemeye çalışır ancak yenilenemediği durumlarda hepatositlerin yerini kolojen üretiminin baskın olduğu skar dokusu alır ve siroza yol açabilir (Argo ve Caldwell, 2009; Starley ve ark, 2010). Siroz, hepatosellüler karsinomaya yol açarak karaciğer naklini de gerektiren son evre organ yetmezliğine neden olabilir (Yasui ve ark, 2011). Alkolik olmayan steatohepatitisin tam gelişmiş siroza ilerlemesiyle, alkolik olmayan steatohepatitisin bazı histolojik özellikleri kaybolabilir (Yoshioka ve ark, 2004). Genellikle, karaciğerde meydana gelen değişiklikleri tanımlamak için kullanılan bu terimler keskin sınırlarla birbirinden ayrılmamıştır ve bu da klinik uygulamada karışıklığa neden olabilmektedir (Dietrich ve Hellerbrand, 2014).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının tanısını koymak için, görüntüleme veya biyopsi ile primer hepatik yağ birikiminin kanıtlanması ve aşırı alkol, hepatotoksik ilaçlar ya da herediter bozukluklar gibi sekonder nedenlerin

elenmesi zorunludur (Chalasani ve ark, 2012). Yüksek alkol alımı olmaksızın karaciğerde lipid birikiminin gözlemlendiği alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, giderek artan oranda tanı konulan bir karaciğer patolojisidir (Angulo, 2002). Alkolik olmayan yağlı karaciğer tanısı alan hastaların büyük çoğunluğunda yalnızca basit steatozis varken, hastalık steatohepatitis, fibrozis, sirozis ve terminal karaciğer yetmezliğine varabilen geniş bir klinik spektrumu kapsar. Alkolik olmayan steatohepatitis, karaciğer biyopsilerinde farklı şiddetlerde yangı ve fibrozis içeren heterojen bir histolojik tablo sunar, bu çeşitlilik klinik seyrinde de belirgin farklılıklara yol açar. Histolojik tanı için fibrozis zorunlu olmasa da, fibrozisin varlığı hastalığa bağlı morbidite ve mortalite tahmininde daha güçlü bir öngörü değeri taşır. Hafif steatozis nadiren ciddi karaciğer hasarına ilerlerken, belirgin fibrozisle birlikte seyreden alkolik olmayan steatohepatitis, siroz, hepatoselüler karsinom ve terminal yetmezlik riskini önemli ölçüde artırır (Rafiq ve ark, 2009).

2.2.2. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığının Patogenezi

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı, yıllar içinde, değişen derecelerde genetik duyarlılığı içeren farklı risk faktörlerinin birikmesi sonucu gelişir. Beslenme alışkanlıkları, diyetin miktarı ve bileşimi, fiziksel hareketsizlik, kronik stres ve yaşam tarzı, hastalığın ortaya çıkışını ve şiddetini belirleyen başlıca genetik olmayan faktörlerdir. Ancak metabolik sendromda olduğu gibi alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının arka planında da genetik yatkınlık bulunabilmektedir (Anstee ve Day, 2013; Yki-Järvinen, 2010).

İnsanlarda alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının patogenezi karmaşık olup gelişim sürecinde birbiriyle etkileşim içinde olan çok sayıda farklı biyolojik unsuru içerir. Hastalığın oluşmasında rol oynayan bazı risk etkenleri bireyler arasında farklı yoğunlukta ortaya çıkabilir, zaman içerisinde belirginleşebilir ya da ortadan kaybolabilir. Aynı risk profiline sahip bireylerden bazılarında yağlanma gelişmezken diğerlerinde steatohepatitis düzeyine ulaşılmasının altında yatan neden belirlenemeyebilir. Her hastada alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının patogenetik yolu kendine özgü özellikler gösterse de, ortak risk faktörleri genellikle benzerdir (Kucera ve Cervinkova, 2014). Hastalığın doğal seyri tam olarak

özölmenememiş olup çoğu olguda oldukça yavaş ilerlediği gözlenmektedir. Hastalığın gelişimine ilişkin çeşitli patogenetik modeller önerilmiş olmasına rağmen, insülin direncinin hem alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında hem de tip 2 diyabet oluşumunda merkezi bir rol oynadığı kabul görmektedir (Shulman, 2000; Tarantino ve Finelli, 2013). Karaciğer enzimleri yüksek seyreden alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalarında ileri evre karaciğer hastalığına ilerleme riski artar ve bu hastaların büyük çoğunluğu zamanla diyabet veya glikoz toleransında bozulma yaşar (Ekstedt ve ark, 2006).

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının ilerleyişi genel olarak yağlanma, lipotoksik hasar ve yangısal süreç olmak üzere üç aşamalı bir modelle açıklanır (Jou ve ark, 2008). Karaciğerdeki aşırı lipit birikimi lipotoksositeye yol açar, bu da mitokondriyal işlev bozukluğu ve ER stresine neden olarak hücrel hasarı başlatır. (Bell ve ark, 2008). Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, yağ asitlerinin aşırı oksidasyonuna ve buna bağlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) fazla miktarda üretimine yol açar. Antioksidan kapasite aşıldığında ise oksidatif stres oluşur. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında oksidatif stres, hepatosit apoptozu ve nekrozunu tetikleyen üçüncü temel patolojik basamak olarak değerlendirilir. Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının gelişim süreci, steatozis, lipotoksik hasar ve yangının birbirini tetiklediği ve karaciğerin biyokimyasal ve histolojik yapısının bozulduğu döngüsel bir mekanizma izler (Sanyal ve ark, 2011; Tiniakos ve ark, 2010). Bunun ötesinde, bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlikler ince bağırsak bariyer bütünlüğünü zayıflatarak geçirgenliği artırabilir. Artan bağırsak geçirgenliği daha fazla yağ asidinin sistemik dolaşıma geçişine, lipid düzeylerinin yükselmesine ve proinflatuvar sitokin salınımını artıran inflamatuvar kaskadların aktivasyonuna zemin hazırlar. Uzun vadede bu süreç karaciğerde yağ birikimini şiddetlendirir ve fibrozis ile yangının eşlik ettiği steatohepatitise dönüşümle sonuçlanabilir (Sivell, 2019). Hayvan ve insan çalışmalarının bulguları, alkolik olmayan steatohepatitiste görülen hepatosit hasarının glikoz, fruktoz ve yağ asitleri gibi temel metabolik maddelerin aşırı birikmesiyle başladığını ve bunun yağ asitlerinin hücreyi zedeleyici yollara yönlendirilmesine neden olduğunu göstermektedir. Basit yağ birikiminden ileri evre karaciğer hastalığına geçiş genellikle yıllar alan uzun bir süreçtir. Sadece basit steatozisi olan tüm hastaların alkolik olmayan steatohepatitis veya ileri fibrozis geliştirip geliştirmeyeceği henüz netleştirilememiştir. Basit yağlanması olan hastalara

kıyasla, alkolik olmayan steatohepatitis tanısı taşıyan bireylerde karaciğer ve kalp damar hastalıklarına bağlı ölüm olasılığı belirgin şekilde artmıştır (Ertunc ve Hotamisligil, 2016).

2.3. Alkolik Karaciğer Hastalığı

Alkol, etanol formunda pek çok içeceklerle beraber tüketilen ancak aşırı tüketimine bağlı olarak hepatotoksik etki gösteren bir maddedir. Alkolik karaciğer hastalığı, alkole bağlı gelişen tüm karaciğer hasarı türlerini kapsayan geniş bir tanımlayıcı terimdir. Alkolik karaciğer hastalığı, basit yağlanmadan alkolik hepatitis, fibrozis ve siroza kadar uzanan geniş bir karaciğer hasarı spektrumuyla ilişkilendirilir (European Association for the Study of Liver, 2012; O'Shea ve ark, 2010). Aşırı alkol tüketimi çok sayıda sağlık sorununda risk faktörü olup dünya genelinde önlenemez ölüme neden olur (Blachier ve ark, 2013; Trimble ve ark, 2013). Etanolün ana metabolize edildiği organ olan karaciğer, aşırı alkol maruziyetinde en ağır hasar gören organdır. Alkol fazlalığına karşı karaciğerin ilk tepkisi olan steatozis, hepatositlerde yağ birikimiyle kendini gösterir. Steatozis, ilerleyici durumlarda yangısal özellikler taşıyan steatohepatitise dönüşebilir. Hastalığın bu evresi, ekstrasellüler matris proteinlerinin aşırı depolanmasıyla karakterize fibrozis gelişimini başlatabilir. Fibrozis süreci, perisellüler bölgede başlayan aktif skar oluşumuyla başlar ve ilerledikçe damar yapılarında değişimlere ve nihai olarak karaciğer yetmezliği ile seyreden sirozise dönüşebilir (Osna ve ark, 2017).

2.3.1. Alkolik Karaciğer Hastalığının Patofizyolojisi

Alkolik karaciğer hastalığının oluşumunda asetaldehit oluşumu ve oksidatif stres önemli bir rol oynar. Alkol alındıktan sonra sindirim kanalından hızlıca kana geçer ve karaciğere taşındıktan sonra hepatositlerde alkol dehidrogenaz aracılığıyla önce asetaldehite dönüştürülür. Sonrasında asetaldehit, metabolik süreçlerle asetaldehit dehidrogenaz enzimi vasıtasıyla asetata çevrilir. Buna ek olarak, hepatositlerin hem endoplazmik retikulumunda hem de mitokondrilerinde yer alan CYP2E1 (sitokrom P450 2E1) enzimi de, oksijen ve NADPH'nin bulunduğu

koşullarda alkolü asetaldehite dönüştürür (Lieber ve ark, 1970). CYP2E1'in aracılık ettiği alkol metabolizması, alkolün oksidasyonu için ikinci bir yol oluşturur ve bu enzim kronik alkol alımına bağlı olarak daha fazla etkinleşir. Her iki metabolik süreç sonunda oluşan asetaldehit son derece zararlı ve kanserojen bir bileşiktir ve proteinlerle etkileşerek onların yapı ve işlevlerini bozabilir. Ayrıca konak proteinlerini değiştirerek bağışıklık sistemi tarafından tanınabilecek yeni antijenlerin ortaya çıkmasını tetikler (Seitz ve Stickel, 2007). Asetaldehitin tetiklediği mitokondriyal yapısal bozulmalar solunum zinciri üzerinden ATP üretiminin düşmesi, ROS artışı ve asetaldehiti asetata dönüştüren mitokondriyal enzim olan asetaldehit dehidrogenazın aktivitesinde azalma gibi işlevsel sorunlara neden olur (Dancygier ve ark, 2010).

Asetaldehitin doğrudan toksik etkilerinin yanı sıra, alkol alımı ROS artışıyla ortaya çıkan oksidatif strese de yol açabilir. ROS, proteinlerle etkileşerek onların yapı ve işlevlerinde bozulmalara neden olabilir ve bu süreç sonucunda yeni antijenik yapılar oluşabilir (Albano ve ark, 1996). Ayrıca, ROS doğrudan DNA'ya bağlanıp DNA yapısında bozulmalara neden olabilir veya 4-hidroksinonenal ve malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin üretimiyle lipid peroksidasyonuna yol açabilir. Ortaya çıkan lipid peroksidasyon ürünleri DNA'nın bazlarıyla etkileşerek yapı ve fonksiyonunda bozulmalara neden olur (Mueller ve ark, 2018; Wang ve ark, 2009).

Alkole bağlı oluşan yangıda, tümör nekroz faktörü (TNF) üretimi N-asetil-sfingozin ile mitokondri arasında bir etkileşimi destekleyebilir ve bunun sonucunda ROS artışı gözlenir (García-Ruiz ve ark, 2000). Ek olarak, nitrozatif stres adıyla bilinen reaktif azot türlerinin üretimi de alkol kullanımı sonucunda artar. Sıçanlarda alkol, indüklenabilir nitrik oksit sentazın aktivitesini artırır ve bu durum, yüksek reaktiviteye sahip peroksinitrit oluşumuna yol açar (Chamulitrat ve Spitzer, 1996).

CYP2E1 aracılı karaciğer hasarının önemi, alkolik karaciğer hastalığına sahip fare modellerinde iyi tanımlanmıştır (Lu ve ark, 2010; Morgan ve ark, 2002). Alkolik karaciğer hastalığının şiddetinin, CYP2E1 aşırı ekspresyonu olan farelerde arttığı veya CYP2E1 eksikliği olan farelerde azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca CYP2E1'in farmakolojik bir inhibitörü olan ve alkol detoksifikasyon tedavisinde kullanılan klometiyazol verilen deney hayvanlarında alkolik karaciğer hastalığının iyileştiği görülmüştür (Gouillon ve ark, 2000; Ye ve ark, 2012). Alkolik karaciğer hastalığı,

karaciğer CYP2E1 ekspresyonu, eteno-DNA eklentilerinin seviyesi ve fibrozisin şiddeti ile önemli ölçüde ilişkilidir (Mueller ve ark, 2018).

2.3.2. Alkolik Karaciğer Hastalığının Histomorfolojisi

Alkolik karaciğer hastalığının histopatolojik bulguları, hasarın şiddeti ve evresine göre önemli farklılıklar gösterir. Steatozis, alkolik karaciğer hastalığının hem en sık hem de en erken ortaya çıkan bulgusudur. Alkolik karaciğer hastalığında görülen steatozis çoğunlukla makroveziküler tipte olup büyük yağ damlacıkları hücrenin neredeyse tüm sitoplazmasını doldurur ve çekirdeği periferik doğru iter. Alkolik karaciğer hastalığında görülen makroveziküler steatozis çoğunlukla hepatik lobülün merkezine yakın alanlarda görülür, ancak ağır durumlarda tüm lobülü kaplayacak seviyeye ulaşabilir (Lefkowitz, 2005).

Alkolik karaciğer hastalığında saptanan erken hücresel bulgular arasında düz endoplazmik retikulumun proliferasyonu, mitokondri yapısının bozulması ve tablo ağırlaştığında dev mitokondrilerin ortaya çıkması sayılabilir (Fromenty ve ark, 1995; Rubin ve Lieber, 1968). Dev mitokondriler, yağlı karaciğerden siroza uzanan tüm alkolik karaciğer hastalığı evrelerinde görülebilir. Alkolik karaciğer hastalığı için spesifik olmamakla birlikte, bu yapılarının tespit edilmesi alkolle ilişkili karaciğer hasarını destekler ve son dönemde yoğun alkol tüketildiğine işaret eden yararlı bir bulgu olarak değerlendirilir (Chedid ve ark, 1986; Uchida ve ark, 1984).

2.3.3. Alkolik Karaciğer Hastalığının Tanısı

Alkolik karaciğer hastalığının tanısı, diğer kronik karaciğer hastalığı nedenlerinin elendiği ve belirgin alkol kullanım öyküsü bulunan hastalarda çoğu zaman sadece klinik bulgular ve laboratuvar verilerine dayanılarak koyulabilir. Fakat alkolik karaciğer hastalığı için tanıyı kesinleştiren tek bir laboratuvar testi veya görüntüleme yöntemi bulunmadığından, tanı süreci klinik açıdan güçlük yaratabilir. Ayrıca, bazı hastalar tamamen belirti göstermeyebilir, erken alkolik karaciğer hastalığı veya sirozis başlangıcında klinik bulgular görülmeyebilir ve karaciğer enzimleri normal sınırlarda seyredebilir. Buna ek olarak, hastalarda obezite veya diyabet gibi

alkolik olmayan karaciğer hastalığı ile ilişkili risk faktörleri bulunabilir. Özellikle aspartat aminotransferaz (AST) seviyesinin alanin aminotransferaz (ALT) seviyesinden yüksek olması, serum transaminazlarının anormal düzeylerde bulunması, hepatomegali veya kronik karaciğer hastalığına dair klinik bulguların varlığı, görüntülemelerde steatozis yada fibrozis/sirozis görülmesi yada biyopside makroveziküler steatozis veya sirozis saptanması durumlarında, belirgin alkol kullanım öyküsü bulunan hastalarda alkolik karaciğer hastalığının varlığı düşünülmelidir (Torruellas ve ark, 2014). Alkolik karaciğer hastalığında serum aminotransferazlarının yüksekliği her zaman görülmeyebilir ve değerler bazı vakalarda normal sınırlar içerisinde seyredebilir. Karaciğer enzimlerinin ne kadar yüksek olduğu hastalığın ciddiyetiyle doğru orantılı değildir. Özellikle AST'nin ALT'den 2–3 kat yüksek olması, alkol ile ilişkili oluşan karaciğer hasarı için önemli bir ipucu sağlar (Diehl, 2002). Alkolik karaciğer hastalığının tanısını netleştirmeden önce, kronik viral hepatitis, otoimmün hepatitis, hemokromatozis veya ilaç kaynaklı karaciğer hasarı gibi diğer olası nedenlerin mutlaka elenmesi gerekir (Torruellas ve ark, 2014).

2.4. Apelin/APJ

Anjiyotensin II reseptör benzeri 1 olarak isimlendirilen APJ, 1993 yılında ilk defa O'Dowd tarafından G proteinine bağlı, kendisine bağlanan ligantı belli olmayan yedi domaine sahip transmembran bir reseptör olarak keşfedilmiştir (O'Dowd ve ark,1993). APJ'yi kodlayan gen, intronsuz olup insanda APLNR, fare ve sıçanda ise Aplnr olarak adlandırılır (Melgar-Lesmes ve ark, 2011). İnsanda, kromozom 11q12'de bulunan APLNR, 380 amino asitlik bir protein kodlar (O'Dowd ve ark,1993). Fare ve sıçanda, sırasıyla kromozom 2E1 ve 3q24'te bulunan Aplnr, 377 amino asitlik protein kodlar. APJ'nin hücre dışı N-terminalindeki Glu20 ve Asp23, ligand apeline bağlanan ilk fizyolojik bölgeler olarak bulunmuştur ve önemli roller oynayabilir (Zhu ve ark, 2011). İnsan APJ'si bir G-protein-bağlantılı reseptördür (GPCR) ve APJ ile anjiyotensin II reseptörü tip 1'in (AT1R) birincil yapı benzerliği %31 iken hidrofobik transmembran bölgesi insan AT1 ile %54 oranında benzerlik göstermektedir (O'Dowd ve ark,1993).

İnsanlarda ve kemirgenlerde hem apelin hem de APJ reseptörünün merkezi sinir sistemi ile yağ dokusu, beyin, testis, ovaryum, karaciğer, akciğer, kalp, böbrek ve kardiyovasküler sistem gibi çeşitli periferik organlarda yoğun biçimde eksprese edildiği bildirilmektedir (Kleinz ve Davenport, 2005). İnsan MSS'sinde apelin, dorsal rafe çekirdeğinde, amigdalada ve hipotalamusta bulunur. Apelin ayrıca MSS'nin talamusunda ve frontal korteksinde yüksek düzeyde ifade edilir ve hipotalamus, orta beyin, kaudat çekirdeği ve substantia nigra-amigdala bağlantılarında nispeten daha az ifade edilir. Apelin seviyesi ayrıca omurilik ve hipofizde de tespit edilmiştir (De Mota ve ark, 2004; Lee ve ark, 2000; O'Carroll ve ark, 2000). Bununla birlikte, en yüksek ekspresyon seviyeleri akciğer ve meme bezinde gözlemlenmektedir (Hosoya ve ark, 2000; Kawamata ve ark, 2001). Sıçanlarda, preproapelin ve APJ mRNA'sı testis, bağırsak, böbrek ve fetüs dahil olmak üzere periferik dokularda tespit edilmiştir. APJ ayrıca interlökin (IL)-2 ile aktive edilmiş periferik kan mononükleer hücrelerinde de ifade edilebilir (Beltowski, 2006). APJ geninin hipoksi, insülin, stres ve glukokortikoidler tarafından modüle edildiği bildirilmiştir (Dray ve ark, 2010).

İlk kez sığır midesinden elde edilen apelin, APJ reseptörünün doğal ligandlarından biri olarak tanımlanmıştır. İnsanlarda apelin geninin, 77 amino asitten oluşan preproapelin adlı bir prepropeptidi kodladığı ve bu genin X kromozomunun Xq25–26 bölgesinde yer aldığı belirlenmiştir (Tatemoto ve ark, 1998). Sığır, insan, sıçan ve fare preproapelin öncülleri %76-95 oranında homolojiye sahiptir ve endojen olarak dimerik bir protein olarak var oldukları görülmektedir (Medhurst ve ark, 2003). Enzimatik olarak bölünmesinden önce preproapelin molekülünde endopeptidazların hedef aldığı çeşitli kesim bölgeleri bulunur. Bu bölgelerdeki enzimatik işlem sonucunda, apelin-12 (66–77), apelin-13 (65–77), apelin-17 (61–77) ve apelin-36 (42–77) olarak adlandırılan farklı aktif apelin yapıları ortaya çıkar (Hosoya ve ark, 2000; Kawamata ve ark, 2001). Bu izoformların her biri kendine özgü biyolojik etkilere sahiptir ve daha kısa olan formlar, APJ reseptörünü daha yüksek etkinlikle aktive etmektedir. Apelin-13 ile apelin-17'nin, biyolojik etkinlik açısından apelin-36'ya göre APJ reseptörünü belirgin derecede daha fazla aktive ettiği bildirilmektedir (Chaves-Almagro ve ark, 2015; De Mota ve ark, 2004; Kawamata ve ark, 2001). APJ reseptörüne doğal olarak bağlanan tek molekülün apelin olduğu kabul edilmektedir (Simpkin ve ark, 2007).

Apelin/APJ eksenini, kardiyovasküler ve metabolik bozuklukların yanı sıra oksidatif stres kaynaklı inflamatuvar durumlar, nörodejeneratif hastalıklar ve çeşitli solunum sistemi rahatsızlıklarıyla ilişkilendirilmektedir (Kasai, 2011; Zhou ve ark, 2016). APJ, bir aktivatör G proteinine (Gq) ve bir inhibitör G proteinine (Gi) bağlıdır ve bunların aktivasyonu, hidrosalin dengesinin düzenlenmesi, vasküler ton, kardiyak oluşum ve kasılma, anjiyogenez ve yıldız hücrelerinin aktivasyonu gibi bir dizi fizyolojik etkiye neden olur (Melgar-Lesmes ve ark, 2011). İmmünohistokimyasal analizlerde, sıçan karaciğerinde apelin için pozitif boyanmanın portal ve santral venlerin endotel tabakalarında ve Kupffer hücrelerinde bulunduğu belirlenmiştir (Takemoto ve ark, 2001). Siroz gelişen sıçan karaciğerinde apelin ile APJ'nin hem hepatik yıldız hücrelerinde hem de hepatositlerde yoğun biçimde bulunduğunu ortaya koymuştur (Principe ve ark, 2008). Dolayısıyla, apelin/APJ sisteminin karaciğer fizyolojisi ve patofizyolojisi üzerinde önemli etkilere sahip olduğu anlaşılmaktadır (Melgar-Lesmes ve ark, 2011).

Karaciğer dışında diğer organlarda da APJ ekspresyonunun varlığı gösterilmiştir. Merkezi sinir sisteminde hipotalamus, talamus, orta beyin, retiküler formasyon, serebral korteks, bazal gangliyonlar, glial hücreler ve beyaz cevherde bulunurken gastrointestinal sistemde pankreasın asiner ve kanal hücrelerinde, adacıklardaki beta hücrelerinde ifade edilmektedir. Midede fundus bölgesinde yoğun olarak gözlenen APJ, duodenum mukozasında özellikle epitel hücrelerinde yer almakta, jejunumda ise çoğunlukla villusların üst kısmında yoğunlaşmaktadır. Buna ek olarak, APJ reseptörleri kardiyomiyositlerde, vasküler endotel hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde ifade edilmektedir. Apelin reseptörüne ait mRNA ise akciğer endotel hücrelerinde, böbreklerde ve meme dokusunda bulunmuştur (Antushevich ve Wojcik, 2018).

2.4.1. Apelin Peptit İzofomları

İnsanda APLN geni, 77 amino asitten oluşan ve çeşitli aktif peptit parçalarına işlenebilen bir prepropeptidi kodlamaktadır ve gen dizisi üç ekzon ve iki intron içermektedir (Lee ve ark, 2000; Tatamoto ve ark, 1998). Endopeptidazlar, apelin prepropeptidini 55 amino asitlik bir peptide ayırır, bu peptit daha sonra anjiyotensin

dönüştürücü enzim 2 tarafından işlenerek apelin 36, apelin 17, apelin 13 ve apelin 12 gibi çeşitli biyolojik olarak aktif izoformlara dönüştürülür. Apelin peptit ailesi, memelilerde nöroendokrin, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemleri başta olmak üzere birçok biyolojik işlevi yerine getirir. Bu çeşitli etkiler, doku dağılımlarındaki farklılıklar, biyolojik aktiviteleri ve reseptörlere bağlanma afinitelerindeki değişkenlik ile açıklanabilir (Hosoya ve ark, 2000; Masri ve ark, 2004; Kawamata ve ark, 2001). Apelin-13, otokrin, parakrin, endokrin ve ekzokrin sinyal yolları aracılığıyla etkili olabilir ve olgun apelin formunun APJ reseptörünü uyararak tetiklediği aşağı akış biyolojik aktivitelerin başlıca sorumlusudur (Akcılar ve ark, 2015). Apelin ekspresyonunun belirli koşullar, hormonlar ve inflamatuvar faktörler tarafından düzenlenebildiğini gösterilmiştir. Apelin geninin çıkarıldığı fare modellerinde, kardiyovasküler işlev bozukluklarının, retinal vaskülarizasyonun ve göz gelişiminin belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiş olup, bu durum apelinin anjiyogenez sürecinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Kasai ve ark, 2008; Sato ve ark, 2019). APJ eksik olan fareler, anjiyotensin II'ye karşı daha yüksek bir vazokonstriktör tepkisi dışında herhangi bir ilgili fenotip göstermezler (De Mota ve ark, 2004). APJ, anjiyotensin reseptörüne benzer, ancak APJ ifade eden hücrelerden hazırlanan membran preparatları anjiyotensin II'ye bağlanmaz bu da APJ'nin bilinen bir ligandı olmayan bir yetim reseptör olduğunu düşündürmektedir (Matsumoto ve ark, 1996).

2.4.2. Apelin/APJ'nin Karaciğer Hasarındaki Rolü

Farelerde karaciğerden elde edilen HepG2 hücre hatlarında APJ mevcudiyeti gösterilmiştir. Bununla birlikte, apelinin karaciğerdeki APJ ekspresyon seviyelerine kıyasla daha düşük düzeyde bulunduğu gözlemlenmiştir (Jeong ve ark, 2014). Başka bir çalışmada sirozlu sıçanların karaciğer dokularında apelin ve APJ ekspresyonunun belirgin şekilde yükseldiği ve APJ ekspresyonunun sağlıklı hayvanlara kıyasla yaklaşık 300 kat arttığı bildirilmiştir (Principe ve ark, 2008). APJ'nin Kupffer hücrelerinde eksprese edildiği ve farelerde kısmi hepatektomi sonrasında karaciğer rejenerasyonunu baskıladığı belirlenmiştir (Yoshiya ve ark, 2015). Apelin ve APJ'nin insan karaciğer Kupffer hücrelerinde eksprese edildiği ve karaciğer fibrozisi ile sirozun ilerlemesine katkıda bulunduğu da gösterilmiştir (Melgar-Lesmes ve ark, 2010; Yokomori ve ark, 2011).

Apelin, obez ve insüline dirençli farelerde insülin duyarlılığını artırabilen bir peptit olarak ortaya çıkmıştır (Bertrand ve ark, 2015). Uzun süreli apelin uygulamasının, yağ dokusunun miktarında azalma sağladığı, buna karşılık iskelet kasında oksidatif kapasiteyi ve mitokondriyal biyogenezi desteklediği bildirilmektedir (Attané ve ark, 2012). Buna uygun olarak çalışmalar, apelin yoksunluğu bulunan farelerde belirgin bir insülin direncinin ortaya çıktığını göstermiştir. Ayrıca, bu duyarlılık kaybının, yüksek yağ ve yüksek şeker içeren bir diyetle beslenen farelerde daha da belirgin hale geldiği bildirilmiştir (Yue ve ark, 2010). Ayrıca apelin düzeyleri yüksek transgenik farelerde obezite gelişimine karşı koruyucu bir etki gözlenmiştir. Bu hayvanlarda iskelet kaslarının oksijen tüketim kapasitesinin yükseldiği ve mitokondriyal biyogenezin belirgin şekilde arttığı da rapor edilmiştir (Yamamoto ve ark, 2011). Apelin reseptörü olan APJ, aslında farelerde bazal koşullarda karaciğerde zayıf bir şekilde eksprese edilir (Dray ve ark, 2008; O'Carroll ve ark, 2013). İnsanlar üzerinde yapılan incelemelerde siroz başta olmak üzere ciddi karaciğer hastalıklarında hepatik yıldız hücrelerinde APJ ekspresyonunun anlamlı ölçüde arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, başka araştırmalar da ilerlemiş karaciğer patolojilerinde yıldız hücrelerindeki APJ düzeylerinin yükseldiğini doğrulayarak bu artışın hastalığın fibrotik süreçleriyle ilişkili olabileceğine işaret etmektedir (Yokomori ve ark, 2011). Böylece apelin/APJ sisteminin hem karaciğer dokusunda fibrotik süreçlerin gelişimiyle hem de damar yapısının yeniden düzenlenmesiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Bertrand ve ark, 2018). Farklı sebeplere bağlı olarak meydana gelen karaciğer hasarında apelin ve APJ'nin rollerini araştıran çalışmalar literatürde de fazla bulunmamaktadır.

FAS yolaklarının tetiklendiği karaciğer hasarı modeli kullanılan farelerde, karaciğerde apelin ve APJ'ye ait mRNA düzeylerinde belirgin bir artış meydana geldiğini rapor etmiştir. APJ eksikliği bulunan farelerde karaciğer hasarının ve apoptoza ilişkin değişikliklerin dikkate değer ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, FAS agonisti Jo2 ile uygulaması sonrası yaban tipi farelerde belirgin biçimde aktive olan JNK'nın bu APJ yokluğu durumunda neredeyse tamamen baskılandığı gözlenmiştir (Yasuzaki ve ark, 2013). Bu durumda apelin/APJ sinyallemesinin en azından kısmen JNK aktivasyonu yoluyla FAS kaynaklı karaciğer hasarını kolaylaştırabileceğini göstermektedir.

Karaciğer rejenerasyonu, belirli uyaranların neden olduğu adaptif bir büyüme sürecidir ve esas olarak hepatositler başta olmak üzere karaciğer hücrelerinin çoğalması esasına dayanır (Chen ve ark, 2011). Apelin/APJ sisteminin bloke edildiği durumların fare karaciğer rejenerasyonunu desteklediği bildirilmiştir. APJ antagonisti bir peptit olan F13A kullanılarak apelin/APJ sisteminin bloke edilmesi hepatositlerin çoğalmasını desteklemiş, karaciğer rejenerasyonunun erken evresinde Kupffer hücrelerinin aktivasyonunu destekleyerek TNF- α ve IL-6 salgılanmasını artırmış ve hepatektomi yapılan fare modellerinde terapötik etkiler göstermiştir (Yoshiya ve ark, 2015). Böylece apelin/APJ sistemi karaciğer dokusundaki hasar yanıtı ve yenilenme süreçlerinde önemli bir düzenleyici olarak ortaya çıkmakta olup, bu nedenle karaciğer hasarının azaltılması ve rejeneratif kapasitenin desteklenmesine yönelik tedavi stratejileri için umut vadeden bir hedef olarak değerlendirilmektedir (Lv ve ark, 2017).

Apelin/APJ ekseninin, çeşitli biyolojik yollar üzerinden bazı karaciğer hastalıklarında görülen yangısal süreçleri modüle edebildiği düşünülmektedir. Kimyasal olarak oluşturulmuş hipoksik koşullara maruz bırakılan sıçan karaciğerinde apelin düzeylerinin belirgin biçimde yükseldiği ve HepG2 hücrelerinin canlılığının anlamlı ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ancak apelin uygulanmasını takiben hücresel durumun belirgin şekilde düzeldiği ve bu olumsuz etkilerin kısmen geri döndüğü gözlemlenmiştir (Wang ve ark, 2022).

2.4.3. Apelin/APJ'nin Aşağı ve Yukarı Akış Faktörleri

Apelin/APJ yolunun, boğmaca toksinine duyarlı G proteinleri üzerinden işlediği ve hem hücre kültürlerinde hem de fare dokularında protein kinaz C aktivasyonunu tetiklediği ortaya konmuştur (Liu ve ark, 2015; Masri ve ark, 2002). Apelin-36, apelin-13, apelin-17 ve pyr¹Apelin-13, forskolin kaynaklı siklik adenosin monofosfat üretimini inhibe ederek protein kinaz A yolu tarafından üretilen çeşitli biyolojik etkileri bloke eder (De Mota ve ark, 2000; Habata ve ark, 1999; Medhurst ve ark, 2003). Hem apelin-36 hem de apelin-13 aynı hücre içi efektörleri aktive edebilir. Ancak desensitizasyon kalıplarında ve bağlı G proteinlerinde farklılıklar vardır (Masri ve ark, 2006). Araştırmalar, apelinin APJ reseptörüne bağlanmasının, birçok hücrede hücre çoğalması ve göç gibi aktiviteleri tetikleyerek protein kinaz B ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) yollarının

fosforilasyonunu artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca Akt sinyalleme yolunun hücre göçüne katkıda bulunduğu gösterilmiştir. ERK/Akt-p70S6K yolu hücre çoğalmasına katkıda bulunur. Bu yolla K-opioid reseptörleri ile bir heterodimerin oluştuğu ve bunun ERK fosforilasyonuna yol açarak hücre çoğalmasının artmasına neden olduğu gösterilmiştir (Chaves- Almagro ve ark, 2015; Li ve ark, 2012).

APJ/apelin eksenini, NF- κ B/c-Jun N-terminal kinaz (JNK) sinyal yolunu kullanarak hücreler arası adhezyon moleküllü-1'in artmasını sağlar (Lu ve ark, 2010). Ayrıca, kısmi hepatektomi sonrası ve spesifik bir APJ antagonisti olan ekzojen F13A verildikten sonra, karaciğer rejenerasyonunun STAT3 ve ERK1/2'nin güçlendirilmesiyle arttığı, ancak fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt sinyallemesinin artmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, apelin/APJ'nin farelerde kısmi hepatektomiden sonra hepatosit çoğalmasını engellediğini göstermektedir. Ayrıca, apelinin osteoblastlarda hücre apoptozunu engellediği de gösterilmiştir. Anti-apoptotik aileye bulunan Bcl2 protein ekspresyonunun indüklenmesi, PI3K/Akt sinyal yolunun aktive olması ile sağlanır (Alastalo ve ark, 2011; Xie ve ark, 2007)

Karaciğer dokularında apelin/APJ artışının hipoksi ile birlikte meydana geldiği gösterilmiştir. Araştırmalar, insülin, TNF- α , all-trans-retinoik asit ve hipoksik koşulların hem in vivo hem de in vitro ortamda apelin düzeylerini artırabildiğini göstermektedir. Ayrıca, bazı transkripsiyon faktörlerinin apelin geninin transkripsiyonu ve ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ancak farklı dokularda veya hücrelerde apelin/APJ ekspresyonu aynı uyarıcı etki ile farklı seviyelere sahiptir (Melgar-Lesmes ve ark, 2011). Hipoksik ortamda, hipoksiye duyarlı faktör-1 α , apelin geninin birinci intronuna ve promotördeki hipoksiye yanıt veren bölgeye bağlanarak apelin üretiminin artmasını sağlar (Ronkainen ve ark, 2007; Eyries ve ark, 2008). Araştırmalar, apelin promotörünün transkripsiyonel aktivitesinin gelişmekte olan kardiyovasküler sistemde endotelial miyosit güçlendirici faktör 2 aracılığıyla yükseldiğini, buna karşın HepG2 hücrelerinde ATF4 tarafından baskılandığını göstermektedir (Jeong ve ark, 2014; Kang ve ark, 2013).

2.4.4. Apelin/APJ'nin Karaciğer Fizyolojisi ve Patofizyolojisindeki Rolü

Karaciğerde apelin/APJ eksenini, rejenerasyon sürecinde baskılayıcı bir etkiye bulunabilir ve Fas aracılı apoptozu artırabilir. Bu sistem, hepatik fibrozis, sirozis ve hatta karaciğer kanseri gelişiminde rol oynayabilir. Apelin/APJ sinyali, JNK yolunu aktive ederek Fas kaynaklı karaciğer hasarını güçlendirebilir. APJ eksikliği bulunan farelerde, karaciğerdeki apoptoz ve doku hasarının vahşi tip farelere kıyasla belirgin şekilde azaldığı ve JNK aktivasyonunun ciddi ölçüde baskılandığı gözlemlenmiştir (Yasuzaki ve ark, 2013). Araştırmalar, apelin ile TNF- α arasındaki etkileşimin karaciğer rejenerasyonunun ilerleyişinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir (Fausto ve ark, 2012). Ayrıca ekzojen apelin uygulamasının sıçanlarda hepatik iskemi reperfüzyon hasarını hafiflettiğini bildirmiştir. Bu bulgular, apelin/APJ sisteminin karaciğer rejenerasyon sürecinde rol oynadığını düşündürmektedir (Sağiroğlu ve ark, 2012).

Karbontetraklorür verilerek fibrozis modeli oluşturulan sıçanlarda apelin/APJ'nin bu süreci hızlandırabileceği ifade edilmiştir (Reichenbach ve ark, 2012). Benzer olarak hepatik yıldız hücrelerinde, hipoksi veya proinflatuar uyarılar altında apelin düzeylerinin yükseldiği ve apelin uygulamasının LX-2 hücrelerinde trombosit kaynaklı büyüme faktörü β reseptörü ile kolajen-I üretimini artırabileceği bildirilmiştir (Melgar-Lesmes ve ark, 2011). Hepatik yıldız hücrelerinde APJ ekspresyonunun PDGF- β tarafından arttığı gösterilmiştir (Yokomori ve ark, 2011).

Yapılan klinik araştırmalarda, serum apelin düzeyinin kronik karaciğer hastalığının histolojik ve hemodinamik durumlarıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir (Lim ve ark, 2016). Hipotalamik apelin seviyesinin yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde hepatik glikoz metabolizmasını düzenlediğini bildirmiştir (Drougard ve ark, 2014). Ayrıca insanlarda alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında plazma apelin-12 düzeyleri sağlıklı bireylere göre daha yüksektir. Apelin düzeyleri ayrıca karaciğer metabolik hastalığında homeostaz modeli değerlendirme indeksi ve vücut kitle indeksi ile pozitif korelasyon göstermiştir (Lv ve ark, 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu tez çalışmasına, Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, etik açıdan uygunluk onayıyla (Ek-1) başlandı. Çalışma materyalini, Balıkesir Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim, Bakım, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen erkek, 4 haftalık, 12 ± 5 gram ağırlığında, 32 adet BALB/c fare oluşturdu. Fareler tüm çalışma boyunca %60-65 nemin ve 22 ± 2 °C sıcaklığın muhafaza edildiği ortamda plastik kafeslerin içerisinde, 12'şer saatlik aydınlık/karanlık periyodu altında barındırıldı. Fareler rastgele her grupta 8 hayvan bulunan 4 gruba ayrıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Dört farklı gruba ayrılmış kafeslerdeki fareler.

Gruplar kontrol, alkol, yüksek yağlı diyet (YYD) ve alkol+ YYD grubu olarak isimlendirildi. Çalışma grupları ve uygulamalar **Tablo 3.1**'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda yer alan deneklere sadece çeşme suyu ve ticari fare yem *ad libitum* olarak verildi. Alkol grubu denekleri %20 etanol içeren çeşme suyu ve ticari yem ile beslendi. YYD grubu deneklerine çeşme suyu ve ticari yem verilirken, alkol+ YYD grubuna ise %20 etanol içeren çeşme suyu ve yüksek yağlı yem verildi. Tüm bu uygulamalar 8 hafta boyunca sürdürüldü. Deneklerin haftada bir gün olacak şekilde ağırlıkları ve grupların kilo ortalamaları ölçüldü.

Tablo 3.1. Çalışma grupları ve uygulamalar.

Grup Adı	Uygulama
Kontrol	Çeşme suyu ve ticari fare yemi
Alkol	%20 etanol ve ticari fare yemi
Yüksek yağlı diyet (YYD)	Çeşme suyu ve % 24 yüksek yağlı yem
Alkol+Yüksek yağlı diyet (Alkol+YYD)	%20 etanol ve %24 yüksek yağlı yem

Tablo 3.2. Yüksek yağlı diyetin besin yapı taşları ve kalori değerleri.

Besin Yapı Taşları	gr (%)	kcal %
Protein	24	20
Karbonhidrat	41	35
Yağ	24	45
Total kcal/gr	4.73	

Çalışmada kullanılan yüksek yağlı yem Arden Yem Sanayi Araştırma Deney Ticaret Limited Şirketi Ankara/Türkiye firmasından temin edilmiş olup yeme ait besin bilgileri **Tablo 3.2**'de yem içeriği bilgileri **Tablo 3.3**'de sunulmuştur.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan yüksek yağlı yemin yem içeriği.

Yem İçeriği	gr (%)	kcal %
Kazein, 90 Mesh	200	800
L-Sistin	3	1.2
Mısır Nişastası	93.5	374
Maltodekstrin	100	400
Sükroz	0	0
Fruktoz	152	608
Selüloz, BW200	50	0
Mısır Yağı	25	225
Tereyağı	177.5	1598
Mineral Karışımı S10026	10	0
Dikalsiyum Fosfat	13	0
Kalsiyum Karbonat	5.5	0
Potasyum Sitrat, 1 H ₂ O	16.5	0
Vitamin Karışımı V10001	10	40
Kolin Bitartrat	2	0
Fdc	0.05	0
Total	858.15	4057

3.2. Hayvan Deneyinin Sonlandırılması ve Numunelerin Toplanması

Deney hayvanlarının ötenazileri gerçekleştirilmeden önce 8 haftalık beslenme periyodu sonrasında boy ve kiloları ölçülerek kayıt altına alındı. Denekler isofluranla (Isoflurane Usp %100, ADEKA) oluşturulan inhalasyon anestezisi altında dekapitasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Anestezisi altında her bir denekten serum tüplerine intrakardiyak kan örnekleri alındı, +4°C’de 30 dakika bekletildi, 10 dk 5000 rpm’de santrifüj edildi ve kan serumları elde edildi. Elde edilen serumlar, analizler gerçekleştirilene kadar -20°C’de saklandı.

Ötenazileri gerçekleştirilen hayvanlardan karaciğer dokuları alındı, makroskopik olarak herhangi bir patolojinin olup olmadığını değerlendirmek amacıyla muayene edildi ve ağırlıkları tartılarak kayıt altına alındı. Karaciğer dokularının bir kısmı biyokimyasal ve moleküler analizler için -80°C’de, kalan kısmı ise histopatolojik analizler için %10’luk nötral tamponlu formaldehit solüsyonuna alınarak, analizler gerçekleştirilene kadar muhafaza altına alındı.

3.3. Kan Serum Analizleri

Deneklerden elde edilen serum örneklerinde ALT ve AST seviyeleri otoanalizör (Randox RX Imola) ile ölçüldü.

3.4. Karaciğer Oksidatif Stres Analizleri

Deneklerden elde edilen karaciğer dokularında total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan seviye (TAS) tespit etmek amacıyla dokular ISOLAB 62L1L001 cihazında homojenize edildi ve sonrasında 5000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Ardından TAS seviyelerini belirlemek amacıyla Rel Assay Diagnostics firmasının RL0017 referans numaralı Total Antioxidant Status Assay Kit solüsyonu, TOS seviyelerini belirlemek amacıyla Rel Assay Diagnostics firmasının RL0024 referans numaralı Total Oxidant Status Assay Kit solüsyonları kullanılarak test süreci tamamlandı. Elde

edilen TAS ve TOS verilerinden örneklere ait oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri TAS değerinin TOS değerine bölünmesi ile hesaplandı.

3.5. Histopatoloji

Nötral tamponlu %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edilmesinin ardından karaciğer dokuları, akar durumdaki şebeke suyu altında 16 saat süreyle yıkamaya bırakıldı. Yıkamanın ardından doku takip cihazına (Leica TP1020) yerleştirilen dokular alkol, ksilen ve parafin istasyonlarından geçirildi ve doku bloklama cihazı (Leica, HistoCore Arcadia H-C) vasıtasıyla parafin blok içerisine alındı. Parafin bloklardan mikrotomla (Leica 2255) 4 µm kalınlığında kesitler kesilerek lam üzerine alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan doku örnekleri Hematoksilen ve Eozin (HE) ile boyanarak, ışık mikroskobunda (Nikon Eclipse Ni-U) değerlendirildi. Herbir deneğe ait karaciğer kesitleri rastgele beş farklı alandan seçilerek 20x objektif altında incelenerek fotoğraflandı (DS-Ri2, Nikon).

Histopatolojik skora dokularda dejenerasyon, nekroz ve steatozisin varlığı kriterlerine dayanarak yapıldı. Bu değişiklikler yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak semikantitatif olarak skorlandı. Sonrasında herbir deneğe ait bu skorlar toplanarak, ilgili hayvana ait bireysel histopatoloji skoru hesaplandı. Herbir gruba ait histopatoloji skoru istatistiksel olarak belirlendi.

3.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Karaciğer doku kesitlerinde apelin ve APJ ekspresyonlarını belirlemek amacıyla avidin- biyotin peroksidaz boyama yöntemi kullanıldı. Bu amaçla, parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve polilizinli lamalar üzerine yerleştirildi. Kesitler boyamadan bir gece önce etüve konularak bekletildi, sonrasında ksilen aracılığıyla deparafinizasyon, alkol aracılığıyla rehidrasyon işlemlerinden geçirildi. Fosfat buffer solüsyonuyla (PBS) yıkamanın ardından %0.3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 7 dakika bekletilerek, dokular üzerindeki endojen peroksidaz aktivitesi inaktive edildi. Tekrar PBS yıkama yapıldı. Tespit esnasında oluşan çapraz bağlar nedeniyle erişimi kısıtlanmış antijenlerin açığa çıkarılması amacıyla lamalar sitrat

buffer (pH 6.0) solüsyonu içerisine aktararak, mikrodalga fırında (800 W) 7 dakika ısıya maruz bırakıldı. Ardından lamalar solüsyon içerisinde oda sıcaklığında soğutularak tekrar PBS ile yıkandı. Spesifik olmayan reaktiviteyi engellemek amacıyla doku kesitlerine nonimmün serum (Ultra V Block, ThermoFisher, TA-125-UB) damlatılarak 30 dakika bekletildi. Doku kesitlerinin üzerine anti-apelin ve anti-APJ antikorları **Tablo 3.4**'de belirtilen oranlarda PBS ile seyreltilerek damlatıldı ve oda sıcaklığında 1 saat inkubasyona bırakıldı. PBS ile yıkama işlemlerinin ardından dokular, biyotinli sekonder antikorla (Biotinylated Goat anti Polyvalent, ThermoFisher, TP-125-BN) oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. PBS ile (3x5 dakika) tekrar yıkanan kesitlere, streptavidin peroksidaz (Streptavidin Peroxidase, ThermoFisher, TS-125-HR) eklenerek 30 dakika muamele edildi. Tekrar PBS ile yıkama işleminin ardından dokular üzerine kromojen (DAB, Cell Signaling, 8090S) damlatılarak renk oluşumu gözlemlendi ve en fazla 2 dakika süresince beklendi. Distile suyla reaksiyon sonlandırması yapıldı ve ardından kesitler 2 dakika 40 saniye boyunca Mayer's Hematoksilen içerisine daldırıldı. Şebeke suyuyla yapılan yıkamanın ardından lamalar sırasıyla derişimi artarak giden alkol (%70-80-96-100-100) içerisine daldırıldı, sonrasında iki farklı ksilen istasyonundan geçirildi ve entellan vasıtasıyla lamelle kapatıldı.

Her deneğe ait kesitten, 20x objektif altında 5 farklı alan rastgele seçilerek fotoğraflandı (DS-Ri2, Nikon). Fiji ImageJ (2.12.0) yazılımı kullanılarak, immun reaksiyon gösteren pozitif alanın toplam alana yüzdelik oranı hesaplandı. Beş farklı sahanın yüzdelik oranlarının ortalama değeri, incelenen deneğin immunohistokimyasal skorunu oluşturdu.

Tablo 3.4. İmmunohistokimyasal boyamada kullanılan primer antikorlar ve dilüsyonları.

Antikor	Dilüsyon	Üretici	Ürün/Katalog No
Apelin	1/150	Proteintech	11497-1-AP
APJ	1/300	Proteintech	20341-1-AP

3.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiki analizleri Kruskal–Wallis testi kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm veri setlerinin normal dağıldığının tespiti üzerine, grup ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkların bulunup bulunmadığı, Post-hoc Mann–Whitney U testleri Holm düzeltmesi kullanılarak belirlendi. İstatistiksel anlamlılık eşiği $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Kilo ve Karaciğer Organ Ağırlıkları

Deneklere ait boy ve kilo artışlarının haftalık ortalamaları **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir. Deney sonunda deneklerin karaciğer ve relatif organ ağırlıkları **Tablo 4.2**'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Deney hayvanlarının deney sonundaki kilo ve boy uzunlukları ile Li indeksi değerleri.

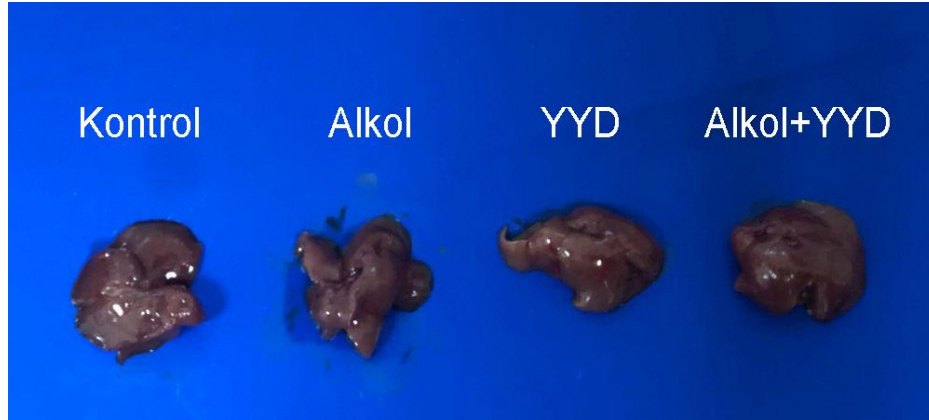
	Kontrol	Alkol	YYD	Alkol+YYD
Vücut Ağırlığı (gr) (n=8)	29.14	22.82	32.32	35.98
	26.06	25.97	30.71	35.20
	25.11	22.79	28.05	31.80
	21.65	23.16	28.24	26.99
	27.64	22.61	31.33	31.68
	23.68	20.75	31.40	30.15
	24.62	21.47	29.38	31.68
	24.73	23	30.53	28.68
Boy Uzunluğu (cm) (n=8)	9	8.5	9.6	10
	9	9	9	9.5
	8.5	8	9.5	9
	8.5	8	9.5	8.5
	9	7.5	10	9.5
	8	8	9.5	9
	8.5	8	9	8.5
	8.5	8.5	10	9
Li İndeksi (n=8)	3.41	3.33	3.31	3.30
	3.29	3.29	3.47	3.44
	3.44	3.54	3.19	3.52
	3.27	3.56	3.20	3.52
	3.35	3.77	3.15	3.33
	3.58	3.43	3.20	3.45
	3.42	3.47	3.42	3.72
	3.42	3.34	3.12	3.40
Li İndeksi (Ortalama)	3.39	3.46	3.25	3.46

Tablo 4.2. Deney sonunda deneklerin karaciğer ve relatif organ ağırlıkları.

	Kontrol	Alkol	YYD	Alkol+YYD
Karaciğer ağırlığı (gr) (n=8)	1.72	1.23	1.66	1.75
	1.25	1.40	1.42	1.70
	1.13	1.33	1.20	1.55
	1.06	1.45	1.29	1.09
	1.35	1.3	1.28	1.48
	1.34	1.49	1.53	1.70
	1.26	1.21	1.24	1.53
	1.14	1.49	1.43	1.48
Relatif Organ Ağırlığı (n=8)	5.90	5.39	5.13	4.86
	4.79	5.39	4.62	4.82
	4.50	5.83	4.27	4.87
	4.89	6.26	4.56	4.03
	4.88	5.74	4.08	4.67
	5.65	7.18	4.87	5.63
	5.11	5.63	4.42	4.82
	4.60	6.47	4.68	5.17
Relatif Organ Ağırlığı (Ortalama)	4.91	5.98	4.57	4.85

4.2. Makroskopik Bulgular

Tüm grupların karaciğer dokularının makroskopik bakışında herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Tüm deneklerin karaciğerlerinin kontrol grubuna benzer şekilde normal görünüm, boyut ve ağırlıkta olduğu görüldü (**Şekil 4.1**).



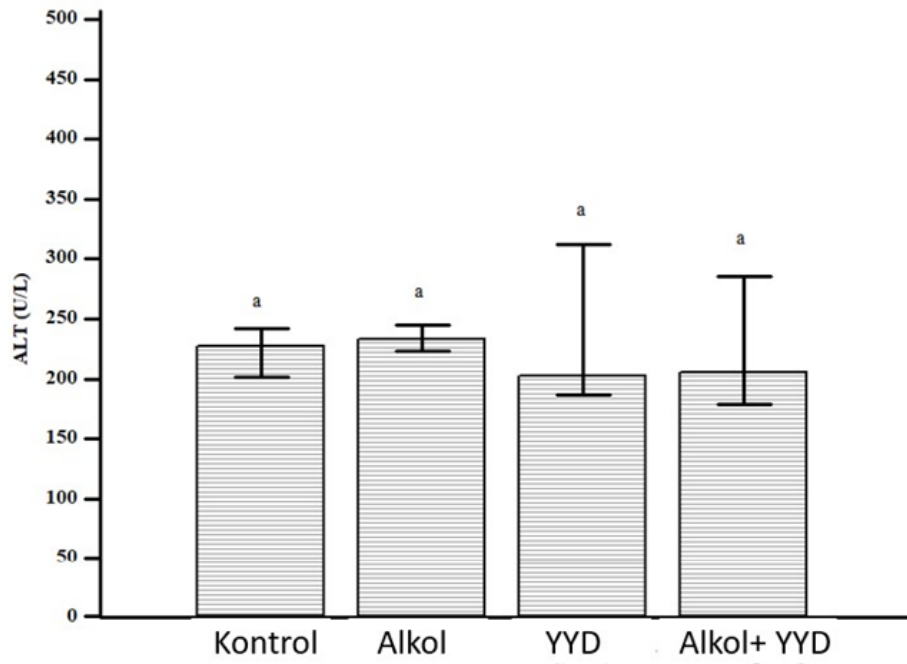
Şekil 4.1. Gruplara ait karaciğer makroskopik görüntüleri.

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Gruplara ait kan serumlarındaki ortalama ALT seviyeleri **Tablo 4.3** ve **Şekil 4.2**'de, AST seviyeleri **Tablo 4.4** ve **Şekil 4.3**'de, gruplara ait trigliserid düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri ve gruplar arası trigliserid seviyeleri **Tablo 4.5** ve **Şekil 4.4**'de gösterilmiştir. Karaciğer dokularındaki total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) değerleri ve tüm gruplar arasında ALT, AST ve trigliserid seviyeleri için anlamlı bir farklılığın olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tablo 4.3. Deneklere ait ortalama serum ALT seviyeleri (U/L) ve Post-hoc analiz sonuçları.

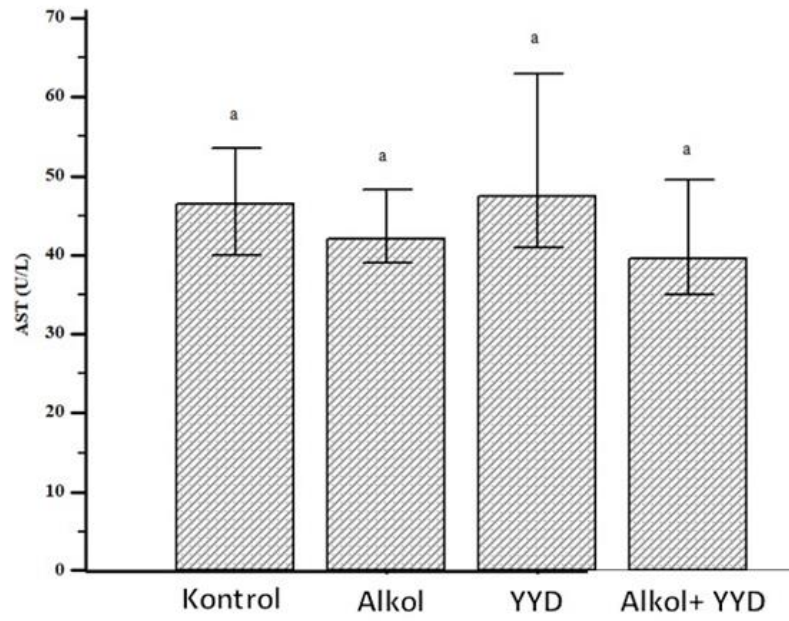
Grup	Medyan (25–75p)	Min–Maks
Kontrol	227.0 (201.5–242.5) ^a	181 – 298
Alkol	233.5 (223.5–245) ^a	205 – 301
YYD	203.0 (186.5–312.5) ^a	152 – 449
Alkol+YYD	205.5 (179–285.5) ^a	151 – 367



Şekil 4.2. Deneklerin serum ALT değerleri.

Tablo 4.4. Deneklere ait ortalama serum AST seviyeleri (U/L) ve Post-hoc analiz sonuçları.

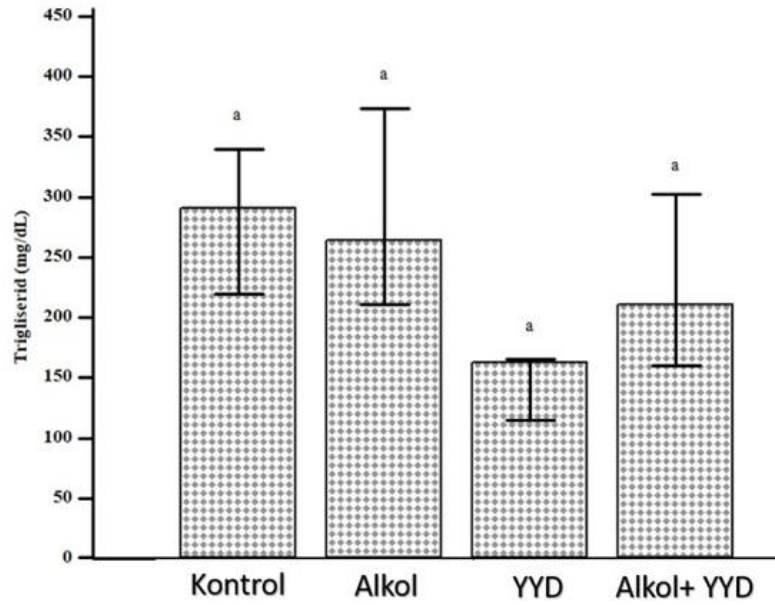
Grup	Medyan (25–75p)	Min-Maks
Kontrol	46.5 (40.0–53.5) ^a	36 – 56
Alkol	42 (39.0–48.3) ^a	36 – 57
YYD	47.5 (41.0–63.0) ^a	28 – 78
Alkol+YYD	39.5 (35.0–49.5) ^a	32 – 62



Şekil 4.3. Deneklerin serum AST değerleri.

Tablo 4.5. Gruplara göre trigliserid düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri.

Grup	Medyan (25–75p)	Min–Maks
Kontrol	290.5 (220.0–339.5) ^a	182 – 514
Alkol	264.0 (210.5–373.75) ^a	141 – 385
YYD	163.0 (115.0–165.0) ^a	103 – 323
Alkol+YYD	211.0 (160.0–302.0) ^a	137 – 459



Şekil 4.4. Deneklerin trigliserid değerleri.

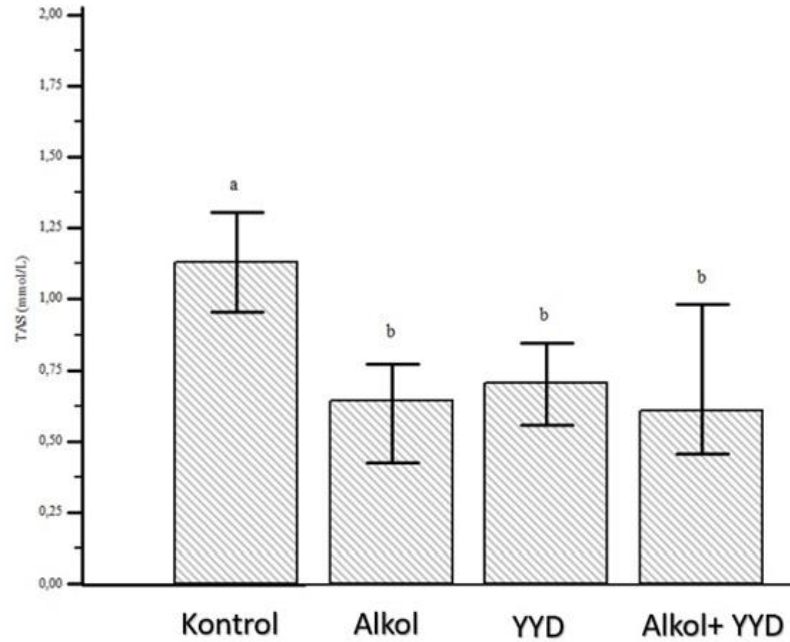
Karaciğer dokularından elde edilen TAS değerleri **Tablo 4.6** ve **Şekil 4.5'**de TOS değerleri **Tablo 4.7** ve **Şekil 4.6'**da sunulmuştur. TAS ve TOS verilerinden hesaplanarak elde edilen OSİ değerleri **Tablo 4.8** ve **Şekil 4.7'**de gösterilmiştir. TAS seviyeleri alkol, YYD ve alkol+YYD gruplarında kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Ancak alkol, YYD ve alkol+YYD grupları arasında anlamlı farklılık belirlenmedi ($p>0.05$). TOS seviyeleri ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında alkol ve alkol+YYD gruplarında anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Her ne kadar YYD grubunun TOS seviyesi kontrol grubundan yüksek olsa

da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Alkol, YYD ve alkol+YYD grupları arasında TOS seviyeleri bakımından anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0.05$). OSİ değerlerinin ise alkol, YYD ve alkol+YYD gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$).

Tablo 4.6. Gruplara ait karaciğer TAS değerleri ($\mu\text{mol/L}$).

Grup	Medyan (IQR, 25–75p)	Min–Maks
Kontrol	1.132 (0.954–1.305) ^a	0.917 – 1.330
Alkol	0.642 (0.424–0.772) ^b	0.355 – 0.935
YYD	0.705 (0.558–0.846) ^b	0.415 – 0.992
Alkol+YYD	0.610 (0.456–0.981) ^b	0.326 – 0.991

^{a,b} Aynı kolonda yer alan farklı gruplara ait farklı üst simgeler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olduğunu gösterir ($p<0.05$).

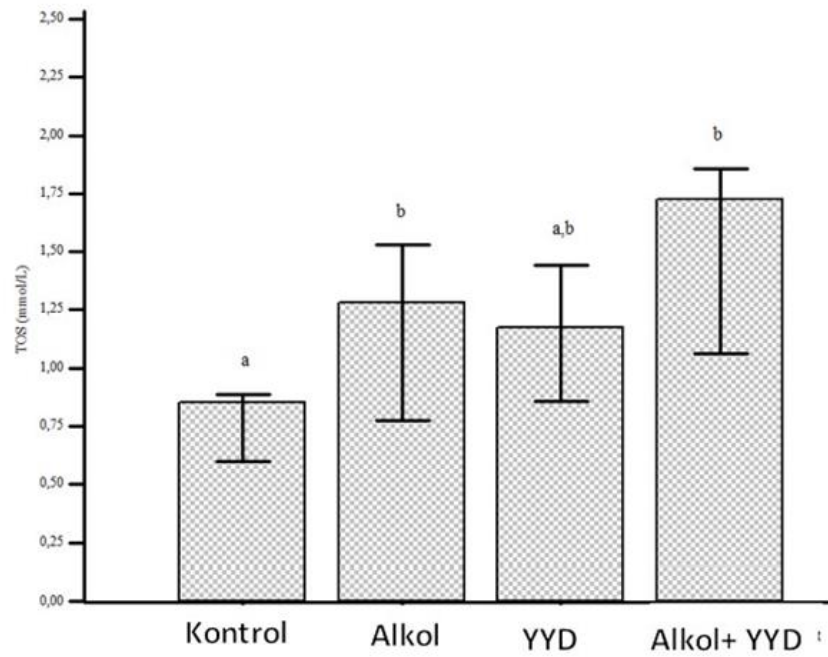


Şekil 4.5. Gruplara ait TAS değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.7. Gruplara ait karaciğer TOS değerleri (μmol/L).

Grup	Medyan (IQR, 25–75p)	Min–Maks
Kontrol	0.852 (0.600–0.889) ^a	0.564 – 1.068
Alkol	1.284 (0.773–1.532) ^b	0.549 – 1.812
YYD	1.174 (0.855–1.444) ^{ab}	0.673 – 1.537
Alkol+YYD	1.726 (1.060–1.857) ^b	0.861 – 3.872

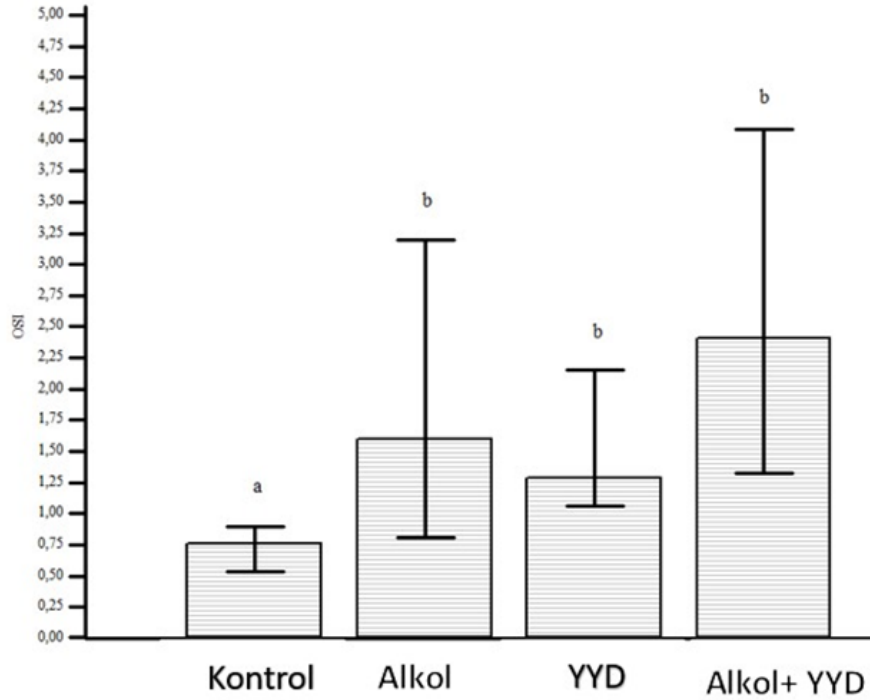
^{a,b} Aynı kolonda yer alan farklı gruplara ait farklı üst simgeler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olduğunu gösterir (p<0.05).



Şekil 4.6. Gruplara ait TOS değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.8. Gruplara ait karaciğer OSİ değerleri.

Grup	Medyan (IQR, 25-75p)	Min-Maks
Kontrol	0.758 (0.540–0.900) ^a	0.424 – 0.932
Alkol	1.603 (0.812–3.196) ^b	0.116 – 4.310
YYD	1.291 (1.067–2.156) ^b	0.780 – 2.679
Alkol+YYD	2.409 (1.328–4.079) ^b	0.869 – 11.871

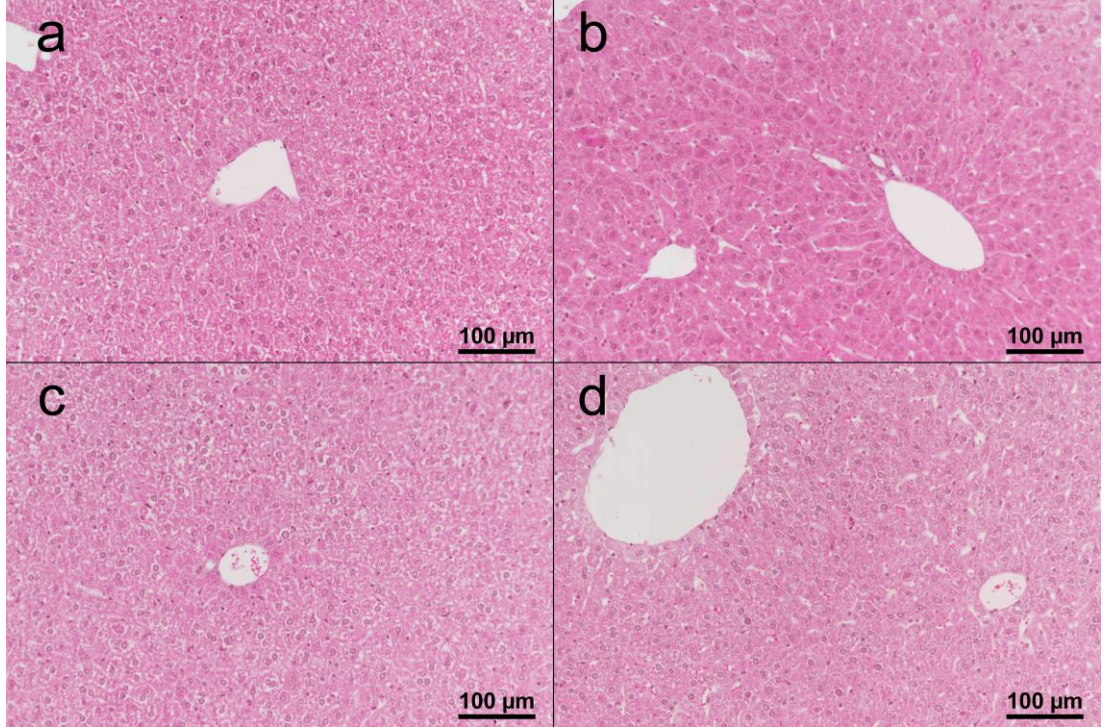


Şekil 4.7. Gruplara ait OSİ değerlerinin karşılaştırılması.

4.4. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubundaki hayvanların karaciğer dokularının normal histomorfolojik yapıya sahip oldukları gözlemlendi (Şekil 4.8a). Alkol grubundaki deneklerin karaciğerinde ağırlıklı olarak perisentral bölgede hafiften orta dereceye kadar değişen

hidropik dejenerasyon ve nekroz ile hafif derecede yağlanma gözlemlendi (**Şekil 4.8b**). YYD grubundaki deneklerde özellikle vena sentralis çevresinde hafif derecede hidropik dejenerasyon ve nekroz ile birlikte orta derecede steatozis belirlendi (**Şekil 4.8c**). Alkol+YYD grubundaki deneklerin karaciğerlerinde özellikle perisentral bölgede orta seviyede dejeneratif değişiklikler gözlemlenirken hafif şiddette steatozis görüldü (**Şekil 4.8d**).



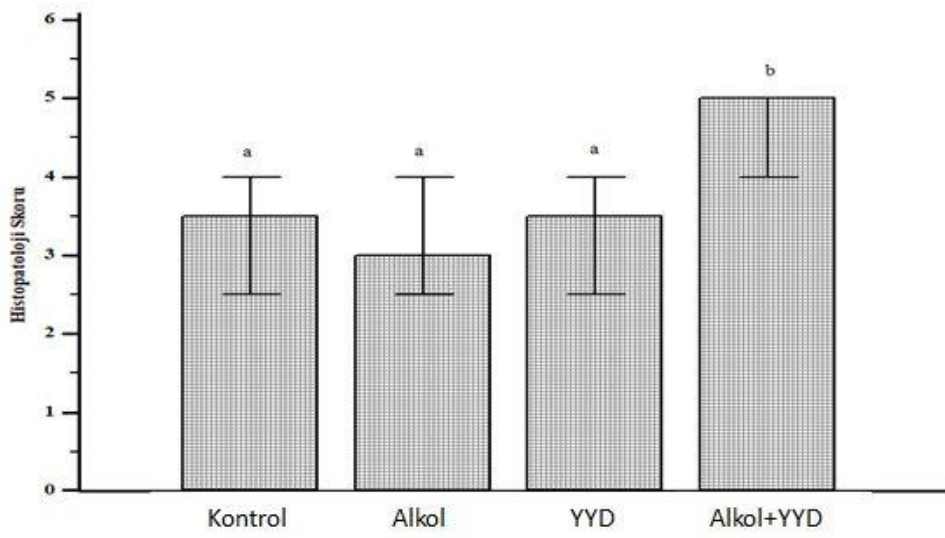
Şekil 4.8. Karaciğer histopatolojisi. a: Kontrol, b: Alkol c: YYD, d: Alkol+YYD.

Alkol+YYD verilen deneklerde diğer gruplarla karşılaştırıldığında karaciğerde artmış dejenerasyon, nekroz ve steatozis. HE

Karaciğerlerin histopatolojik incelemesine dair gruplara göre histopatolojik skorlarının tanımlayıcı istatistikleri ve gruplara göre hasar skorlarının dağılım grafiği **Tablo 4.9** ve **Şekil 4.9**'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Gruplara göre histopatoloji skorlarının tanımlayıcı istatistikleri.

Grup (n=8)	Medyan (25–75p)	Min–Maks
Kontrol Grubu	3.5 (2.3–4.0) ^a	2–5
Alkol Grubu	3.0 (2.3–4.0) ^a	2–4
YYD	3.5 (2.3–4.0) ^a	2–5
Alkol + YYD	5.0 (4.0–5.0) ^b	4–6



Şekil 4.9. Gruplara göre histopatoloji skorlarının dağılım grafiği.

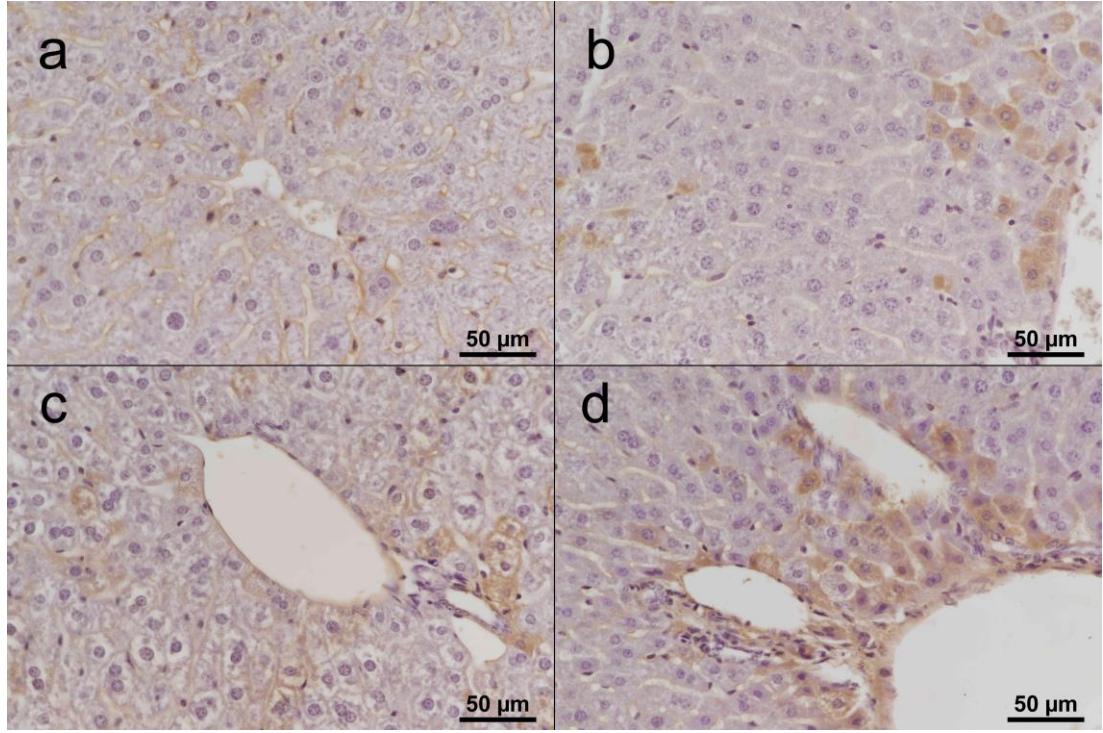
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.5.1. Apelin İmmunoreaktivitesi

Apelin immunoreaktivitesi genel olarak hepatositlerin sitoplazmalarında ve endotel hücrelerinin hem sitoplazma hem de çekirdeklerinde belirlendi. Çalışmadaki gruplara ait örnek apelin immunoreaktivitesi **Şekil 4.10**'da gösterilmiştir.

Kontrol grubundaki deneklerin karaciğer dokularında apelin immunoreaktivitesi az sayıda hepatositte ve hafif derecede gözlemlendi. Apelin immunoreaktivitesi hepatositler dışında endotel hücrelerinde hafif derecede görüldü (**Şekil 4.10a**). Alkol grubuna ait deneklerin karaciğer dokularında apelin immunoreaktivitesi ağırlıklı olarak vena sentralis çevresindeki hepatositlerin sitoplazmalarında ve ortadan şiddetli dereceye kadar değişen seviyelerde gözlemlendi (**Şekil 4.10b**). YYD grubuna ait deneklerin karaciğer dokularında apelin reaksiyonunun perisentral bölgedeki hepatositlerin sitoplazmalarında ve hafifden orta şiddete kadar değiştiği görüldü. Apelin immunoreaktivitesi hepatositler dışında endotel hücrelerinde de hafif derecede gözlemlendi (**Şekil 4.10c**). Alkol+YYD grubunun karaciğer dokularında apelin immunoreaktivitesinin hem hepatositlerin perilobüler bölgesinde hem de endotel hücrelerinde diğer gruplara göre belirgin derecede yüksek olduğu saptandı (**Şekil 4.10d**).

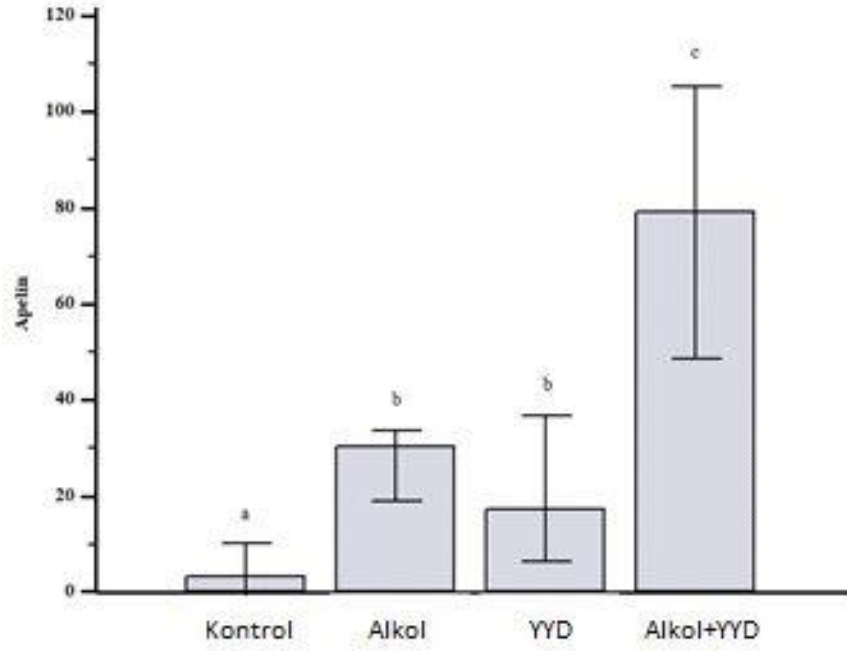
Gruplara göre apelin düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri ve apelin immunoreaktivitesinin tüm gruplar arasında skorlama sonuçları **Tablo 4.10** ve **Şekil 4.11**'de gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Karaciğerde apelin immunoreaktivitesi. a: Kontrol, b: Alkol, c: YYD, d: Alkol+YYD. İmmunohistokimya.

Tablo 4.10. Gruplara göre apelin düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri.

Grup	Medyan (25–75p)	Min–Maks
Kontrol	3.35 (0–10.3) ^a	0 – 14
Alkol	30.45 (18.6–35.6) ^b	5.6 – 108.3
YYD	17.35 (6.3–39.2) ^b	5.5 – 46.6
Alkol+YYD	79.20 (48.5–111.6) ^c	42.5 – 184.2



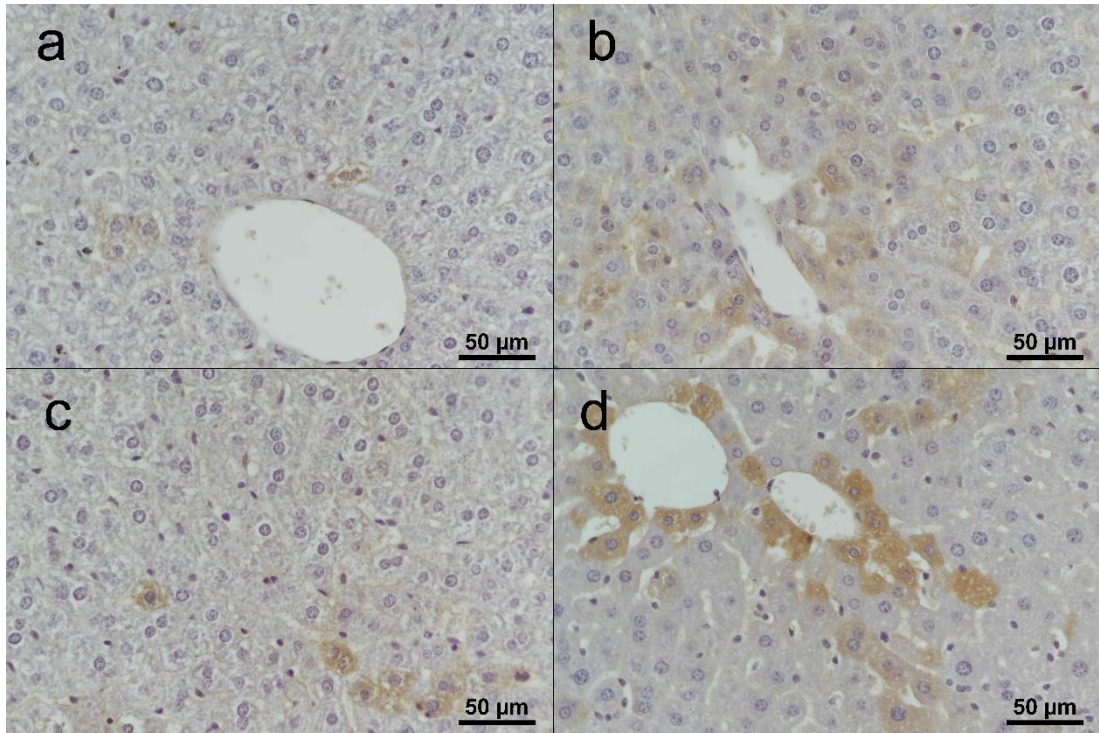
Şekil 4.11. Gruplara göre apelin immunohistokimyasal skoring sonuçları.

Kontrol grubu ile alkol grubu kıyaslandığında alkol grubunun apelin immunoreaktivitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Kontrol grubu ile YYD grubu karşılaştırıldığında YYD grubunun apelin seviyesinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Alkol+YYD grubunun apelin seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Alkol ve YYD grupları arasında apelin düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Alkol+YYD grubunun, alkol grubu ve YYD grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek apelin ekspresyonuna sahip olduğu belirlendi ($p<0.05$).

4.5.2. APJ İmmunoreaktivitesi

APJ immunoreaktivitesi ağırlıklı olarak vena sentralis çevresindeki hepatositlerin sitoplazmalarında ve endotel hücrelerinin hem sitoplazma hem de çekirdeklerinde belirlendi. Çalışmadaki gruplara ait örnek APJ immunoreaktivitesini gösteren bulgular **Şekil 4.12**'de verilmiştir.

Kontrol grubunda karaciğer dokusunda APJ immunoreaktivitesinin sınırlı sayıda hepatositte ve hafif düzeyde olduğu tespit edildi (**Şekil 4.12a**). Alkol ve YYD grubundaki deneklerin karaciğer dokularında APJ ekspresyonunun özellikle vena sentralis çevresindeki hepatositlerin sitoplazmalarında orta ile şiddetli derece arasında değişen yoğunlukta olduğu saptandı (**Şekil 4.12b-c**). Alkol+YYD grubunun karaciğer dokularında APJ immunoreaktivitesinin hem vena sentralis çevresindeki hepatositlerde hem de endotel hücrelerinde diğer gruplara kıyasla belirgin derecede yüksek olduğu belirlendi (**Şekil 4.12d**)

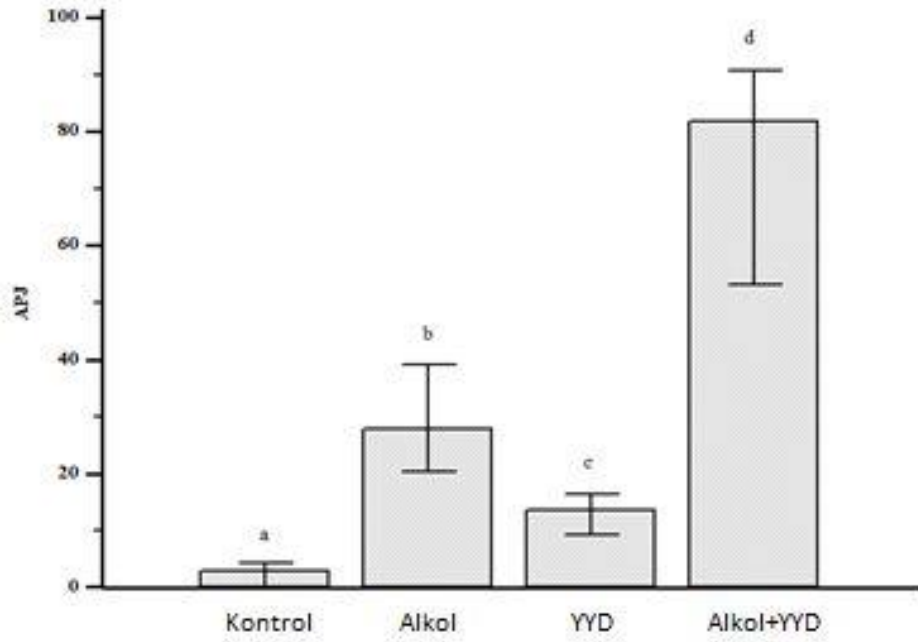


Şekil 4.12. Karaciğerde APJ immunoreaktivitesi. a: Kontrol, b: Alkol, c: YYD, d: Alkol+YYD. İmmunohistokimya.

Gruplara göre APJ düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri ve APJ immunoreaktivitesinin tüm gruplar arasında skorelama sonuçları **Tablo 4.11** ve **Şekil 4.13**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Gruplara göre APJ düzeylerinin tanımlayıcı istatistikleri.

Grup	Medyan (25–75p)	Min–Maks
Kontrol	3.06 (0–4.4) ^a	0 – 10.52
Alkol	27.86 (20.4–39.1) ^b	7.14 – 104.34
YYD	13.61 (9.2–16.4) ^c	0 – 30.76
Alkol+YYD	81.90 (53.2–90.8) ^d	34.44 – 124.59



Şekil 4.13. Gruplara göre APJ immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

Alkol grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında APJ immunoreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$). YYD grubunun, kontrol grubuna kıyasla APJ ekspresyonu anlamlı bir artış sergilemiş olmakla birlikte, bu artışın alkol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Alkol+YYD grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında APJ immunoreaktivitesinde belirgin bir artış görülmüş ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

($p<0.05$). Grupların kendi aralarındaki ikili karşılaştırmalar incelendiğinde, alkol grubu, YYD grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek APJ reaktivitesi sergilemiştir ($p<0.05$). Alkol+YYD grubu ise hem alkol grubuna hem de YYD grubuna kıyasla APJ reaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir ($p<0.05$).

5. TARTIŞMA

Obezite ve aşırı alkol tüketimi insanlarda karaciğer hasarı nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Obezite kompleks, heterojen karakterde gelişebilen, kronik ve ilerleyici bir hastalıktır (Lingvay ve ark, 2024). Lipid metabolizmasının merkezinde yer alan karaciğer, obezite ile ilişkili metabolik süreçlerde ciddi anlamda etkilenmektedir. Aşırı alkol tüketimi de karaciğer hasarı oluşturan önemli bir sağlık problemi olup uzun süreli ve çok miktarda kullanımı siroza kadar ilerleyebilir (Dukić ve ark, 2023). Psikolojik sebeplerle kronik alkol tüketimi sıklıkla obezite ile birlikte gelişebilir ve bu durum karaciğerde ciddi bozuklukların şekillenmesine yol açabilir. Obezite ve alkole bağlı patolojilerin mekanizmaları geniş ölçüde araştırılmış olsa da pek çok yeni molekülün keşfiyle bunların farklı organ ve hücrelerdeki etkileşimleri yeni araştırma alanları oluşturmakta, ayrıca terapötik potansiyelleri de dikkate alınmaktadır. Bu çalışmada farklı fizyolojik görevleri tanımlanan ve bazı patolojik süreçlerde rolleri olduğu bildirilen apelin ve onun reseptörü olarak fonksiyon gösteren APJ'nin alkol ve/ya yüksek yağlı diyetle beslenmeye bağlı karaciğer dokusundaki ekspresyonlarının araştırılması amaçlandı.

Apelin ve APJ yaygın olarak pek çok dokuda bulunmaktadır. Bu durum apelinin sistem olarak da bilinen apelin/APJ sisteminin pek çok fizyolojik süreçte rol alabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar bu sistemin kan basıncı, vücut sıvı homeostazı, endokrin stres yanıtı, kardiyak kasılma, anjiyogenez ve enerji metabolizması gibi önemli süreçlerde düzenleyici görevler üstlendiğini göstermiştir (Hu ve ark, 2021; Wysocka ve ark, 2018). Bu fizyolojik süreçler dışında yangı, kalp yetmezliği, obezite, diyabet ve kanser gibi patolojilerde de apelin/APJ sisteminin önemli görevler üstlenebileceğine yönelik kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır (Wang ve ark, 2022).

Apelinin adipositlerde yüksek seviyede salgılandığı bilinmektedir. Adipoz dokudan köken alan bu peptid pek çok önemli işlevlerde rol alabilecek bir adipokin olarak nitelendirilmektedir. Sıçanlarda apelinin beyin, kalp, akciğer, bağırsak, meme dokusu ve böbrekte yüksek mRNA ekspresyonu gösterdiği buna karşın karaciğer ve

dalakta ise düşük seviyede yer aldığı bildirilmiştir (Lee ve ark, 2000; O'Carroll ve ark, 2000). İnsanlarda benzer olarak apelin-17 ekspresyonunun karaciğerde nispeten düşük düzeyde olduğu bildirilmiş, benzer ekspresyon şekli böbrek ve pankreas için tanımlanmıştır (De Facto ve ark, 2002). Apelin ve APJ'nin çoğu dokuda birbiriyle benzer lokalizasyon şekli göstermesi apelinin hem otokrin hem de parakrin etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. Apelinin APJ ekspresyonunu indüklediği ve bu nedenle apelin ve APJ ekspresyonlarının dokularda benzer lokalizasyon gösterdiği düşünülebilir. Bununla birlikte istisnalar da söz konusu olup, testis dokusunda apelin ekspresyonu olmasına rağmen APJ ekspresyonunun bulunmaması ve benzer bir durumun ovaryum dokusunda korpora luteada da gözlemlendiği bildirilmiştir (O'Carroll ve ark, 2000). Bu nedenle apelin ve APJ'nin ekspresyonlarının belirlenmesine yönelik çalışmaların eş zamanlı yapılması bu yapıların etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi bakımından önemlidir.

Adipositlerden salınan bir peptid olarak apelinin obezite ve yağ metabolizması ile ilişkisi önem arz etmektedir. Yapılan bir çalışmada farklı dozlarda uygulanan eksojen apelinin yem tüketiminde ve vücut ağırlığında artışa neden olduğu ve serum düşük dansiteli lipoprotein ve total kolesterol seviyelerinde artışa neden olurken yüksek dansiteli lipoprotein seviyesinde ise azalışa neden olduğu ve bu değişimlerin doza bağlı olduğu bildirilmiştir (Tekin ve ark, 2017). Ayrıca yüksek yağlı diyetle beslenen insülin dirençli farelerde eksojen apelin uygulamasının lipid metabolizmasında iyileşmeye yol açarak steatozisi azalttığı ancak karaciğerde apelin ve APJ ekspresyonlarında bir değişime neden olmadığı bildirilmiştir (Bertrand ve ark., 2018). Obez gençlerde apelin-12 plazma seviyesinin sağlıklı bireylere oranla düştüğü bildirilmiştir (Tapan ve ark, 2010). Bununla birlikte başka bir çalışmada obez kız çocuklarında apelin-12 plazma seviyesi tam tersi olarak obez olmayan çocuklardan daha yüksek olarak bildirilmiştir (Ba ve ark, 2014). Benzer olarak obez ve obezite ilişkili insülin dirençli hastalarda artmış serum apelin-12 seviyesi tanımlanmıştır (Krist ve ark, 2013). Ancak farklı çalışmalara ait verilerin bu konuda çelişkili sonuçlar sunması apelinin etki mekanizması üzerinde belirsizlik oluşturmaktadır. Apelinin çeşitli dokularda farklı ekspresyon seviyeleri göstermesi oluşan çelişkili sonuçların nedeni olabileceği bildirilmiştir (Wysocka ve ark, 2018). Kalori kısıtlaması ile kilo kaybı gerçekleşen obez insanlarda tüm apelin formlarının serum seviyelerinde azalma bildirilmiştir ve bu durumun plazma insülin ve TNF- α seviyeleri ile paralellik

gösterdiği ifade edilmiştir (Castan-Laurell ve ark, 2008). İnsülin ve apelin arasındaki ilişki pek çok çalışmada bildirilmiş olup bu durum apelinin enerji metabolizmasındaki önemini göstermesi bakımından önemlidir. İnsülinin adipoz dokudan apelin sekresyonunu uyardığı ve böylece obezite ile ilişkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Boucher ve ark, 2005). Apelinin özellikle adipositlerde lipolizisi inhibe ettiği ve anjiyogenezi uyarmak suretiyle adipoz doku metabolizmasında rol oynadığı bu nedenle de obezite ilişkisinin oldukça yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir (Yue ve ark, 2011).

Kafeterya diyeti ile beslenen sıçanların adipoz dokusunda artmış apelin mRNA ekspresyonu tespit edilmiş ve bu artışın C vitamini takviyesiyle tersine çevrilebildiği ve bu nedenle de oksidatif stresin apelin ekspresyonundaki artışın ana unsuru olabileceği düşünülmüştür (García-Díaz ve ark, 2007). Apelinin kardiyomiyositlerde H₂O₂ ile gelişen oksidatif strese katalaz aktivitesinde ve mRNA ekspresyonunda artışa neden olması nedeniyle apelinin antioksidan mekanizmalarda rol oynayabileceği söylenebilir (Foussal ve ark, 2010). Ayrıca oksidatif strese bağlı olarak şekillenen lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehit seviyesi ile birlikte apelin seviyesinin karaciğer oksidatif stres ve yangısında paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Garcia-Diaz ve ark, 2007). Bu durum farklı sebeplerle gelişen doku hasarlarının pek çoğunda oksidatif stresin ortak doku hasarı mekanizmasını oluşturması bakımından önem arz edebilir. Oksidatif stres pek çok patolojik süreçte rol oynayan ortak mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen hasarın derecesine bağlı olarak hem doku hem de serumda oksidatif stres belirteçlerinde değişimler şekillenebilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada karaciğer dokusunda TAS seviyelerinin alkol ve/ya yüksek yağlı diyet ile beslenen deneklerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulunmuş, ancak bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Karaciğer dokusundaki TOS seviyeleri genel olarak TAS seviyeleriyle ters orantılı olarak şekillenmiş kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı seviyede artış sadece alkol ve alkol+yüksek yağlı diyet verilen deneklerde şekillenmiş, her ne kadar sadece yüksek yağlı diyetle beslenen deneklerde de TOS seviyesinde artış gözlemlenmiş olsa da bunun istatistiksel olarak anlamlılık göstermediği belirlenmiştir. Çalışmamızda TAS ve TOS değerlerinden yapılan OSİ hesaplamaları sonucunda, OSİ değerinin alkol ve/ya yüksek yağlı diyet ile beslenen deneklerde kontrol grubundakilere göre anlamlı derecede fazla olduğu

bulunmuştur. Alkol+yüksek yağlı diyet ile beslenen deneklerin karaciğer OSİ değerleri sadece alkol ve sadece yüksek yağlı diyet ile beslenen deneklerden her ne kadar fazla olsa da oluşan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

İnsanlarda ve deney hayvanlarında obezite ve alkol tüketimi ilişkili çalışmalarda TAS ve TOS seviyelerine yönelik yapılan incelemelerde farklı sonuçların elde edildiği gözlemlenmektedir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada alkol bağımlılığı olan hastaların ve alkol zehirlenmesine bağlı olarak ölenlerin serum TAS ve TOS değerlerinin sağlıklı bireylere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu ancak OSİ indeksinin alkol zehirlenmesi olan hastaların kanında alkol bağımlısı ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede daha düşük olduğu bildirilmiştir (Ptaszyńska-Sarosiek ve ark, 2024). Obez ve normal kilolu insanların karşılaştırıldığı başka bir çalışmada normal kilolulara göre obez bireylerin pro-oksidan oranının anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlenmiştir (Bozovic ve ark, 2026). Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan bir çalışmada etanol verilen deneklerde kontrol grubuna göre karaciğer dokusunda TAS seviyesi artarken TOS seviyesinin ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olduğu tespit edilmiştir (İlhan ve ark, 2023). Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada obezite oluşturulan gruplarda kontrol grubuna göre serum TAS, TOS ve OSİ seviyeleri bakımından anlamlı bir farkın oluşmadığı bildirilmiştir (Ellidağ ve ark, 2024).

Karaciğer hasarının göstergesi olarak doku ve/ya serum ALT ve AST seviyeleri sıklıkla çalışmalarda incelenmektedir. Alkolik karaciğer hasarında serum AST seviyesinin ALT seviyesinden iki ila üç kat daha yüksek olabileceği bildirilmiştir (Dielh, 2002). Bununla birlikte alkole bağlı karaciğer sirozunda ALT ve AST seviyelerinde belirgin bir değişikliğin olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Sullivan ve ark, 2002). Alkol tüketmeyen veya günde 40 gr'dan fazla alkol tüketen zayıf, normal kilolu, aşırı kilolu ve obez bireylerden oluşan bir çalışmada orta düzeyde alkol tüketenlerde serum ALT seviyelerinin, alkol kullanmayanlara göre daha yüksek olduğu ancak AST değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Alatalo ve ark, 2008). C57BL/6J farelerde yapılan bir çalışmada yüksek yağlı diyet verilen deneklerde ALT ve AST seviyelerinin kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Hoffler ve ark, 2009). Benzer olarak C57BL/6J fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada yüksek yağlı yemle beslenen ve ardından gavaj ile tek doz

(5g/kg) etanol verilen deneklerde ALT ve AST seviyelerinde anlamlı artışa neden olduğu bildirilmiştir (Gao ve ark, 2017). Bizim çalışmamızda serum ALT ve AST seviyeleri kontrol grubu dahil tüm gruplarda birbirine benzerlik göstermiş ve anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Bu durum alkol ve/ya yüksek yağlı diyet verilen deneklerde şiddetli bir hasarın oluşmadığını ve bu nedenle gruplar arasında anlamlı farkın oluşmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Histopatolojik veriler bu bulgular ile uyumlu gözükmemektedir. Benzer bir durum trigliserid verileri için de geçerli olup mevcut bulgular ile uyumludur. Bununla birlikte %60'ı yağdan oluşan yüksek yağlı diyet ile 12 hafta boyunca beslen C57BL/6J fareler üzerinde yapılan bir çalışmada obezite ve trigliserid ilişkisi araştırılmış ve obez deneklerde kontrol hayvanlarına oranla daha düşük trigliserid seviyesinin olduğu bildirilmiştir (Sun ve ark, 2022). Bununla birlikte alkol tüketimi serum trigliserid seviyesinde artmaya neden olmaktadır. Trigliserid seviyesinde artışın tüketilen alkol miktarı ve süresine bağlı olarak orantılı bir artış gösterdiği bildirilmiştir (Samatha ve ark, 2024). Eksojen olarak apelinin 2 hafta boyunca günlük intraperitoneal enjeksiyonunun, standart ve yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde farklı bölgelerdeki yağ dokusundaki trigliserid içeriğini ve yağ birikimini azalttığı, karaciğer trigliserid içeriğinde ve farklı adipogenezle ilgili genlerin ekspresyonunda da önemli bir azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Yamamoto ve ark, 2011). Dolayısıyla serum apelin seviyesinin lipid metabolizmasında etkili olduğu ve bu nedenle de obezite ile bağlantısı bildirilmiştir (Liu ve ark, 2021). Serum trigliserid seviyelerinin obezite ve alkol ilişkili değişimlerine ilişki daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu gözükmemektedir.

Alkolün karaciğerde metabolize edilmesinde alkol dehidrojenaz ve aldehit dehidrojenazın primer rol oynadıkları iyi bilinmektedir. Asetaldehit ve asetat oluşumu suretiyle karaciğerde trigliserid birikimine yol açarak hücre hasarına ilerleyen bu klasik yolak dışında alkolün karaciğerde metabolize edilmesinde rol oynayan mekanizmalardan biri de mikrozomal etanol oksidasyon sistemidir. Bu sistemin merkezinde sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) yer almaktadır ve normal şartlarda CYP2E1 alkol oksidasyonunun yaklaşık %10'undan sorumludur (Lu ve Cederbaum, 2008). Bu enzimin karaciğerde perisantral bölgede yoğun bulunuşu alkole bağlı karaciğerde gözlemlenen hasarın bu alanda daha yoğun gözlenmesini açıklamaktadır (Ha ve ark, 2022). Yapmış olduğumuz çalışmada da dejeneratif hepatositlerin ağırlıklı olarak bu bölgede yer aldığı gözlenmektedir. Bununla birlikte hem apelin hem de APJ

ekspresyonlarının özellikle santral ven çevresinde yer alan hepaositlerde daha fazla şekillendiği bu çalışmada gözlenmiştir. Bu ekspresyonun kontrol grubu farelerde bulunmadığı ancak özellikle hem yüksek yağlı diyetle beslenen ve alkol tüketen deneklerde belirgin olarak diğer gruplardan daha fazla derecede şekillendiği gözlenmiştir. Daha az olmak üzere sadece yüksek yağlı diyet veya alkol tüketen deneklerde de az miktarda olmakla beraber apelin ve APJ ekspresyonlarının artmış olduğu gözlemlendi. Bu durum hepatositlerde alkolün farklı yollarla metabolize edilme süreçlerine hem apelinin hem de APJ'nin katkı sunabileceğini düşündürmektedir.

Alkole bağlı gelişen karaciğer hastalıkları, yağlı karaciğer hastalığı, steatohepatitis ve fibrozis/sirozis olmak üzere genel olarak 3 farklı başlık altında tanımlanmaktadır. Alkol kullanım doz ve süresine bağlı olarak farklılık gösteren bu hastalık tabloları ilerleyici bir formda olup aşırı vakalarda ölümle sonuçlanabilmektedir. Histolojik tabloları birbirinden farklılık gösteren bu hastalıklarda karaciğerde hepatositlerde şekillenen dejeneratif değişiklikler ve özellikle bozulan yağ metabolizmasına ilişkin hepatositlerde şekillenen yağ damlacıklarının birikimi ve sonrasında gelişen yangısal hücre aracılı doku hasarı ve en son aşamada da artan fibrozis ve yetersiz tamir çabaları ile sonlanan siroz gelişimi dikkati çekmektedir (Theise, 2013). Yüksek yağlı diyet de karaciğer yağlanması önemli bir sebebidir (Nakamura ve Terauchi, 2013). Bizim çalışmamızda sadece alkol ve alkol+yüksek yağlı diyet verilen deneklerde hepatositlerde dejeneratif değişiklikler gözlemlenmekle birlikte belirgin hyalin dejenerasyonu ile karakterize Mallory-Denk cisimcikleri gözlemlenmedi. Tanımlanan bu yapıların daha ziyadesiyle insanlarda kronik ve yüksek dozda kullanımı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda alkolik yağlı karaciğer hastalığı ile uyumlu bir histolojik tablo daha ziyadesi ile gözlemlenmiştir.

Apelinin rat karaciğerinde portal ve santral ven endotelleri ile Kupffer hücrelerinde eksprese edildiği immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (Tatemoto ve ark, 2001). Yapmış olduğumuz çalışmada da kontrol grubundaki deneklerde apelin için benzer lokalizasyonun mevcut olduğu gözlemlendi. Ayrıca hem yüksek yağlı diyet ile beslenen deneklerde hem de sadece normal diyet ile birlikte alkol tüketen deneklerde tanımlanan lokalizasyonlarda apelin ekspresyonunun devam ettiği ancak bunların yoğunluğu bakımından ciddi bir farkın oluşmadığı gözlemlendi. Bununla

birlikte kontrol grubunda gözlemlenmeyen bir şekilde özellikle santral ven çevresindeki bazı hepatositlerde daha güçlü olmak üzere apelin ekspresyonu belirlendi. Apelin ekspresyonu yüksek yağlı diyet ile birlikte alkol alan deneklerde ise daha belirgin olup ağırlıklı olarak vena sentralis çevresindeki hepatositlerde dikkati çekti.

Sirotik sıçanlarda hem apelin hem de APJ ekspresyonunun hepatik uydu hücreleri ve hepatositlerde belirgin derecede arttığı, ayrıca serum apelin seviyelerinin de kontrol grubundaki deneklerden daha yüksek olduğu ve seviyelerin hem mRNA ekspresyonu hem de posttranslasyonel seviyelerde şekillendiği bildirilmiştir (Principe ve ark, 2008). Başka bir çalışmada insanlarda apelinin hepatik sinuzioidal endotel hücrelerinde ve sinuzoitlere doğrudan bağlanan prolifer arteriyel kapillarlarda sirozun erken evresinde hafif seviyelerde, son evrede ise prolifer arteriyel kapillar damarlarda yüksek seviyede eksprese edildiği bildirilmiştir (Yokomori ve ark, 2012). Benzer olarak insanlarda sirozlu hastalarda hepatositlerdeki APJ ekspresyonu oldukça yüksek olarak bulunmuştur (Melgar-Lesmes ve ark, 2011). Bu bulgular bozulan hepatik fonksiyon ile apelin ekspresyonu arasında bir ilişkinin bulunduğunu göstermektedir.

Apelin yangısal süreçlerde çift yönlü bir etkileşim gösterebilmektedir. TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin apelin ekspresyonunu artırdığı buna karşın apelinin bazı koşullarda yangısal mediatörleri baskıladığı bazı durumlarda ise tam tersi artırabildiği bildirilmiştir. Bu durum apelinin etkilerinin bağlanma ve hücre tipine bağlı olduğunu göstermektedir. İnsan hepatik uydu hücrelerinden köken alan LX-2 hücrelerinde proinflamatuvar maddelerin apelin gen ekspresyonunda artışa neden olduğu bildirilmiştir (Melgar-Lesmes ve ark, 2010). Ayrıca kan pulcuklarından köken alan büyüme faktörü ve proinflamatuvar sitokinlerin hepatik uydu hücrelerinde APJ aşırı ekspresyonuna neden olduğu ve böylece vasküler yeniden şekillendirme suretiyle fibrogeneze katkı sağladığı bildirilmiştir (Yokomori ve ark, 2011). Bir APJ antagonisti olan F13A'nın ratlarda karbontetraklorür ile oluşturulan fibrozis modelinde hepatik kolajen miktarını azalttığı ve böylece fibrozisi engellediği ayrıca ortalama arteriyel basıncı ve portal basıncı iyileştirdiği bildirilmiştir (Reichenbach ve ark, 2012). Bizim çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında alkol ve/ya yüksek yağlı diyetle beslenen deneklerde benzer ekspresyon paternleri gözlemlenmiştir. Çalışmamızda oluşturulan karaciğer hasarı yağlı karaciğer ile sınırlı kalmış ve belirgin bir yangısal

yanıt gözlemlenmemiştir. Bu nedenle ilgili hücrede kullanılan immunohistokimyasal boyama yönteminin limitleri de göz önüne alındığında gözlemlenebilen bir ekspresyon değişikliği hem apelin hem de APJ için oluşmamıştır. Bununla birlikte hepatositlerde belirgin değişiklikler tespit edilmiştir.

Çalışmamızda alkol tüketimine bağlı olarak karaciğer relatif organ ağırlığında kontrol grubuna oranla anlamlı bir artışın olduğu belirlendi. Ancak yağlı diyet ve alkol+yüksek yağlı diyetle beslenen deneklerde relatif organ ağırlığı bakımından anlamlı bir yükselme belirlenmediği gibi kısmi düşüşün olduğu tespit edildi. Bu durumun daha ziyadesi ile yüksek yağlı yem yem tüketim miktarının göreceli olarak normal yeme oranla daha az olması sebebiyle şekillenebileceği düşünülmüştür. Obezite ve apelin ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalar dolaşımdaki apelin seviyesi ile vücut kitle endeksinin her zaman uyumlu olmadığını ve bu nedenle obezitenin tek başına artan serum apelin seviyesinden sorumlu olamayabileceğini göstermektedir (Castan-Laurell ve ark, 2008). Biz çalışmamızda serum apelin seviyesini belirlemedik. Bununla birlikte yüksek yağlı diyet ve/ya alkol tüketimine bağlı olarak karaciğerde artmış apelin ve APJ ekspresyonunu tespit ettik. Çalışmamızdan elde edilen bulgular apelin ve APJ'nin karaciğer patolojisinde önemli rolleri olabileceğini göstermesi bakımından önem arz etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada BALB/c farelerde alkol tüketimi ve/ya yüksek yağlı diyetle beslenmeye bağlı olarak karaciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin ve bir adipokin olan apelin ve onun reseptörü olan APJ'nin ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada alkol ve/ya yüksek yağlı diyetle beslenmeye bağlı olarak karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon ve steatozis ile karakterize değişikliklerin şekillendiği belirlendi. Meydana gelen değişikliklerin alkol ile birlikte yüksek yağlı diyetle beslenen deneklerde diğer gruplardan daha şiddetli şekillendiği tespit edildi. Bu histopatolojik tablo ile uyumlu olarak karaciğerde apelin ve APJ immunoreaktivitelerinin alkol ve/ya yüksek yağlı diyetle beslenen deneklerde arttığı belirlendi. Apelin ve APJ immunoreaktivitesinin özellikle perisantral bölgede yer alan hepatositlerde artış göstermesi hem apelinin hem de APJ'nin karaciğerde önemli fonksiyonları olabileceğini düşündürmektedir. Oksidatif stresin göstergeleri olarak çalışmada karaciğer dokusunda TAS, TOS ve OSİ değerlerindeki değişimler alkol ve/ya yüksek yağlı diyetle bağlı hücre hasarında reaktif oksijen türlerinin rol oynadığını ve apelin/APJ sisteminin bu süreçle ilgili etkileşimde olabileceği yönünde ipuçları sunmaktadır.

Oksidatif stresin farklı etkenlere bağlı olarak gelişen patolojilerde ortak yolak olarak etki gösterdiği ve meydana gelen karmaşık süreçlerin yürütülmesinde de pek çok moleküler yapının devrede olduğu bilinmektedir. Apelin ve APJ birçok dokuda yaygın olarak bulunmaktadır ve yangı dahil pek çok patolojik süreçte rol oynadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte spesifik etki mekanizmalarına yönelik bilgiler henüz gelişme aşamasındadır. Karaciğerin fonksiyonel yoğunluğu dikkate alındığında apelin ve APJ'nin bu dokudaki görev ve patolojik süreçlerdeki rollerinin daha derinlemesine çalışılmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Akcılar, R., Turgut, S., Caner, V., Akcılar, A., Ayada, C., Elmas, L., & Özcan, T. O. (2015).
- Alastalo, T. P., Li, M., Perez, V.deJ., Pham, D., Sawada, H., Wang, J. K., Koskenvuo, M., Wang, L., Freeman, B. A., Chang, H. Y., & Rabinovitch, M. (2011). Disruption of PPAR γ / β -catenin-mediated regulation of apelin impairs BMP-induced mouse and human pulmonary arterial EC survival. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(9), 3735–3746. <https://doi.org/10.1172/JCI43382>
- Alatalo, P. I., Koivisto, H. M., Hietala, J. P., Puukka, K. S., Bloigu, R., & Niemelä, O. J. (2008). Effect of moderate alcohol consumption on liver enzymes increases with increasing body mass index. *The American journal of clinical nutrition*, 88(4), 1097-1103.
- Albano, E., Clot, P., Morimoto, M., Tomasi, A., Ingelman-Sundberg, M., & French, S. W. (1996). Role of cytochrome P450E1-dependent formation of hydroxyethyl free radical in the development of liver damage in rats intragastrically fed with ethanol. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 23(1), 155–163. <https://doi.org/10.1002/hep.510230121>
- Angulo P. (2002). Nonalcoholic fatty liver disease. *The New England journal of Medicine*, 346(16), 1221–1231. <https://doi.org/10.1056/NEJMr011775>
- Anstee, Q. M., & Day, C. P. (2013). The genetics of NAFLD. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 10(11), 645-655.
- Antushevich, H., & Wójcik, M. (2018). Apelin in disease. *Clinica Chimica Acta*, 483, 241-248.
- Argo, C. K., & Caldwell, S. H. (2009). Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clinics in liver disease*, 13(4), 511–531. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2009.07.005>
- Arteel, G., Marsano, L., Mendez, C., Bentley, F., & McClain, C. J. (2003). Advances in alcoholic liver disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17(4), 625-647.
- Attané, C., Foussal, C., Le Gonidec, S., Benani, A., Daviaud, D., Wanecq, E., Guzmán-Ruiz, R., Dray, C., Bezaire, V., Rancoule, C., Kuba, K., Ruiz-Gayo, M., Levade, T., Penninger, J., Burcelin, R., Pénicaud, L., Valet, P., & Castan-Laurell, I. (2012). Apelin treatment increases complete Fatty Acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice. *Diabetes*, 61(2), 310–320. <https://doi.org/10.2337/db11-0100>
- Ayaz, AY. (2025) Asetaminofen İle Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarında Sinir Büyüme Faktörünün Etkisi Ve P38 Mapk Sinyal Yolağının Rolü (Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi)
- Ba, H. J., Chen, H. S., Su, Z., Du, M. L., Chen, Q. L., Li, Y. H., et al. (2014). Associations between serum apelin-12 levels and obesity-related markers in Chinese children. *PLoS ONE* 9:e86577. doi: 10.1371/journal.pone. 0086577
- Bell, M., Wang, H., Chen, H., McLenithan, J. C., Gong, D. W., Yang, R. Z., Yu, D., Fried, S. K., Quon, M. J., Londos, C., & Sztalryd, C. (2008). Consequences of lipid droplet coat protein downregulation in liver cells: abnormal lipid droplet metabolism and induction of insulin resistance. *Diabetes*, 57(8), 2037–2045. <https://doi.org/10.2337/db07-1383>
- Beltowski, J. (2006). Apelin and visfatin: unique" beneficial" adipokines upregulated in obesity?. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 12(6), RA112-9.
- Berg, R. D. (1999). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Mechanisms in the pathogenesis of enteric diseases* 2, 11-30. Bertot, I. C., & Adams, I. A. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. 2016. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 774.

- Bertrand, C., Pradère, J. P., Geoffre, N., Deleruyelle, S., Masri, B., Personnaz, J., ... & Castan-Laurell, I. (2018). Chronic apelin treatment improves hepatic lipid metabolism in obese and insulin-resistant mice by an indirect mechanism. *Endocrine*, 60(1), 112-121.
- Bertrand, C., Valet, P., & Castan-Laurell, I. (2015). Apelin and energy metabolism. *Frontiers in Physiology*, 6, 115. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00115>
- Blachier, M., Leleu, H., Peck-Radosavljevic, M., Valla, D. C., & Roudot-Thoraval, F. (2013). The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of hepatology*, 58(3), 593–608. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.12.005>
- Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigne C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpenne C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146(4): 1764-1771.
- Bowman, W. (1842). Observations On The Minute Anatomy Of Fatty Degeneration Of The Liver. *Transactions of The Microscopical Society and Journal*, 1(1), 129-131.
- Bozovic, M., Ostanek, B., Kotur-Stevuljević, J., Marc, J., Mercantepe, F., & Klisic, A. (2026). Oxidative stress in adolescents with overweight/obesity. *Journal of medical biochemistry*, 44(9), 2044–2052. <https://doi.org/10.5937/jomb0-59562>
- Braun, K. M., & Sandgren, E. P. (2000). Cellular origin of regenerating parenchyma in a mouse model of severe hepatic injury. *The American Journal of Pathology*, 157(2), 561–569. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64566-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64566-X)
- Bucher, N. L., & Malt, R. A. (1971). Regeneration of liver and kidney. (No Title).
- Castan-Laurell, I., Vítková, M., Daviaud, D., Dray, C., Kováčiková, M., Kovacova, Z., et al. (2008). Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *Eur. J. Endocrinol.* 158, 905–910. doi: 10.1530/EJE-08-0039
- Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M., Sanyal, A. J., American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, & American College of Gastroenterology (2012). The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*, 142(7), 1592–1609. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.001>
- Chamulitrat, W., & Spitzer, J. J. (1996). Nitric oxide and liver injury in alcohol-fed rats after lipopolysaccharide administration. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 20(6), 1065–1070. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1996.tb01947.x>
- Chaves-Almagro, C., Castan-Laurell, I., Dray, C., Knauf, C., Valet, P., & Masri, B. (2015). Apelin receptors: From signaling to antidiabetic strategy. *European Journal of Pharmacology*, 763(Pt B), 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.017>
- Chedid, A., Mendenhall, C. L., Tosch, T., Chen, T., Rabin, L., Garcia-Pont, P., Goldberg, S. J., Kiernan, T., Seeff, L. B., & Sorrell, M. (1986). Significance of megamitochondria in alcoholic liver disease. *Gastroenterology*, 90(6), 1858–1864. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(86\)90253-2](https://doi.org/10.1016/0016-5085(86)90253-2)
- Chen, L., Tao, Y., & Jiang, Y. (2015). Apelin activates the expression of inflammatory cytokines in microglial BV2 cells via PI-3K/Akt and MEK/Erk pathways. *Science China Life Sciences*, 58(6), 531-540.
- Chen, W. D., Wang, Y. D., Meng, Z., Zhang, L., & Huang, W. (2011). Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1812(8), 888-892.
- Chung, G. E., Kim, D., Kwark, M. S., Kim, W. H., Yim, J. Y., Kim, Y., & Yoon, J. H. (2015). Visceral Adipose Tissue Area as an Independent Risk Factor for Elevated Liver Enzyme in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Medicine*, 94(9), e573. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000000573>

- Cotter, T. G., & Rinella, M. (2020). Nonalcoholic fatty liver disease 2020: the state of the disease. *Gastroenterology*, 158(7), 1851-1864.
- Dancygier, H., Seitz, H. K., & Mueller, S. (2010). Alcoholic liver disease. *Clinical Hepatology: Principles and Practice of Hepatobiliary Diseases*, 1111-1151.
- De Mota, N., Reaux-Le Goazigo, A., El Messari, S., Chartrel, N., Roesch, D., Dujardin, C., Kordon, C., Vaudry, H., Moos, F., & Llorens-Cortes, C. (2004). Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(28), 10464–10469. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403518101>
- De Mota, N., Reaux-Le Goazigo, A., El Messari, S., Chartrel, N., Roesch, D., Dujardin, C., ... & Llorens-Cortes, C. (2004). Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(28), 10464-10469.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Sato, Y. U. Z. O., Felig, P. H. I. L. I. P., & Wahren, J. (1981). Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *The Journal of clinical investigation*, 68(6), 1468-1474.
- Diehl A. M. (2002). Liver disease in alcohol abusers: clinical perspective. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 27(1), 7–11. [https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(02\)00204-5](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(02)00204-5)
- Dietrich, P., & Hellerbrand, C. (2014). Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best practice & research Clinical Gastroenterology*, 28(4), 637-653.
- Dray, C., Debar, C., Jager, J., Disse, E., Daviaud, D., Martin, P., ... & Castan-Laurell, I. (2010). Apelin and APJ regulation in adipose tissue and skeletal muscle of type 2 diabetic mice and humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 298(6), E1161-E1169.
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buléon, M., ... & Valet, P. (2008). Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell metabolism*, 8(5), 437-445.
- Dukić, M., Radonjić, T., Jovanović, I., Zdravković, M., Todorović, Z., Krašnik, N., Arandelović, B., Mandić, O., Popadić, V., Nikolić, N., Klačnja, S., Manojlović, A., Divac, A., Gačić, J., Brajković, M., Oprić, S., Popović, M., & Branković, M. (2023). Alcohol, Inflammation, and Microbiota in Alcoholic Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3735. <https://doi.org/10.3390/ijms24043735>
- Ekstedt, M., Franzén, L. E., Mathiesen, U. L., Thorelius, L., Holmqvist, M., Bodemar, G., & Kechagias, S. (2006). Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 44(4), 865–873. <https://doi.org/10.1002/hep.21327>
- Ellidag, H. Y., Aslankoç, R., Kök, M., Aykal, G., Aydın, Ö., Özmen, Ö., ... & Doğan, U. (2024). Serum testosterone levels and oxidative stress in type 1 diabetes, type 2 diabetes, and obesity. *Endokrynologia Polska*, 75(2), 183-191.
- Ertunc, M. E., & Hotamisligil, G. S. (2016). Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. *Journal of Lipid Research*, 57(12), 2099–2114. <https://doi.org/10.1194/jlr.R066514>
- European Association for the Study of Liver (2012). EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. *Journal of Hepatology*, 57(2), 399–420. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.04.004>
- Eyries, M., Siegfried, G., Ciumas, M., Montagne, K., Agrapart, M., Lebrin, F., & Soubrier, F. (2008). Hypoxia-induced apelin expression regulates endothelial cell proliferation and regenerative angiogenesis. *Circulation research*, 103(4), 432–440. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.179333>
- Ezer Özer, N. (2022). Farklı diyetlerin karaciğer dokusu üzerindeki etkisi: Bir ATR-FTIR çalışması.

Fausto, N., Campbell, J. S., & Riehle, K. J. (2012). Liver regeneration. *Journal of Hepatology*, 57(3), 692-694.

Foussal C, Lairez O, Calise D, et al. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hyper-trophy. *FEBS Lett.* 2010;584(11):2363–2370.

Gao, B., Xu, M. J., Bertola, A., Wang, H., Zhou, Z., & Liangpunsakul, S. (2017). Animal Models of Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Clinical Relevance. *Gene Expression*, 17(3), 173–186. <https://doi.org/10.3727/105221617X695519>

Garcia-Diaz D, Campion J, Milagro FI, Martinez JA. Adiposity dependent apelin gene expression: relationships with oxidative and inflammation markers. *Mol Cell Biochem.* 2007;305:87–94. doi: 10.1007/s11010-007-9531-5

García-Ruiz, C., Colell, A., París, R., & Fernández-Checa, J. C. (2000). Direct interaction of GD3 ganglioside with mitochondria generates reactive oxygen species followed by mitochondrial permeability transition, cytochrome c release, and caspase activation. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14(7), 847–858. <https://doi.org/10.1096/fasebj.14.7.847>

Gouillon, Z., Lucas, D., Li, J., Hagbjork, A. L., French, B. A., Fu, P., Fang, C., Ingelman-Sundberg, M., Donohue, T. M., Jr, & French, S. W. (2000). Inhibition of ethanol-induced liver disease in the intragastric feeding rat model by chlormethiazole. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 224(4), 302–308. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.2000.22435.x>

Habata, Y., Fujii, R., Hosoya, M., Fukusumi, S., Kawamata, Y., Hinuma, S., ... & Fujino, M. (1999). Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1452(1), 25-35.

Hoffler, U., Hobbie, K., Wilson, R., Bai, R., Rahman, A., Malarkey, D., ... & Ghanayem, B. I. (2009). Diet-induced obesity is associated with hyperleptinemia, hyperinsulinemia, hepatic steatosis, and glomerulopathy in C57Bl/6J mice. *Endocrine*, 36(2), 311-325.

Hosoya, M., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Fujii, R., Habata, Y., Hinuma, S., Kitada, C., Honda, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., & Fujino, M. (2000). Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(28), 21061–21067. <https://doi.org/10.1074/jbc.M908417199>

Inoue, M., Ohtake, T., Motomura, W., Takahashi, N., Hosoki, Y., Miyoshi, S., Suzuki, Y., Saito, H., Kohgo, Y., & Okumura, T. (2005). Increased expression of PPAR γ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 336(1), 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.070>

İlhan, A. O., Can, B., Kar, F., Gündoğdu, A. Ç., Söğüt, İ., & Kanbak, G. (2023). An investigation into the protective effects of various doses of boric acid on liver, kidney, and brain tissue damage caused by high levels of acute alcohol consumption. *Biological trace element research*, 201(11), 5346-5357.

Jeong, K., Oh, Y., Kim, S. J., Kim, H., Park, K. C., Kim, S. S., ... & Choe, W. (2014). Apelin is transcriptionally regulated by ER stress-induced ATF4 expression via a p38 MAPK-dependent pathway. *Apoptosis*, 19(9), 1399-1410.

Jou, J., Choi, S. S., & Diehl, A. M. (2008). Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 28(4), 370–379. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1091981>

Kang, Y., Kim, J., Anderson, J. P., Wu, J., Gleim, S. R., Kundu, R. K., McLean, D. L., Kim, J. D., Park, H., Jin, S. W., Hwa, J., Quertermous, T., & Chun, H. J. (2013). Apelin-APJ signaling is a critical regulator of endothelial MEF2 activation in cardiovascular development. *Circulation Research*, 113(1), 22–31. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.301324>

Kasai A. (2011). *Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 131(8), 1201–1206. <https://doi.org/10.1248/yakushi.131.1201>

- Kasai, A., Shintani, N., Kato, H., Matsuda, S., Gomi, F., Haba, R., Hashimoto, H., Kakuda, M., Tano, Y., & Baba, A. (2008). Retardation of retinal vascular development in apelin-deficient mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(10), 1717–1722. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.163402>
- Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., & Fujino, M. (2001). Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1538(2-3), 162–171. [https://doi.org/10.1016/s0167-4889\(00\)00143-9](https://doi.org/10.1016/s0167-4889(00)00143-9)
- Kim, J. W., & Kim, Y. J. (2024). The evidence-based multifaceted roles of hepatic stellate cells in liver diseases: A concise review. *Life Sciences*, 344, 122547. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122547>
- Kleiner, D. E., & Makhlouf, H. R. (2016). Histology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in Adults and Children. *Clinics in Liver Disease*, 20(2), 293–312. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2015.10.011>
- Kleinz, M. J., & Davenport, A. P. (2005). Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics*, 107(2), 198–211. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.04.001>
- Krist, J., Wieder, K., Klötting, N., Oberbach, A., Kralisch, S., Wiesner, T., et al. (2013). Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes. Facts* 6, 57–69. doi: 10.1159/000348667
- Kubes, P., & Jenne, C. (2018). Immune Responses in the Liver. *Annual Review of Immunology*, 36, 247–277. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052415>
- Kucera, O., & Cervinkova, Z. (2014). Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 20(26), 8364–8376. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8364>
- Lee H, Rotolo JA, Mesicek J, Penate-Medina T, Rimner A, Liao WC, Yin X, Ragupathi G, Ehleiter D, Gulbins E, Zhai D, Reed JC, Haimovitz-Friedman A, Fuks Z, Kolesnick R. Correction: Mitochondrial Ceramide-Rich Macrod domains Functionalize Bax upon Irradiation. *PLoS One*. 2015 Dec 30;10(12):e0146210. doi: 10.1371/journal.pone.0146210. Erratum for: *PLoS One*. 2011;6(6):e19783. doi: 10.1371/journal.pone.0019783. PMID: 26716446; PMCID: PMC4696794.
- Lefkowitz J. H. (2005). Morphology of alcoholic liver disease. *Clinics in Liver Disease*, 9(1), 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2004.11.001>
- Li, Y., Chen, J., Bai, B., Du, H., Liu, Y., & Liu, H. (2012). Heterodimerization of human apelin and kappa opioid receptors: roles in signal transduction. *Cellular Signalling*, 24(5), 991–1001. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.12.012>
- Lieber, C. S., Rubin, E., & DeCarli, L. M. (1970). Hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): differentiation from alcohol dehydrogenase and NADPH oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 40(4), 858–865. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(70\)90982-4](https://doi.org/10.1016/0006-291x(70)90982-4)
- Lim, Y. L., Choi, E., Jang, Y. O., Cho, Y. Z., Kang, Y. S., Baik, S. K., Kwon, S. O., & Kim, M. Y. (2016). Clinical Implications of the Serum Apelin Level on Portal Hypertension and Prognosis of Liver Cirrhosis. *Gut and Liver*, 10(1), 109–116. <https://doi.org/10.5009/gnl14345>
- Lingvay I, Cohen R, Roux C et al. Obesity in adults. *The Lancet*, 2024; 404, 972-987
- Linhart, K., Bartsch, H., & Seitz, H. K. (2014). The role of reactive oxygen species (ROS) and cytochrome P-450 2E1 in the generation of carcinogenic etheno-DNA adducts. *Redox Biology*, 3, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.08.009>
- Liu, C., Shao, M., Lu, L., Zhao, C., Qiu, L., & Liu, Z. (2021). Obesity, insulin resistance and their interaction on liver enzymes. *Plos one*, 16(4), e0249299.
- Liu, Q., Hu, T., He, L., Huang, X., Tian, X., Zhang, H., He, L., Pu, W., Zhang, L., Sun, H., Fang, J., Yu, Y., Duan, S., Hu, C., Hui, L., Zhang, H., Quertermous, T., Xu, Q., Red-Horse, K., Wythe, J. D., ...

Zhou, B. (2015). Genetic targeting of sprouting angiogenesis using *Apln*-CreER. *Nature Communications*, 6, 6020. <https://doi.org/10.1038/ncomms7020>

Lu Y, Cederbaum AI. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. *Free Radic Biol Med*. 2008 Mar 1;44(5):723-38. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.004. Epub 2007 Nov 17. PMID: 18078827; PMCID: PMC2268632.

Lu, Y., Wu, D., Wang, X., Ward, S. C., & Cederbaum, A. I. (2010). Chronic alcohol-induced liver injury and oxidant stress are decreased in cytochrome P4502E1 knockout mice and restored in humanized cytochrome P4502E1 knock-in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(9), 1406–1416. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.026>

Lv, X. R., Zheng, B., Li, S. Y., Han, A. L., Wang, C., Shi, J. H., Zhang, X. H., Liu, Y., Li, Y. H., & Wen, J. K. (2013). Synthetic retinoid Am80 up-regulates apelin expression by promoting interaction of RAR α with KLF5 and Sp1 in vascular smooth muscle cells. *The Biochemical journal*, 456(1), 35–46. <https://doi.org/10.1042/BJ20130418>

Lv, X., Kong, J., Chen, W. D., & Wang, Y. D. (2017). The role of the apelin/APJ system in the regulation of liver disease. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 221.

Machado, M. V., Ferreira, D., Castro, R. E., Silvestre, A. L., Evangelista, T., Coutinho, J. a. P., Carepa, F., Costa, A., Rodrigues, C. M. P., & Cortez-Pinto, 51 H. (2012). Liver and Muscle in Morbid Obesity: The Interplay of Fatty Liver and Insulin Resistance. *PLOS ONE*, 7(2), e31738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031738>

Masri, B., Lahlou, H., Mazarguil, H., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2002). Apelin (65-77) activates extracellular signal-regulated kinases via a PTX-sensitive G protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 290(1), 539–545. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.6230>

Masri, B., Morin, N., Cornu, M., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2004). Apelin (65-77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(15), 1909–1911. <https://doi.org/10.1096/fj.04-1930fje>

Masri, B., Morin, N., Pedebnarde, L., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2006). The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(27), 18317–18326. <https://doi.org/10.1074/jbc.M600606200>

Matsumoto, M., Hidaka, K., Akiho, H., Tada, S., Okada, M., & Yamaguchi, T. (1996). Low stringency hybridization study of the dopamine D4 receptor revealed D4-like mRNA distribution of the orphan seven-transmembrane receptor, APJ, in human brain. *Neuroscience Letters*, 219(2), 119-122.

Maurice, J., & Manousou, P. (2018). Non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Medicine (London, England)*, 18(3), 245–250. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.18-3-245>

Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y., Lawrie, K. W., Hervieu, G., Riley, G., Bolaky, J. E., Herrity, N. C., Murdock, P., & Darker, J. G. (2003). Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of neurochemistry*, 84(5), 1162–1172. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01587.x>

Melgar-Lesmes P, Casals G, Pauta M, Ros J, Reichenbach V, Bataller R, Morales-Ruiz M, Jimenez W. Apelin mediates the induction of profibrogenic genes in human hepatic stellate cells. *Endocrinology*. 2010; 151:5306–14. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0754>.

Melgar-Lesmes P, Pauta M, Reichenbach V, Casals G, Ros J, Bataller R, Morales-Ruiz M, Jiménez W. Hypoxia and proinflammatory factors upregulate apelin receptor expression in human stellate cells and hepatocytes. *Gut*. 2011; 60:1404–11. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.234690>.

Melgar-Lesmes, P., Casals, G., Pauta, M., Ros, J., Reichenbach, V., Bataller, R., Morales-Ruiz, M., & Jimenez, W. (2010). Apelin mediates the induction of profibrogenic genes in human hepatic stellate cells. *Endocrinology*, 151(11), 5306–5314. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0754>

- Melgar-Lesmes, P., Pauta, M., Reichenbach, V., Casals, G., Ros, J., Bataller, R., Morales-Ruiz, M., & Jiménez, W. (2011). Hypoxia and proinflammatory factors upregulate apelin receptor expression in human stellate cells and hepatocytes. *Gut*, 60(10), 1404–1411. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.234690>
- Mitaka, T., Ichinohe, N., & Tanimizu, N. (2023). "Small Hepatocytes" in the Liver. *Cells*, 12(23), 2718. <https://doi.org/10.3390/cells12232718>
- Morgan, K., French, S. W., & Morgan, T. R. (2002). Production of a cytochrome P450 2E1 transgenic mouse and initial evaluation of alcoholic liver damage. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 36(1), 122–134. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33720>
- Motomura, W., Inoue, M., Ohtake, T., Takahashi, N., Nagamine, M., Tanno, S., Kohgo, Y., & Okumura, T. (2006). Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340(4), 1111–1118. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.121>
- Mueller, S., Peccerella, T., Qin, H., Glassen, K., Waldherr, R., Flechtenmacher, C., Straub, B. K., Millonig, G., Stickel, F., Bruckner, T., Bartsch, H., & Seitz, H. K. (2018). Carcinogenic Etheno DNA Adducts in Alcoholic Liver Disease: Correlation with Cytochrome P-4502E1 and Fibrosis. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 42(2), 252–259. <https://doi.org/10.1111/acer.13546>
- Nakamura, A., & Terauchi, Y. (2013). Lessons from mouse models of high-fat diet-induced NAFLD. *International journal of molecular sciences*, 14(11), 21240–21257.
- Nakamura, T., & Mizuno, S. (2010). The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 86(6), 588–610. <https://doi.org/10.2183/pjab.86.588>
- O'Carroll, A. M., Selby, T. L., Palkovits, M., & Lolait, S. J. (2000). Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1492(1), 72–80.
- O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. (2013). The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *The Journal of Endocrinology*, 219(1), R13–R35. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0227>
- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., Shi, X., Petronis, A., George, S. R., & Nguyen, T. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2), 355–360. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(93\)90495-o](https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90495-o)
- O'Shea, R. S., Dasarathy, S., McCullough, A. J., Practice Guideline Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases, & Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology (2010). Alcoholic liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 51(1), 307–328. <https://doi.org/10.1002/hep.23258>
- Osna, N. A., Donohue, T. M., Jr, & Kharbanda, K. K. (2017). Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Research : Current Reviews*, 38(2), 147–161.
- Petersen, K. F., Oral, E. A., Dufour, S., Befroy, D. E., Ariyan, C. E., Yu, C., Cline, G. W., DePaoli, A. M., Taylor, S. I., Gorden, P., & Shulman, G. I. (2002). Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe 54 lipodystrophy. *Journal of Clinical Investigation*, 109(10), 1345–1350. <https://doi.org/10.1172/jci15001>
- Ponziani, F. R., Pecere, S., Gasbarrini, A., & Ojetti, V. (2015). Physiology and pathophysiology of liver lipid metabolism. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 9(8), 1055–1067.
- Powell, E. E., Wong, V. W., & Rinella, M. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet (London, England)*, 397(10290), 2212–2224. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32511-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32511-3)
- Principe, A., Melgar-Lesmes, P., Fernández-Varo, G., del Arbol, L. R., Ros, J., Morales-Ruiz, M., Bernardi, M., Arroyo, V., & Jiménez, W. (2008). The hepatic apelin system: a new therapeutic target for liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 48(4), 1193–1201. <https://doi.org/10.1002/hep.22467o>

- Ptaszyńska-Sarosiek, I., Gołaś, E., Nesterowicz, M., Niemcunowicz-Janica, A., Zalewska, A., Żendzian-Piotrowska, M., & Maciejczyk, M. (2024). Total antioxidant and oxidative status as potential biomarkers of alcohol overdose. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 82.
- Rafiq, N., Bai, C., Fang, Y., Srishord, M., McCullough, A., Gramlich, T., & Younossi, Z. M. (2009). Long-term follow-up of patients with nonalcoholic fatty liver. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 7(2), 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2008.11.005>
- Reichenbach, V., Ros, J., Fernández-Varo, G., Casals, G., Melgar-Lesmes, P., Campos, T., Makriyannis, A., Morales-Ruiz, M., & Jiménez, W. (2012). Prevention of fibrosis progression in CCl₄-treated rats: role of the hepatic endocannabinoid and apelin systems. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 340(3), 629–637. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.188078>
- Ronkainen, V. P., Ronkainen, J. J., Hänninen, S. L., Leskinen, H., Ruas, J. L., Pereira, T., Poellinger, L., Vuolteenaho, O., & Tavi, P. (2007). Hypoxia inducible factor regulates the cardiac expression and secretion of apelin. *FASEB journal : official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(8), 1821–1830. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7294com>
- Rubin, E., & Lieber, C. S. (1968). Alcohol-induced hepatic injury in nonalcoholic volunteers. *The New England Journal of Medicine*, 278(16), 869–876. <https://doi.org/10.1056/NEJM196804182781602>
- Sagiroglu, T., Aksoy, M. B., Sagiroglu, G., Tozki, H., Oguz, S., Yalta, T., Yagci, M. A., & Sezer, A. (2014). Effect of leptin and apelin preconditioning on hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *The Indian journal of Surgery*, 76(2), 111–116. <https://doi.org/10.1007/s12262-012-0676-4>
- Samatha T, Shylaja K, Sukanya A, Islam K, Chillara T. Effect of alcohol consumption on lipid profile [Internet]. *South Asian J Health Prof.* 2024 [cited 2026 Apr 06];7(2):32-36. Available from: <https://doi.org/10.18231/j.sajhp.2024.008>
- Sanyal, A. J., Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Kowdley, K. V., Chalasani, N., Lavine, J. E., Ratziu, V., & McCullough, A. (2011). Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 54(1), 344–353. <https://doi.org/10.1002/hep.24376>
- Sato, T., Kadowaki, A., Suzuki, T., Ito, H., Watanabe, H., Imai, Y., & Kuba, K. (2019). Loss of Apelin Augments Angiotensin II-Induced Cardiac Dysfunction and Pathological Remodeling. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 239. <https://doi.org/10.3390/ijms20020239>
- Schmid, G., Converset, V., Walter, N., Sennitt, M. V., Leung, K., Byers, H., Ward, M., Hochstrasser, D. F., Cawthorne, M. A., & Sanchez, J. (2004). Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. *Proteomics*, 4(8), 2270–2282. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300810>
- Seitz, H. K., & Stickel, F. (2007). Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. *Nature Reviews. Cancer*, 7(8), 599–612. <https://doi.org/10.1038/nrc2191>
- Seitz, H. K., Bataller, R., Cortez-Pinto, H., Gao, B., Gual, A., Lackner, C., ... & Tsukamoto, H. (2018). Alcoholic liver disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 16.
- Shulman G. I. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(2), 171–176. <https://doi.org/10.1172/JCI10583>
- Simpkin, J. C., Yellon, D. M., Davidson, S. M., Lim, S. Y., Wynne, A. M., & Smith, C. C. (2007). Apelin-13 and apelin-36 exhibit direct cardioprotective activity against ischemia-reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*, 102(6), 518–528. <https://doi.org/10.1007/s00395-007-0671-2>
- Sivell, C. (2019). Nonalcoholic fatty liver disease: a silent epidemic. *Gastroenterology Nursing*, 42(5), 428–434.
- Sookoian, S., & Pirola, C. J. (2011). Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 53(6), 1883–1894. <https://doi.org/10.1002/hep.24283>

- Starley, B. Q., Calcagno, C. J., & Harrison, S. A. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 51(5), 1820–1832. <https://doi.org/10.1002/hep.23594>
- Sullivan, M. K., Daher, H. B., & Rockey, D. C. (2022). Normal or near normal aminotransferase levels in patients with alcoholic cirrhosis. *The American journal of the medical sciences*, 363(6), 484–489. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2021.09.012>
- Sun, S. Y., Yang, W. Y., Tan, Z., Zhang, X. Y., Shen, Y. L., Guo, Q. W., ... & Fang, D. Z. (2022). Serum Levels of Free Fatty Acids in Obese Mice and Their Associations with Routine Lipid Profiles. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 331–343.
- takehevich, H., & Wójcik, M. (2018). Review: Apelin in disease. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 483, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.012>
- Tapan, S., Tascilar, E., Abaci, A., Sonmez, A., Kilic, S., Erbil, M. K., et al. (2010). Decreased plasma apelin levels in pubertal obese children. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 23, 1039–1046. doi: 10.1515/jpem.2010.165
- Tarantino, G., & Finelli, C. (2013). What about non-alcoholic fatty liver disease as a new criterion to define metabolic syndrome?. *World Journal of Gastroenterology*, 19(22), 3375–3384. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i22.3375>
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., & Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251(2), 471–476. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9489>
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 99(2-3), 87–92. [https://doi.org/10.1016/s0167-0115\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/s0167-0115(01)00236-1)
- Theise, N. D. (2013). Histopathology of alcoholic liver disease. *Clinical liver disease*, 2(2), 64–67.
- Tiniakos, D. G., Vos, M. B., & Brunt, E. M. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annual Review of Pathology*, 5, 145–171. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102132>
- Torruellas, C., French, S. W., & Medici, V. (2014). Diagnosis of alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(33), 11684–11699. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i33.11684>
- Trefts, E., Gannon, M., & Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current Biology : CB*, 27(21), R1147–R1151. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
- Trimble, G., Zheng, L., Mishra, A., Kalwaney, S., Mir, H. M., & Younossi, Z. M. (2013). Mortality associated with alcohol-related liver disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 38(6), 596–602. <https://doi.org/10.1111/apt.12432>
- Uchida, T., Kronborg, I., & Peters, R. L. (1984). Giant mitochondria in the alcoholic liver diseases--their identification, frequency and pathologic significance. *Liver*, 4(1), 29–38. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1984.tb00904.x>
- Wang, X., Zhang, L., Li, P., Zheng, Y., Yang, Y., & Ji, S. (2022). Apelin/APJ system in inflammation. *International Immunopharmacology*, 109, 108822. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108822>
- Wang, Y., Millonig, G., Nair, J., Patsenker, E., Stickel, F., Mueller, S., Bartsch, H., & Seitz, H. K. (2009). Ethanol-induced cytochrome P4502E1 causes carcinogenic etheno-DNA lesions in alcoholic liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 50(2), 453–461. <https://doi.org/10.1002/hep.22978>
- Wysocka, M. B., Pietraszek-Gremplewicz, K., & Nowak, D. (2018). The Role of Apelin in Cardiovascular Diseases, Obesity and Cancer. *Frontiers in Physiology*, 9, 557. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00557>

- Xie, H., Yuan, L. Q., Luo, X. H., Huang, J., Cui, R. R., Guo, L. J., Zhou, H. D., Wu, X. P., & Liao, E. Y. (2007). Apelin suppresses apoptosis of human osteoblasts. *Apoptosis : an International Journal on Programmed Cell Death*, 12(1), 247–254. <https://doi.org/10.1007/s10495-006-0489-7>
- Yamamoto, T., Habata, Y., Matsumoto, Y., Yasuhara, Y., Hashimoto, T., Hamajyo, H., Anayama, H., Fujii, R., Fuse, H., Shintani, Y., & Mori, M. (2011). Apelin-transgenic mice exhibit a resistance against diet-induced obesity by increasing vascular mass and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810(9), 853–862. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.05.004>
- Yasui, K., Hashimoto, E., Komorizono, Y., Koike, K., Arie, S., Imai, Y., Shima, T., Kanbara, Y., Saibara, T., Mori, T., Kawata, S., Uto, H., Takami, S., Sumida, Y., Takamura, T., Kawanaka, M., Okanoue, T., & Japan NASH Study Group, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (2011). Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 9(5), 428–e50. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2011.01.023>
- Yasuzaki, H., Yoshida, S., Hashimoto, T., Shibata, W., Inamori, M., Toya, Y., Tamura, K., Maeda, S., & Umemura, S. (2013). Involvement of the apelin receptor APJ in Fas-induced liver injury. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, 33(1), 118–126. <https://doi.org/10.1111/liv.12006>
- Ye, Q., Lian, F., Chavez, P. R., Chung, J., Ling, W., Qin, H., Seitz, H. K., & Wang, X. D. (2012). Cytochrome P450 2E1 inhibition prevents hepatic carcinogenesis induced by diethylnitrosamine in alcohol-fed rats. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 1(1), 5–18. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3881.2012.11.05>
- Yki-Järvinen H. (2010). Nutritional modulation of nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance: human data. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(6), 709–714. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32833f4b34>
- Yokomori H, Oda M, Yoshimura K, Hibi T. Enhanced expressions of apelin on proliferative hepatic arterial capillaries in human cirrhotic liver. *Hepatol Res.* 2012; 42:508–14. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2011.00945.x>.
- Yokomori H, Oda M, Yoshimura K, Machida S, Kaneko F, Hibi T. Overexpression of apelin receptor (APJ/AGTRL1) on hepatic stellate cells and sinusoidal angiogenesis in human cirrhotic liver. *J Gastroenterol.* 2011; 46:222–31. <https://doi.org/10.1007/s00535-010-0296-3>.
- Yoshioka, Y., Hashimoto, E., Yatsuji, S., Kaneda, H., Tani, M., Tokushige, K., & Shiratori, K. (2004). Nonalcoholic steatohepatitis: cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and burnt-out NASH. *Journal of Gastroenterology*, 39(12), 1215–1218. <https://doi.org/10.1007/s00535-004-1475-x>
- Yoshiya, S., Shirabe, K., Imai, D., Toshima, T., Yamashita, Y. I., Ikegami, T., ... & Maehara, Y. (2015). Blockade of the apelin–APJ system promotes mouse liver regeneration by activating Kupffer cells after partial hepatectomy. *Journal of Gastroenterology*, 50(5), 573–582.
- Yue, P., Jin, H., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., Asagami, T., Kundu, R. K., Reaven, G. M., Quertermous, T., & Tsao, P. S. (2010). Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *American journal of physiology. Endocrinology and Metabolism*, 298(1), E59–E67. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00385.2009>
- Yue, P., Jin, H., Xu, S., Aillaud, M., Deng, A. C., Azuma, J., et al. (2011). Apelin decreases lipolysis via Gq, Gi, and AMPK-dependent mechanisms. *Endocrinology* 152, 59–68. doi: 10.1210/en.2010-0576
- Yue, R.; Chen, G.; Xie, G.; Hao, L.; Guo, W.; Sun, X.; Jia, W.; Zhang, Q.; Zhou, Z.; Zhong, W. Activation of PPAR α -catalase pathway reverses alcoholic liver injury via upregulating NAD synthesis and accelerating alcohol clearance. *Free Radic. Biol. Med.* 2021, 174, 249–263.
- Zhou, A., Lin, K., Zhang, S., Chen, Y., Zhang, N., Xue, J., Wang, Z., Aldape, K. D., Xie, K., Woodgett, J. R., & Huang, S. (2016). Nuclear GSK3 β promotes tumorigenesis by phosphorylating KDM1A and

inducing its deubiquitylation by USP22. *Nature Cell Biology*, 18(9), 954–966.
<https://doi.org/10.1038/ncb3396>

Zhu, S., Sun, F., Li, W., Cao, Y., Wang, C., Wang, Y., ... & Cao, F. (2011). Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular and cellular biochemistry*, 353(1), 305-313.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Seçil BAYRAKCI
Eğitim	
Lise	Balıkesir Cumhuriyet Anadolu Lisesi (2012)
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2012- 2018)
Yüksek Lisans	
Doktora	

EKLER

Ek-1. Yerel Etik Kurulu Kararı

Ünive	Y.c. BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ			
	HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU			
	1992 çığış Yerleşkesi, (Bigadiç yolu üzeri 17. km) 10145, BALIKESİR-TÜRKİYE			
	ARAŞTIRMA BAŞVURUSU DEĞERLENDİRME FORMU			
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Farelerde Yüksek Yağlı Diyet ve Alkol Tüketiminin Karaciğerde Apelin ve Apelin Reseptör Ekspresyonu Üzerine Etkilerinin Araştırılması"		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Prof. Dr. Hasan ÖZEN BAÜN Veteriner Fakültesi Patoloji AD.		
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Veteriner Hekim seçil BAKRAKCI BAUN Vet.Fak.		
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Yüksek Lisans		
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	02.04.2025 - 02.04.2026		
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	FARE - 32 Adet		
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı		Tarihi	
	HADYEK BAŞVURU FORMU		1710212025	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 202512-2 Tarih: 2710212025			
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin <u>etik açıdan uygun olduğuna</u>, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 4) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.			
ET K KURUL B LG LER				
ÜYELER				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki	İmza
Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN Başkan	Histoloji ve Embriyoloji	Veteriner Fakültesi		
Prof. Dr. Recai KULAKSIZ Başkan Vekili	Dölerme ve Suni Tohumlama	Veteriner Fakültesi		
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN Üye	Veterinerlik Cerrahisi	Veteriner Fakültesi		

Sayfa 1 / 2

Prof. Dr. Ziya İLHAN	Veterinerlik Mikrobiyolojisi	Veteriner Fakültesi		
Prof. Dr. Dilek TÜRKER Üye	Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi		
Prof. Dr. Hatice YILDIRIM Üye	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Fen Edebiyat Fakültesi		
Doç. Dr. Pelin PALAS KARACA Üye	Ebelik	Sağlık Bilimleri Fakültesi		
Doç. Dr. Muharrem EROL Üye	Veterinerlik Cerrahisi	Fakültesi		
Doç. Dr. İhsan KISADERE Üye	Veterinerlik Fizyolojisi	Veteriner Fakültesi		
Doç. Dr. Nevzat SAAT Üye	Veterinerlik Doğum ve Jinekolojisi	Veteriner Fakültesi		
Doç. Dr. Yasin BAYKALIR Üye	Biyoistatistik	Veteriner Fakültesi		
Dr. öğr. Üyesi Fatih UĞUN Üye	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Tıp Fakültesi		
Dr. öğr. Üyesi Oğuzhan KORKUT Üye	Tıbbi Farmakoloji	Tıp Fakültesi		
Dr. Mustafa H. YARANOĞLU Üye	Veterinerlik Doğum ve Jinekolojisi	BAUNDEHAM		
Vet. Hek. Hüdayi TANRIKULU Üye	Veteriner Hekim	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi		
Zir. Müh. Mustafa YILDIRIM Üye	Ziraat Mühendisi	Sivil Üye		

(*) Başvurulan Projelerde Proje Sahibi veya Yardımcı Araştırmacılardan birinin Yerel Etik Kurul Üyesi Derece veya 1. Akıması olması halinde ilgili üye proje kurul görüşmesine katılamaz.



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62
sagbilen@balikesir.edu.tr
<http://www.balikesir.edu.tr>

