Gallik Asidin Sıçanlarda HGF Sinyal Yolu Üzerinden Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi

Beyza ATALAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2026

Effect Of Gallic Acid On Lıver Regeneration In Rats Vıa HGF Sıgnalıng Pathway

Beyza ATALAN

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

Ocak 2026

Gallik Asidin Sıçanlarda HGF Sinyal Yolu Üzerinden Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi

Beyza ATALAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Mustafa UYANOĞLU

“ESOGÜ-BAP tarafından FYL-2025-3329 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Şubat 2026

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Beyza Atalan'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Gallik Asidin Sıçanlarda HGF Sinyal Yolu Üzerinden Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mustafa Uyanoğlu

İkinci Danışman :-

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof.Dr. Mustafa UYANOĞLU

Üye: Prof.Dr. Mediha CANBEK

Üye: Prof.Dr. Gökhan BAYRAMOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ……..…….. tarih ve ……..……. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. ....

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Mustafa UYANOĞLU danışmanlığında hazırlamış olduğum "Gallik Asidin Sıçanlarda HGF Sinyal Yolu Üzerinden Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi" başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 15/01/2026

Beyza Atalan

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIMI BEYAN FORMU

Bu tezi/projeyi hazırlarken aşağıdaki Üretken Yapay Zekâ (ÜYZ) araçlarından destek aldığımı beyan ederim:

Aşağıdaki ÜYZ araçlarını kullandım. (Birden fazla seçenek işaretlenebilir)

☐ Claude
☒ ChatGPT
☐ DeepSeek
☐ Gemini
☐ Copilot
☐ Diğer (Belirtiniz): .....

ÜYZ araçlarını tezimin/projemin aşağıdaki aşamalarında ilgili amaçlar için kullandım. (Birden fazla seçenek işaretlenebilir**.**

☐ Metin oluşturma
☒ Literatür tarama
☐ Çeviri
☒ Düzenleme/dil kontrolü
☐ Veri işleme ve analizi
☐ Veri görselleştirme
☐ Görüntü üretme
☐ Kaynakça düzenleme
☐Diğer (Belirtiniz): ……

Bu çalışmada ÜYZ kullanımı ***Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Faaliyetlerinde Üretken Yapay Zekâ Kullanımına Dair Etik Rehber***'e ve akademik dürüstlük ilkelerine uygun şekilde gerçekleştirilmiş olup ÜYZ araçlarından alınan destek etik kurallar ve kaynak gösterme esaslarına uygun biçimde belirtilmiştir.

ÜYZ araçlarının sağladığı bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi, yanlış veya eksik bilgi bulunması halinde tüm sorumluluğun tarafıma ait olduğunu; ayrıca çalışmamla ilgili bu beyana aykırı bir durumun herhangi bir zamanda tespit edilmesi durumunda ortaya çıkabilecek akademik ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi beyan ederim.

Beyza Atalan
13/02/2026

ÖZET

Karaciğer, yüksek rejenerasyon yeteneğine sahip bir organdır. Hasar görmesi ya da parsiyel hepatektomi (PHx) gibi durumlarda, karaciğerde kalan sağlıklı hepatositler hızla çoğalarak kaybolan dokuyu onarır. Karaciğerin onarım süreci, çeşitli sinyal yolakların aktifleşmesiyle başlar. Bu yolaklar hücrelerin büyümesini, hayatta kalmasını ve farklılaşmasını sağlar.

Hepatosit büyüme faktörü (HGF), karaciğer hücrelerinin yeniden oluşmasına ve fonksiyonel kapasitesini geri kazanmasında etkili bir faktördür. Karaciğer hasarı sonrasında, HGF salınımı artarak hücre çoğalmasını teşvik eder.

Gallik asit güçlü bir fenolik bileşiktir ve antioksidan, anti-inflamtuar ve hepatoprotektif nitelikleriyle de bilinmektedir. Antioksidan özelliği sayesinde serbest radikalleri nötralize eder ve oksidatif stresi azaltıcı etki gösterir.

Gallik asitin bu bilinen özellikleri HGF sinyal yolağının etkisini arttırarak karaciğerin daha hızlı iyileşeceği ve tam kapasiteye ulaşmasının daha kısa süreceğini düşündürmüştür.

ESOGÜ-BAP tarafından desteklenen FYL-2025-3329 numaralı projemizde, Gallik asitin sıçanlarda (Erkek Wistar albino) HGF yolağı üzerinden rejeneratif etkisine bakılmıştır. Pozitif kontrol grubunda etkisi kanıtlanmış Silmarin maddesi kullanılmıştır. Deney gruplarımız 4 ana grup ve 13 alt gruptan (n=6) oluşturulmuştur. Grup I (kontrol), Grup II (PHx+SF), Grup III (PHx+silmarin100 mg.kg-1i.p), Grup IV (PHx+gallik asit 200 mg.kg-1i.p). Daha sonra %70 PHx gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları 6, 12, 24, 48 saatlik sürelere kadar yaşatılmıştır. Deney sonunda HGF yolağına ait MEK ve ERK1 gen ekspresyonu RT-PCR ile incelenmiştir. Daha sonra MEK ve ERK1 genlerin protein analizleri western blot ile değerlendirilmiştir. Son olarak karaciğer hasarının en büyük belirteci olan ALT değerlerinin ölçümü yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer rejenerasyonu, HGF yolağı, Gallik asit, MEK/ERK-1

SUMMARY

The liver is an organ with a high capacity for regeneration. When damaged or in cases such as partial hepatectomy (PHx), the remaining healthy hepatocytes in the liver rapidly multiply to repair the lost tissue. The liver's repair process begins with the activation of various signaling pathways. These pathways enable cell growth, survival, and differentiation.

Hepatocyte growth factor (HGF) is an effective factor in the regeneration of liver cells and the restoration of their functional capacity. Following liver damage, HGF release increases, promoting cell proliferation.

Gallic acid is a potent phenolic compound and is also known for its antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective properties. Thanks to its antioxidant properties, it neutralizes free radicals and has an oxidative stress-reducing effect.

These known properties of gallic acid suggest that by enhancing the effect of the HGF signaling pathway, the liver will heal faster and reach full capacity in a shorter time.

In our project FYL-2025-3329, supported by ESOGÜ-BAP, we examined the regenerative effect of gallic acid in rats (male Wistar albino) via the HGF pathway. The substance Silmarin, whose effect has been proven, was used in the positive control group. Our experimental groups consisted of 4 main groups and 13 subgroups (n=6). Group I (control), Group II (PHx+SF), Group III (PHx+silymarin 100 mg.kg-1i.p), Group IV (PHx+gallic acid 200 mg.kg-1i.p). Subsequently, 70% PHx was performed. The experimental animals were kept alive for 6, 12, 24, and 48 hours. At the end of the experiment, the MEK and ERK1 gene expression of the HGF pathway was examined by RT-PCR. Subsequently, the protein analyses of the MEK and ERK1 genes were evaluated by western blot. Finally, ALT levels, the most significant marker of liver damage, were analyzed.

Keywords: Liver regeneration, HGF pathway, Gallic acid, MEK/ERK-1

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sürecinde bilgi, deneyim ve rehberlikleriyle bana yol gösteren, değerli görüşleri ve yapıcı eleştirileriyle çalışmamın kalitesini önemli ölçüde artıran tez danışmanım Prof. Dr. Mustafa Uyanoğlu'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans araştırma projeleri kapsamında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne "FYL-2025-3329" no'lu proje çerçevesinde sağladıkları finansal destekten dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her aşamada yol gösterici önerileri ve yapıcı eleştirileriyle sürece önemli katkı sağlayan doktora öğrencisi arkadaşım Hatice Nur Yücel'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süreci boyunca göstermiş olduğu sabır, anlayış ve destek ile motivasyonumun korunmasına katkı sağlayan Selim Yavuz'a teşekkür ederim.

Ve son olarak annem Hatice Atalan'a, babam Zafer Atalan'a ve kardeşim Tuğba Atalan'a eğitim-öğretim hayatım boyunca bana gösterdikleri güven, destek ve rehberlik için teşekkür ederim. Onların varlığı, zorluklarla başa çıkmamı kolaylaştırmış ve hedeflerime odaklanmam ile akademik sürecimi istikrarlı şekilde yürütmemde önemli bir rol oynamıştır. Her aşamada yanımda olmaları, fikirleriyle yol göstermeleri ve inançlarını esirgememeleri, bu çalışmanın başarıyla tamamlanmasına büyük katkı sağlamıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET ..... **vii**
SUMMARY ..... **viii**
TEŞEKKÜR ..... **ix**
İÇİNDEKİLER ..... **x**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xiii**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xiv**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI **3**
2.1. Karaciğerde Anatomik ve Histolojik Yapılanma 4
2.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Mekanizması 7
2.2.1. Sitokinler 9
2.2.2. Büyüme faktörleri 11
2.2.3. Sinyal yolları 12
2.2.3.1. HGF/c-Met (Hepatocyte Growth Factor/c-Met) sinyalizasyonu 13
2.3. Polifenol Bileşikler ve Gallik Asit 14
3. MATERYAL VE YÖNTEM **20**
3.1. Deneysel Tasarım 20
3.2. Anestezi ve Cerrahi Uygulamalar 21
3.3. Biyokimyasal Analizler 22
3.4. Moleküler Biyolojik Analizler 23
3.4.1. RT-PCR analizi 23
3.4.2. Western Blot analizi 25
3.5. İstatistiksel Analiz 27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA **28**
4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi 28

İÇİNDEKİLER

Sayfa

4.2. Moleküler Biyolojik Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi 30
4.2.1 RT-PCR analizi sonuçları ve değerlendirilmesi 31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 44
KAYNAKLAR DİZİNİ 46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil **Sayfa**

2.1. Sıçan karaciğerinde anatomik lobların konumu 4
2.2. Karaciğerde lobüler yapılanma şeması 6
2.3. Hepatektomi işlemi sonrası karaciğer yenilenmesi 8
2.4. PHx ‘ten sonra karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunan sitokinler, büyüme faktörleri ve sinyal yolları arasındaki şematik ilişki 9
2.5. PHx'ten sonra karaciğer rejenerasyonunu düzenleyen HGF'nin moleküler mekanizması..... 14
4.1. Deney gruplarında saatlere göre ALT (U/L) düzeyleri. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1:p<0,01, 2:p<0,001, 3:p<0,0001)..... 30
4.2. Deney gruplarında saatlere göre MEK geni ekspresyon düzeyleri. (A) 6 saat (B) 12 saat (C) 24 saat ve (D) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1: p<0,05, 2:p<0,01, 3:p<0,001)..... 34
4.3. Western Blot analizinde elde edilen β-aktin ve ERK-1 proteinlerine ait bant görüntüleri. 38
4.4. Deney gruplarında saatlere göre β-aktin protein ekspresyon düzeyleri. (A) 12 saat (B) 24 saat ve (C) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir (p<0,0001). 41
4.5. Deney gruplarında saatlere göre ERK-1 protein ekspresyon düzeyleri. (A) 12 saat (B) 24 saat ve (C) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1: p<0,05, 2: p<0,0001). 43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge **Sayfa**

2.1. Polifenol bileşik grupları 16
3.1. cDNA Sentezi için kullanılan materyaller ve miktarları 24
3.2. cDNA Sentezi İçin Sıcaklık ve Süre Değerleri 24
3.3. Kullanılan Primerler 24
3.4. Real Time PCR için kullanılan maddeler ve miktarları 25
3.5. Kullanılan RT-PCR Protokolü 25
4.1. Deney Gruplarına Göre ALT Değerlerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri ... 28
4.2. MEK ve ERK-1 genlerinin deney gruplarına göre Ekspresyon düzeyleri 32
4.3. Normalize edilmiş protein ekspresyon düzeyleri 39
4.4. Protein ifade düzeylerinin istatistiksel özeti (Mean ± SD) 39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	**Açıklama**
α	Alfa
β	Beta
C°	Santigrat
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kDa	Kilo Dalton
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
ng	nanogram
nm	Nanometre
p	Anlamlılık seviyesi
rpm	Dakikada dönme sayısı
sn	Saniye
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikrometre

Kısaltmalar	**Açıklama**
A	Adenin
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat Aminotransferaz

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BR	Protein Broad Range
C	Sitozin
$C_7H_6O_5$	Gallik Asit molekül Formülü
Ca	Kalsiyum
c-Met	Mezenkimal-epitel geçiş
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
EC	Endotel hücreleri
EC	Vasküler endotel hücreleri
ECM	Karaciğer ekstraselüler matrisi
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ErbB	Eritroblastik lösemi viral onkogen ailesi
ErbB1 (EGFR)	Epidermal büyüme faktörü reseptörü-1
ErbB2	Epidermal büyüme faktörü reseptörü-2
ErbB3	Epidermal büyüme faktörü reseptörü-3
ErbB4	Epidermal büyüme faktörü reseptörü-4
ERK1	Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinaz
G	Guanin
GA	Gallik Asit
gp130	Glikoprotein 130
GRB2-SOS	Adaptör protein kompleksi (Grb2–SOS)
HB-EGF	Heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörü

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HGF	Hepatosit büyüme faktörü (*Hepatocyte Growth Factor*)
HGF/c-Met	HGF-c-Met sinyal yolu
HSC	Hepatik stellat hücreleri
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IL-6	Interlökin-6
IL-6R	İnterlökin 6 Reseptörü
i.p.	İntraperitoneal
JAK	Janus kinaz
JNK	Jun-N-terminal kinaz
KC	Kupffer hücreleri
MAPK	Mitogenle aktive olan protein kinaz
MEK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
Mg	Magnezyum
MMP-9	Matriks Metallopeptidaz 9
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
mTOR	Rapamisinin memeli hedefi
NF-κB	Nükleer Faktör kappa B
P38	p38 MAPK
PHx	Parsiyel hepatektomi
PI3K-AKT	Fosfoinozitid-3 kinaz / AKT sinyal yolu
Pro-HGF	HGF'nin inaktif öncü formu

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ras-Raf-ERK	Ras/Raf/ERK sinyal yolakları
RT-PCR	Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
SF	Serum Fizyolojik
SLY	Silymarin
SOD	Süperoksit dismutaz
STAT	Transkripsiyon Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (*Signal Transducer and Activator of Transcription*)
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
T	Timin
TGF-α	Dönüştürücü büyüme faktörü-alfa
TGF-β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü beta
TNF-R1	Tümör Nekroz Faktör Reseptörü-1
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
uPa	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü
Wnt-β	Wnt/β-katenin sinyal yolu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenen, vücudun en büyük organıdır ve temel olarak depolama, metabolizma, bağışıklık gibi faaliyetlerde görev alır (Hall, 2016). Karaciğer vücutta bulunan diğer organlara kıyasla, kendini yenileyebilme özelliği sayesinde öne çıkmaktadır. Karaciğerin kendini yenileme yeteneği, vücuda zarar veren durumların ardından organın toparlanmasına yardımcı olur. Ancak, karaciğerdeki hasar sürekli hale geldiğinde ve bu hasar tekrarladıkça, organın yapısında kalıcı değişiklikler meydana gelebilir. Bu süreçte, hasar gören dokular karaciğer rejenerasyonu yoluyla onarılmaya çalışılır. Hepatit virüsleri (Hepatit B ve C), karaciğer yağlanması, diyabet, alkol kullanımı, ilaçlar ve toksinler gibi hasar alması veya bir parçasının alınması durumunda, kendini tamamlayıcı, fonksiyonel olarak etkin olduğu kütlesine dönmeyi sağlayan üç aşamalı rejenerasyon sürecinde replikasyon ve proliferasyon faaliyetlerini başlatır. (Berber ve Canbek, 2017).

Yapılan çalışmalarda parsiyal hepatektomi sonrası kuersetinin karaciğer rejenerasyonundaki etkisine bakılmış ve apoptotik indeksi azaltıcı etki gösterdiği mitotik indeks proliferasyon indeksini arttırdığı görülmüştür. Bunlara ek olarak bozulmuş antioksidan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini ve glutatyon seviyesini geri kazandırmıştır (Kanter, 2016). Bir diğer çalışmada da alkolik karaciğer hastalığı olan sıçanlarda kaempferol verilerek hepatik safra asidi sentezini inhibe etttiği ve safra asidi homeostazını koruduğu görülmüştür (Xiao vd., 2025). Bu çalışmalarda adı geçen kuersetin ve kaempferol dışında mirisetin ve fisetin de polifenollerin alt grubundan flavonoid sınıfına girmiş olan bitkisel maddelerdir.

Polifenollerin alt gruplarından biri olan ve son yıllarda adından sıkça söz ettiren fenolik asitler arasında gallik asit yer almaktadır. Gallik asit, limon, fındık, ayçiçeği, böğürtlen, muz gibi, yakından bildiğimiz gıdalarda bulunan ve kapalı formülü $C_7H_6O_5$ olan fenolik bir asittir (Çakır vd., 2023). Gallik asit, güçlü antioksidan özellikleri ve çeşitli biyolojik etkileri ile sağlık açısından önemli bir bileşiktir. Hem geleneksel tıpta hem de modern biyoteknolojik araştırmalarda önemli bir yer almıştır. Sağlık, cilt bakımı ve gıda endüstrisi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Fernandes ve Salgado, 2016).

Son yapılan araştırmalarda gallik asit ve karaciğer rejenerasyonu arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu araştırmaların sonuçları gallik asitin güçlü antiinflamatuar ve antioksidan özellikler göstermesiyle karaciğer rejenerasyonuna etkisi olabileceğini düşündürmüştür. Naglaa M. El-Lakkany vd. (2019), gallik asitin hepatik yıldız hücrelerinin çoğalmasını azaltarak hepatik fibrozun ilerlemesini durdurduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka araştırmada da Reckziegel vd. (2016), gallik asitin sıçanlarda böbrek ve karaciğer üzerindeki antioksidan özelliğini oksidatif stresi azalttığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada gallik asidin sahip olduğu bu özellikler doğrultusunda sıçanlarda ilk kez HGF sinyal yolağı üzerinden karaciğer rejenerasyonuna etkisinin araştırılması planlandı. Karaciğer hücrelerinin çoğalmasını ve yenilenmesini doğrudan tetikleyen HGF üretiminden sorumlu genlerin ifadelerinde antioksidan ve antiinflamatuar özellikleriyle bilinen gallik asitin etkilerini belirlemek çalışmanın amacını oluşturmuştur.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Karaciğer, insan vücudunda yaklaşık 1.5 kg ağırlığında olan en büyük bez özelliğine sahiptir. Karın boşluğunun sağ üst kısmında yer alır ve göğüs kafesi ile diyafram tarafından korunur. Bu, karaciğerin fiziksel olarak darbelere karşı korunmasına yardımcı olur. Ayrıca, karaciğerin büyük kısmı sağ hipokondriyum bölgesinde bulunurken, bir kısmı epigastriyum bölgesine de yayılır. Karaciğerin diyafragmatik yüzeyi, genellikle peritonla örtülmüş olup aynı zamanda organın çevresindeki koruyucu zarın bir bölümünü oluşturur. Karaciğerin arka yüzeyi olan retroperiton ise peritondan yoksundur (Moore vd., 2014).

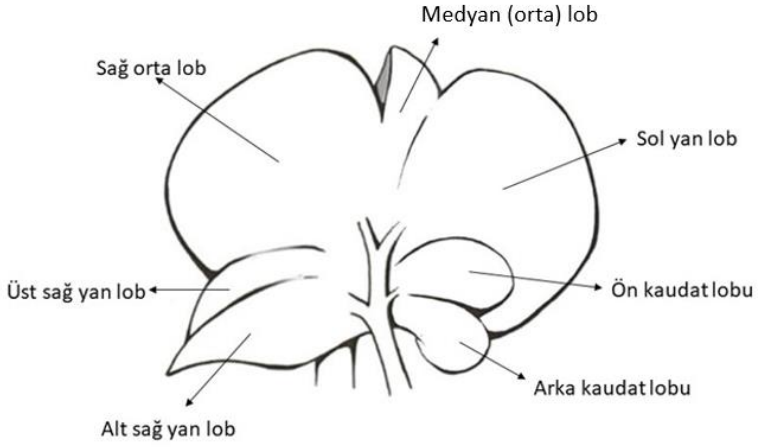
Karaciğer hem ekzokrin hem de endokrin salgılama yaparak metabolik faaliyetleri düzenleyen en büyük organdır. Karaciğerin ekzokrin görevi, vücudun sindirim sistemine yardımcı olmak ve besinlerin daha verimli emilmesini sağlamak amacıyla safra üretimi ve salınımıyla yağların katabolizmasını sağlamaktır (Önür vd., 2001; Guyton ve Hall, 2016).

Karaciğerin endokrin fonksiyonları, hormanların üretimi ve salınmasıyla ilişkilidir. En önemlilerden ilki İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) üretimidir. IGF-1, hücre bölünmesi, büyüme ve gelişme evrelerini düzenler. Karaciğer aynı zamanda albümin adı verilen bir plazma proteini üretir. Kan plazmasında bulunan ve kanın osmatik basıncını düzenleyen bu protein vücutta birçok maddenin (hormonlar, ilaçlar vb.) taşınmasını sağlar. Karaciğer, hücrelerin yenilenmesini ve doku onarımına teşvikte bulunan büyüme faktörlerini de salgılar. Bunlar rejenerasyon için önemli özelliktedir. Bu hormonlar, vücudun büyüme, kan basıncı düzenlemesi, pıhtılaşma ve protein üretimi gibi temel işlevlerini destekler.

Glukoz üretimi ve depolanması, yağ asitlerinin dönüştürülmesi ve protein metabolizmasının düzenlenmesi, ilaç, alkol ve diğer toksin türden maddelerin detoksifikasyonu başta olmak üzere pıhtılaşma faktörlerinin üretimi ile bağışıklık sisteminde önemli bir yere sahip olan Kupffer hücrelerini barındırmak da karaciğer tarafından yapılmaktadır (Şentürk ve Karabıyık, 2019). Ayrıca A, D, E, K ve B12 gibi vitaminler ile demir ve bakır gibi minerallerin de depolanma işlemlerini karaciğer üstlenmiştir (Schiff vd., 2011). Temel olarak sıralanmış bu hayati fonksiyonları üstlenen karaciğerin hasarlanması durumunda kendisini yenilebiliyor olması son derece önemlidir.

2.1. Karaciğerde Anatomik ve Histolojik Yapılanma

Anatomik olarak safra kesesi bulunmayan sıçanlarda karaciğer sol, orta, sağ ve kaudat lob olmak üzere dört ana lobdan oluşmaktadır (Şekil 2.1) (Bao vd., 2011). Sol ve orta lobun birleşmesi ile tek bir yapının meydana geldiği gözlenmektedir. Orta lobda yuvarlak bağın bağlantı kısmında derin bir çentik bulunur. Sağ lob iki alt lob olarak gruplandırılabilir. Kaudat lob, parakaval bölge ve spiegel lobu olmak üzerek ikiye ayrılır. Spiegel lobu, karaciğeri oluşturan sağ lobun alt kısmına bağlıdır. Kaudat lob da bu alanda önemli bir yapı oluşturmaktadır. Bu dört lobdan sol sağ ve kaudat lobları, birincil portal dalına sahiptir. Ancak orta lob iki portal dalı içermektedir. Karaciğerde bulunan kanın atılmasında hepatik venler görev almaktadır. Sol, sağ ve kaudat loblarında birer tane büyük hepatik ven gözlemlenirken, orta lob ise üç büyük hepatik vene sahiptir.



Şekil 2.1. Sıçan karaciğerinde anatomik lobların konumu (Nagai vd., 2013)

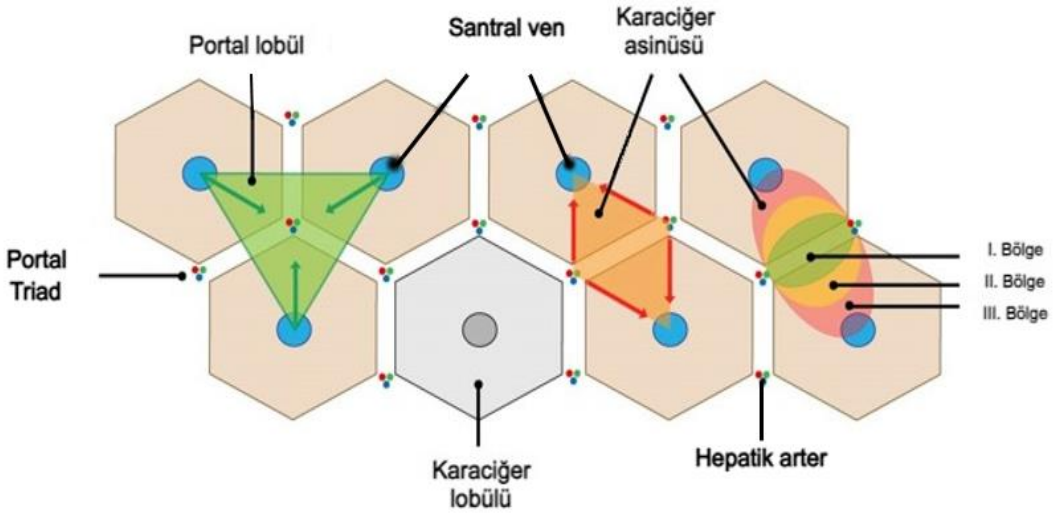
Portal ve hepatik venlerin dallanma düzenleri, sıçan karaciğerinin hepatik bileşenlere ayrıldığını göstermektedir. Ayrıca bu durum lobun ana bir portal fissüre sahip olduğunu da göstermektedir (Kogure, 1999). Karaciğer histolojik yapılanmasında üç ana birim vardır. Bu birimler klasik lobül, portal lobül ve karaciğer asinüsü olarak tanımlanır (Şekil 2.2).

Klasik lobül, karaciğerin işlevsel birimi olarak en yaygın tanımı olandır. Altıgen şekilli lobüllerin ortasında merkezi toplardamar (santral ven) bulunur. Lobüllerin

köşelerinde ise her biri portal triad/ üçlü içerir (Şekil 2.2). Portal triad portal ven, hepatik arter ve safra kanalı sisteminden oluşur. Klasik lobülde, bu damarlar sinüzoidlerde birleşir. Sinüzoidler, karaciğerin özel kan damarlarıdır ve klasik damar yapılarından farklıdırlar. Sinüzoid damarlar, portal venin ve hepatik arterin birleştiği bölgelerde yer alır. Bu damarlar, geniş ve geçirgen olup, kanın karaciğer hücreleri (hepatosit) doğrudan temas etmesini sağlar. Sinüzoidlerin yapısı, vücuttan gelen besin, ilaç, hormonlar, atık maddeler ve oksijen açısından zengin kanın, hepatositlerle doğrudan etkileşime girmesine olanak tanır. Portal kanallar lobüllerin en dışındaki hepatositler ile sınırlandırılmıştır. Portal kanal ile hepatositlerin arasındaki boşluğa Mall aralığı (=periportal) aralık denir. Bu aralık karaciğerin lenfatik akışının başladığı yerdir (Itkin vd., 2020).

Portal lobül, daha çok karaciğerin ekzokrin fonksiyonlarını anlamak için kullanılır. Bu yapıda, portal triadın elemanı olan interlobüler safra kanalı, lobülün merkezini oluşturur. Kenarlarda ise üç santral ven bulunur (Şekil 2.2). Bu yapısal düzenleme, safra üretimini ve safra kanalına drenajını anlatmak için kullanılır. Bu yapısal düzenleme, safra üretiminin ve taşımasının nasıl işlediğini anlamaya yardımcı olur. Portal lobül, diğer ekzokrin bezlerdeki maddelerin akışı gibi merkezden çevreye doğru bir akış prensibini kullanır. Bu modelde, safra üretimi merkeze doğru yapılırken, diğer maddeler gibi atıklar ve besinler çevreye doğru taşınır (Akbulut, 2021).

Karaciğer asinüsü, karaciğerin fonksiyonel yapısını daha iyi açıklamak için geliştirilmiş bir kavramdır. Bu yapıda, iki portal triad ve iki santral ven temel alınarak dörtgen bir alan tanımlanır (Uyanoğlu, 2006). Bu dörtgen alan, kanlanma miktarına göre üç zona/ bölgeye ayrılır: Bölge 1 en iyi oksijen alan, bölge 2 orta seviyede oksijenlenen ve bölge 3 en düşük seviyede oksijenlenen bölgedir (Şekil 2.2). Bu yapı, oksijen perfüzyonunu ve karaciğerin metabolik aktivitelerini anlamada daha fonksiyonel bir model sunar. Aynı zamanda, karaciğerin patolojik durumlarını belirlemede de etkin bir şekilde kullanılır (Ma X, vd., 2025; Akbulut, 2021).



Şekil 2.2. Karaciğerde lobüler yapılanma şeması (*[Fontana, Josef, ve diğerleri. "Hücrelerin ve İnsan Vücudunun Fonksiyonları: Multimedya Ders Kitabı." Karaciğer ve Ksenobiyotiklerin Biyotransformasyonu,* http://fblt.cz/en/skripta/ix-travici-soustava/5-jatra-a-biotransformace-xenobiotik/*])*

Karaciğerin farklı bölgelerinde bu ve benzeri şekilde farklı hücresel cevapların olması nedeniyle rejenerasyon yönünden lobül içi farklılıklar da olabilmektedir. Örneğin santral ve periportal zonlarda yer alan hepatositlerde oksijen miktarlarının birbirlerinin yarısı kadar olması nedeniyle oksijen bağımlı transkripsiyon faktörlerinin de etkileri farklılık göstermektedir (Fausto ve Campbell, 2003). Karaciğer lobülünün portal alanı yakınlarına yerleşmiş olan hepatositler, hücre döngüsünün S fazına santral ven çevresine yerleşmiş olan hücrelerden daha hızlı biçimde erişirler (Kay ve Fausto, 1997). Hepatosit proliferasyonu periportal zonda başlayıp 36-48 saat içinde perisentral zona ulaşarak yaklaşık 7 günde de 8 tipik karaciğer lobülleri yapılanır (Mimuro vd., 2002; Palmes ve Spiegel, 2004). Bu bilgiler, karaciğer rejenerasyonunu yönlendiren faktörler ile bunların verdiği sinyallerin lobül içindeki etki ve durumlarını ortaya koyar niteliktedir.

Araştırıcılar karaciğer rejenerasyonunun üç fazdan oluştuğu konusunda aynı fikirdedirler. Başlangıç fazı bu fazlar arasında en kısa sürenidir. Başlangıç aşamalarının tetikleyicilerinin açıklığa kavuşturulması için en fazla analiz edilen fazdır. Heposit lerin büyük bir çoğunluğu G_0 fazında bekler. Hücre döngüsüne giriş ise G_1 fazı ve $G_{1/}$ S kontrol noktası ile olur. Süreç Ekstrasellüler matriks'in çözünmeye başlaması ile başlar. Çoğalma fazında ise deoksiriboz nükleik asit (DNA) sentezi gerçekleştiren heposit ler, hücre döngüsünü tamamlar ve G_0 fazındaki haline geri dönerler. Sayıca az olan bir grup heposit

ikinci kez mitoz bölünme aşaması geçirir. Ekstrasellüler matriks oluşumu tekrar gözlemlenir. Sonlanma fazı karaciğer kütlesinin eski formunun tekrar elde edilmesi için hepatik homeostazisinin yeniden yapılanması olayıdır. Bu aşama yaklaşık 4 ile 7 gün arasında gerçekleşir (Berber ve Canbek, 2017).

Karaciğer rejenerasyonu hepatositlerin hazırlanması, Kupffer hücrelerinin aktivasyonu, büyüme faktörlerinin salınımı, hücre döngüsü ilerlemesi ve karaciğerin yeniden yapılandırılması gibi karmaşık hücresel süreçlerin bir arada işlediği bir olaydır. Hepatositler TNF-α, IL-6, HGF, TGF-α gibi sitokinler ve büyüme faktörleri aracılığıyla uyarılır ve hücre döngüsüne girerek karaciğer doku hasarını onarmaya başlar (Ozaki, 2020).

Tıp bilim ve teknoloji bu denli ilerlemesine rağmen, karaciğer rejenerasyonunda gerçekleşen, hücresel hipertrofi, hücre bölünmesi, nükleer bölünme, anjiyogenez, gibi örnek verilecek temel çaplı mekanizmalar hakkında bilgiye sahip olunsa da, hala keşfedilemeyen birçok unsur mevcuttur (Berber ve Canbek, 2017).

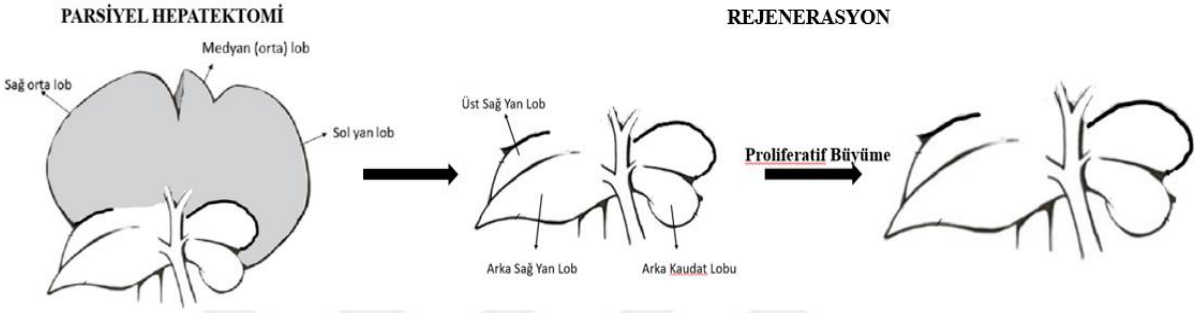
Sıçanlarda karaciğerin insanlarınkine benzer yapıda olması biyolojik araştırmalarda kullanılmasına olanak vermektedir. Hepatotoksisite çalışması ile kimyasal maddelerin sıçan vücuduna girişi sağlanarak, vücuttaki karaciğer hasarı incelenir. İlaç metabolizması ile insan vücudunda test yapılmadan önce, sıçan karaciğerindeki değişimler gözlemlenerek, ilacın fayda ve zarar noktasında hangi konumda olduğuna ilişkin bulgular aranır. Sıçanlardaki karaciğerin, yüksek hızlı yenileme kapasitesi, rejenerasyon çalışmalarında sıçanların önemli bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır.

2.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Mekanizması

Karaciğer rejenerasyonuna dair bilimsel kaynaklarda rastlanabilecek ilk deneysel model çalışmaları Higgins ve Anderson (1931) isimli Amerikalı bilim insanları tarafından gerçekleştirilmiştir. 1900'lü yıllarda yaptıkları deneylerde sıçanlara eter anestezisi uygulayıp, subtotal lobektomiyle karaciğerin sol ve orta lobunu cerrahi işlem uygulayarak çıkarmışlardır. Bu deneyler diğer araştırmalara ve deneylere ışık tutarak öncülük etmişlerdir. Sonraki deneylerde de bu teknik kullanılarak yapılmıştır. Higgins ve Anderson'un kendileri ve öncülük ettiği diğer bilim insanları, sıçanlar üzerinde uyguladığı cerrahi işlem sonrasında,

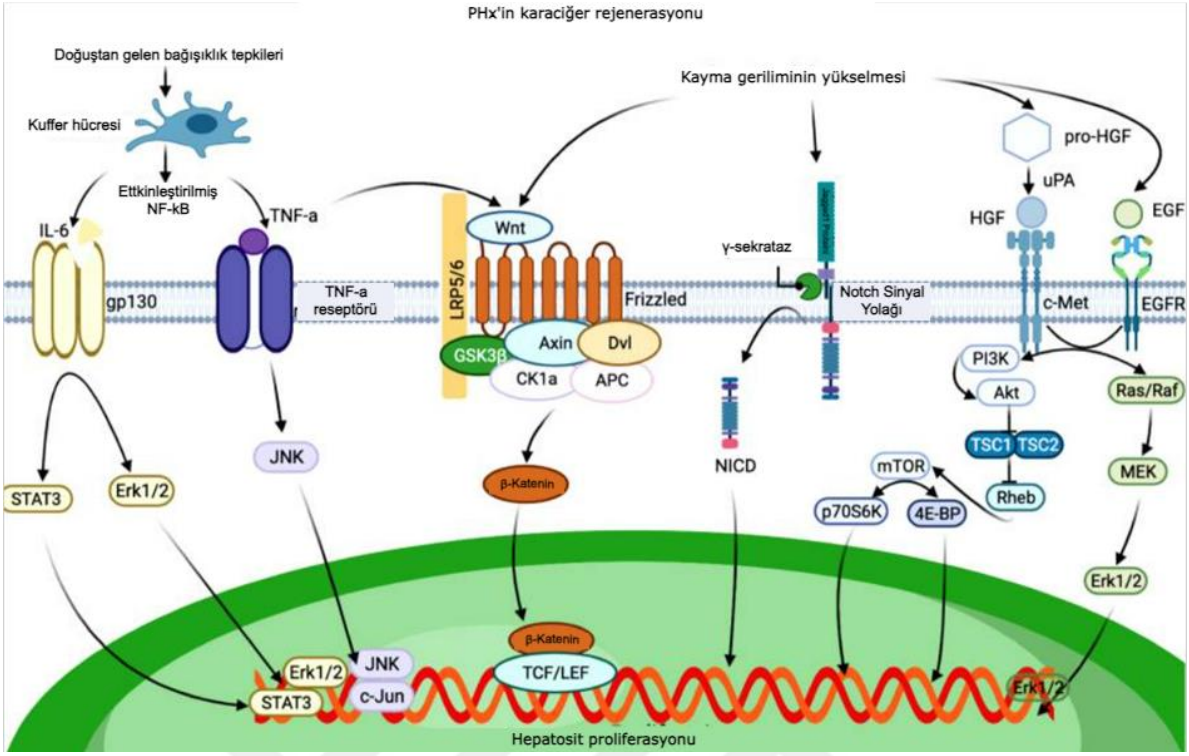
sıçanlardan alınan karaciğer loplarının %75'lik kısımlarının tamamladığını gözlemlemişlerdir (Gökçimen vd., 1999).

Karaciğer tümörlerinde parsial (kısmi) hepatektomi (PHx) tekniği en kolay ve verimli tedavi türü olması yanında karaciğerin rejenarasyon mekanizmasının açıklanması bakımından da önem arz eder (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Hepatektomi işlemi sonrası karaciğer yenilenmesi (Nagai vd., 2013)

Karaciğerde rejenerasyon süreci başlangıç, çoğalma ve sonlanma biçiminde üç aşamaya ayrılır. Bu süreçte çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve sinyal yolları önemli rol oynar (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. PHx'ten sonra karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunan sitokinler, büyüme faktörleri ve sinyal yolları arasındaki şematik ilişki (Huang vd., 2021)

2.2.1. Sitokinler

Vücutta inflamasyon, bağışıklık, hemotopoezin gerçekleşmesinde görev alan, olayların düzenlenmesinde rol oynayan proteinlerdir. IL-6 (Interlökin-6), karaciğer rejenerasyonunun başlatılmasında önemli bir rol oynayan, güçlü bir pro-inflamatuar sitokindir. İltihaplanma sürecinde, enfeksiyonları azaltarak hasarlı hücreleri ortadan kaldırır ve doku onarımı ve rejenerasyonu süreçlerini başlatır. Karaciğer akut hasara uğradığında, IL-6, hepatosit homeostazını ve mitozu destekleyerek karaciğerin işlevini korur ve aynı zamanda karaciğerin rejenerasyonunu teşvik eder. Hepatosit hasarı sırasında Kupffer hücreleri uyarılır ve bu da NF-kB sinyal yolunun aktive olmasına yol açar (Valizadeh vd., 2019). Aktivasyon sonucu, NF-kB çekirdeğe taşınarak daha fazla IL-6 ve TNF-α salgılar. TNF-α, IL-6'nın ekspresyonunu otokrin olarak artırır (Kishimoto, 2010). Artan IL-6, reseptörüne (IL-6R) bağlanarak IL-6/IL-6R kompleksi oluşturur. Bu kompleks, glikoprotein 130 kDa (gp130) adlı bir reseptör proteinini aktive eder. gp130, iki önemli sinyal yolunun başlatılmasına neden olur (Dirk Schmidt-Arras ve Stefan Rose-John 2016). Bunlardan ilki Janus kinaz (JAK) ve Transkripsiyon Aktivasyon Sinyal Dönüştürücü (STAT) yolu

(JAK/STAT), hücre büyümesi, hayatta kalma, farklılaşma ve patojenlere karşı direnç gibi önemli biyolojik süreçleri düzenler (Dodington vd., 2018). İkincisi ise MEK/ERK yolu olup hücre çoğalmasında ve proliferasyonda kritik rol oynar (Değirmenci vd., 2020) (Bkz. Şekil 2.4). IL-6'nın karaciğer rejenerasyonundaki rolü, IL-6 reseptörlerinin ve bu yolların etkinliğiyle bağlantılıdır. IL-6'nın eksik olduğu fare modellerinde, anti-apoptotik faktörlerde azalma ve apoptotik yolların değiştiği gözlemlenmiştir (Li vd., 2001). Bu durum, IL-6'nın hem karaciğer fonksiyonunu koruma hem de karaciğerin rejenerasyonunu destekleme kapasitesinin önemini vurgular.

TNF-α (Tümör Nekroz Faktörü alfa), çeşitli biyolojik etkileri olan bir sitokindir. Metabolik aktivasyon, inflamatuar yanıtlar, nekrotik hücre ölümü ve hücre proliferasyonu gibi çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Bu biyolojik etmenler sayesinde TNF-α'nın hem sağlıklı dokularda hem de hastalık durumlarında önemli bir rol oynamasına neden olur (Liedtke ve Trautwein, 2012). TNF-α, TNF-R1 reseptörüne bağlanarak NF-kB yolunu aktive eder. Bu yol, anti-apoptotik ve pro-inflamatuar etkiler gösterir, yani hücrenin hayatta kalmasını teşvik eder ve inflamasyonu başlatır. Ayrıca, TNF-α karaciğerde c-Jun N-terminal kinaz (JNK) 1/2 yolunu aktive eder, bu da transkripsiyon faktörü c-Jun ve hedef genlerin ekspresyonunu artırır. JNK etkileşimlerinin karmaşıklığı nedeniyle, TNF-α'nın bu yol aracılığıyla hepatosit proliferasyonu veya apoptoza etki edip etmediği konusu hala araştırılmaktadır, ancak var olan çalışmalar TNF-α'nın bu iki varsayımın da olabileceğini öne sürmektedir (Lemire vd., 1991). TNF-α'nın bir diğer önemli etkisi, karaciğerdeki metalloproteinaz 9 (MMP-9) ekspresyonunu azaltmasıdır. Bu etki, karaciğerin yeniden şekillenmesine ve rejenerasyonuna katkıda bulunur. Bu da TNF-α'nın karaciğer iyileşme süreçlerinde önemli bir rol oynadığını gösterir (Haruyama vd., 2000). TNF-α, aynı zamanda hepatositlerin in vivo ve in vitro çoğalmasını destekler. Peng vd. (2018), yaptığı bir çalışma, TNF-α'nın sağladığı ortamda hepatositlerin çoğalabileceğini ve bu ortamın uzun süreli kültürlerde hepatositlerin sağlıklı bir şekilde proliferasyonunu sürdürebileceğini göstermektedir.

2.2.2. Büyüme faktörleri

Endotelyal growth (büyüme) faktör (EGF) Brunner bezleri ve tükürük bezleri tarafından sentezlenen ve salgılanan heparin bağlı EGF (HB-EGF), karaciğer gibi hedef dokularda endokrin, parakrin ve otokrin yollarla etkisini gösterir (Md Gulam Musawwir Khan vd., 2019). Bu, karaciğerin rejenerasyonunda ve hücresel tepkilerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. ErbB ailesi, ErbB1 (EGFR), ErbB2, ErbB3 ve ErbB4 gibi dört reseptör içerir (Michalopoulos ve Khan, 2005) Bu reseptörler, hücre büyümesi, göçü, yapışması ve hayatta kalması gibi süreçleri düzenleyen önemli sinyal yollarını başlatır. ErbB1'in en bilinen ligandı EGF'dir ve bu ligand, ErbB1 üzerinden Ras-Raf-ERK ve PI3K-AKT sinyal yollarını aktive eder. Bu yollar, hücre büyümesi ve bölünmesi gibi temel süreçleri düzenler. HB-EGF'nin genetik olarak eksik olduğu (knockout) farelerde, karaciğerin yeniden yapılanması engellenir ve hepatositlerin DNA sentezi, özellikle 1/3 PHx sonrasında gecikir. Bu durum, HB-EGF'nin karaciğerin iyileşmesinde önemli bir rol oynadığını gösterir. HGF (Hepatocyte Growth Factor) sinyallemesi, c-Met homodimerleri aracılığıyla yapılırken, EGF sinyallemesi ErbB ailesi reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirilir. Bu iki sinyal yolu farklı mekanizmalarla hücre büyümesini ve rejenerasyonu etkiler. HGF, genellikle karaciğerin iyileşmesinde önemli bir rol oynarken, EGF ve ErbB1 reseptörü de karaciğerin büyümesi ve fonksiyonel düzenlemeleri üzerinde etkili olur. EGF'nin inhibe edilmesi, hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonunun bozulmasına yol açar ve hepatosit bölünmesinde gecikmeye neden olur. Bu da EGF'nin karaciğer rejenerasyonundaki kritik rolünü pekiştirir.

Dönüştürücü Büyüme Faktörü beta (TGF-β) karaciğerin rejenerasyonunun sonlanmasında kritik rol oynayan önemli bir sinyal molekülüdür. TGF-β genellikle mezenkimal hücreler (HSC'ler, KC'ler ve trombositler gibi) tarafından parakrin şekilde sentezlenir ve salınır. PHx sonrası TGF-β, hepatik stellat (yıldız) hücreleri (HSC'ler) aktive ederek kollajen ve diğer ekstrasellüler matris bileşenlerinin üretimini artırır. Bu durum, karaciğer dokusunun yenilenmesini ve iyileşmesini destekler. TGF-β, aynı zamanda hepatositlerin çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik eder. TGF-β, karaciğerin yenilenmesinde dengeli bir şekilde çalışmalıdır Düşük seviyelerde TGF-β, hepatositlerin çoğalmasını ve doku onarımını desteklerken, aşırı yüksek seviyelerde TGF-β, fibrozis gelişimine ve karaciğerde fonksiyon kaybına yol açabilir.

HGF, mezenkimal hücreler tarafından salgılanan ve HSC'ler, vasküler endotel hücreleri (EC'ler) ve Kupffer hücreleri (KC) gibi farklı hücre tiplerinde ifade edilen önemli bir büyüme faktörüdür (Matsumoto ve Nakamura, 1991). Yaralanma ve hastalık modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, HGF'nin hücre sağkalımını ve doku yenilenmesini teşvik ettiğini, aynı zamanda kronik inflamasyon ve fibrozu iyileştirdiğini göstermektedir. Örneğin, HGF'nin karaciğer hasarları sonrası iyileşme süreçlerinde, fibrozu azaltma ve dokuyu onarma üzerindeki olumlu etkileri vurgulanmıştır. HGF'nin bu tür onarıcı etkileri, onun iyileşme süreçlerindeki kritik rolünü gösterir (Jangphattananont vd., 2019)

HGF, tirozin kinaz reseptörü c-Met için spesifik bir ligand olup, bu etkileşim dokuların korunmasında ve yenilenmesinde kritik bir rol oynar. Bu yol, doku onarımı, hücre çoğalması ve hayatta kalma gibi önemli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir etkendir. Ancak HGF/c-Met yolunun aktivasyonu, tümör hücrelerinin invazyonunu ve metastazını teşvik edebilir. Ayrıca, lenf ve kan damarlarının oluşumu tümör büyümesinin güçlü bir indükleyicisidir. Bu nedenle, HGF'nin tümör gelişimi ve metastazındaki rolü, kanser tedavisi açısından önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır (Huang vd., 2021).

2.2.3. Sinyal yolları

Sinyal yolları, karaciğerin dış ortamdan gelen sinyalleri algılayarak içsel mekanizmaları harekete geçiren ve onarım ile rejenerasyon süreçlerini etkili bir şekilde yönlendiren karmaşık moleküler ağlardır. Bu yolların aktivasyonları, etkileşimleri ve düzenlenme biçimleri; karaciğerin yaralanmalara nasıl yanıt verdiğini ve onarım sürecini nasıl başlattığını anlamak açısından kritik öneme sahiptir (Xiao vd., 2025). Bu karmaşık moleküler ağda yer alan sinyal yolları temelde şu şekilde özetlenir;

HGF/c-Met Sinyalizasyonu (Huang vd., 2021)
IL-6 Sinyalizasyonu (Zhang vd., 2024)
Wnt-β-Katenin Sinyalizasyonu (Huang vd., 2021)
Notch Sinyalizasyonu (Huang vd., 2021)
mTOR Sinyalizasyonu (Huang vd., 2021)
PI3K/ AKT Sinyalizasyonu (Zhang vd., 2024)
JAK-STAT Sinyalizasyonu (Zhang vd., 2024)

Hippo Sinyalizasyonu (Huang vd., 2021)
TGF-β Sinyalizasyonu (Zhang vd., 2024).

Araştımamızda karaciğer rejenerasyonunda işlevsel olan bu moleküler yollar arasında hücre sağ kalımı ve doku onarımında etkin rol üstlendiği bilinen, fakat gallik asit varlığında etkileri henüz ortaya konmamış olan HGF/c-Met Sinyalizasyon yolu çalışıldı.

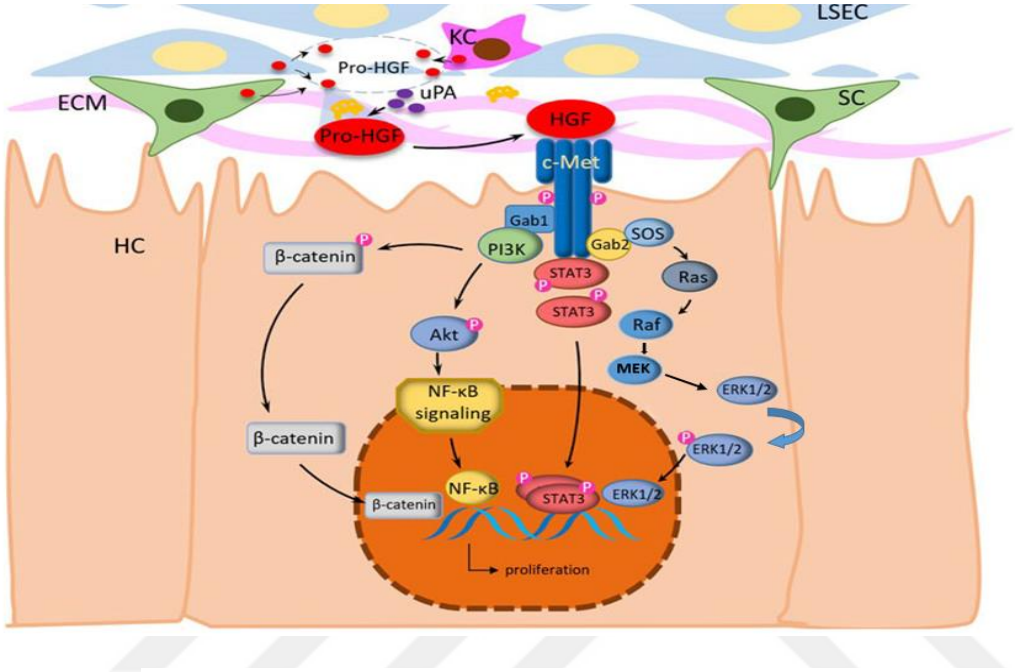
2.2.3.1. HGF/c-Met (Hepatocyte Growth Factor/c-Met) sinyalizasyonu

Karaciğer rejenerasyonunu tetikleyen en önemli faktörlerden biri HGF'dir. HGF c-Met adlı reseptöre bağlanarak hepatosit mitozunu uyarır. HGF, HSC, EC ve KC' ler tarafından salgılanır. Genel olarak, HGF inaktif formunda heparin benzeri proteoglikanlar tarafından izole edilir ve çoğu dokunun ekstraselüler matrisinde yaygın olarak dağılır.

HGF, regenerasyonun başlangıç aşamasında kritik bir etkiye sahiptir ve esas olarak hasardan sonra rejenerasyonun başlatılmasından sorumludur. Ek olarak, rejenerasyonun ilerleyen aşamasında hepatosit proliferasyonu için çok önemlidir. Başlangıç evresinin aksine, hücre proliferasyonunu, hücre bölünmesini, anjiyogenezisi ve hücre hareketliliğini teşvik etmede önemli işlevlere sahiptir. PHx'ten sonra, kalan karaciğerdeki HGF aktivitesi 24 saat içinde artmaya başlar ve bu, rejenerasyonun çoğalma aşamasında DNA sentezinin ilk zirvesini içerir. Ancak, plazmadaki HGF aktivitesindeki ilk artış, kalan karaciğerdeki ilk DNA sentezinden çok daha erken olan PHx'den 3 saat sonra tespit edilir. Bu noktada, HGF mRNA seviyeleri akciğerler, böbrekler ve dalak gibi sağlam uzak organlarda önemli ölçüde yükselmiş, ancak kalan karaciğerde yükselmemiştir. HGF'nin başlangıçta karaciğer dışında başka organlar tarafından üretildiğini ve "endokrin" sistem tarafından kalan karaciğere taşındığını ileri sürmektedir. Ishiki vd. (1992), kandaki HGF'nin regenerasyonu desteklediğini göstermiştir (Zhang vd., 2024).

PHx'ten sonra, inaktif Pro-HGF karaciğer ekstraselüler matrisinde (ECM) depolanır ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) tarafından aktive edilebilir. Aktive edilmiş HGF'nin c-Met'e bağlanması, tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu yönlendirir ve hepatositlerde β-katenin'in nükleer translokasyonunu indükler. c-Met uyarımına ve ardından gelen PI3K aktivasyonuna yanıt olarak, NF-κB sinyallemesi aktive olur ve bunun sonucunda

NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve transkripsiyon meydana gelir. Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) monomerleri c-Met'e bağlanır ve *trans*- fosforile hale gelir, ardından homodimerizasyon ve transkripsiyon faktörü olarak çalışmak üzere çekirdeğe translokasyon gerçekleşir.



Şekil 2.5. PHx'ten sonra karaciğer rejenerasyonunu düzenleyen HGF'nin moleküler mekanizması (Zhao vd., 2022).

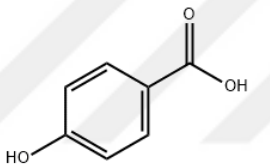
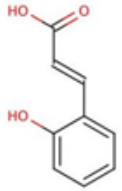
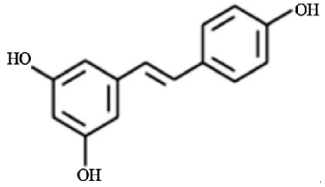
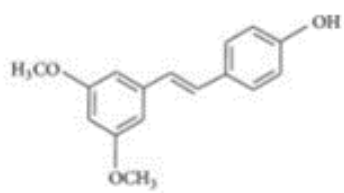
Bu arada, HGF/c-Met sinyallemesi Ras'ı GRB2-SOS kompleksi ile aktive eder, ardından Raf'ı aktive ederek MEK yolu üzerinden ERK1/2'yi fosforile eder. Böylece, HGF/c-Met sinyallemesi karaciğer rejenerasyonu için gerekli olan çeşitli transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonunu aktive etmek için hücre dışından çekirdeğe aktarılır (Huang vd., 2021). HGF ayrıca mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ailesi üyesi P38 ve STAT3 / AKT / MAPK sinyal yolu aracılığıyla siklin D1 ve çeşitli hücre döngüsü çekirdek proteinlerinin ekspresyonunu da indüklemiştir. Sonuç olarak, HGF yolu hepatosit döngüsünü, hücre büyümesini ve regenerasyonu düzenleyici önemli bir faktör olarak kullanılabilir (Zhang vd., 2024) (Şekil 2.5).

2.3. Polifenol Bileşikler ve Gallik Asit

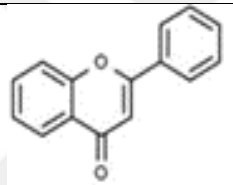
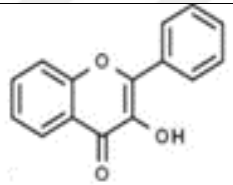
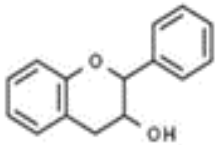
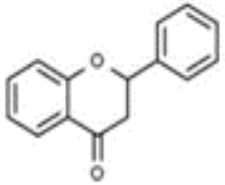
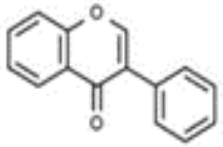
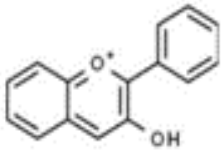
Oksidatif stres, serbest radikallerin aşırı üretimi ve birikimi sonucunda ortaya çıkar ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma ve inflamatuar hastalıklar gibi birçok

dejeneratif hastalığın temel nedenlerinden biri olarak kabul edilir. Bu tür oksidatif hasara karşı koruma sağlayan doğal bileşikler arasında, polifenoller önemli bir yer tutar. Polifenoller; antikanser, antifungal, antibakteriyel, antiviral, antiülser ve antikolesterol gibi çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip olan, bitkilerde doğal olarak bulunan güçlü antioksidanlardır (Badhani vd., 2015). Polifenollerin kimyasal yapısı, en az bir fenolik halka ve bir veya daha fazla hidroksil grubunun varlığıyla karakterize olur. İçerdikleri fenolik halkaların sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal bileşenlere bağlı olarak farklı gruplara ayrılabilirler. Basit, küçük, tek aromatik halkalı yapılardan karmaşık ve ağır yoğunlaştırılmış yapılara kadar değişmektedir (Özduran ve Hoca, 2024) (Çizelge 2.1).

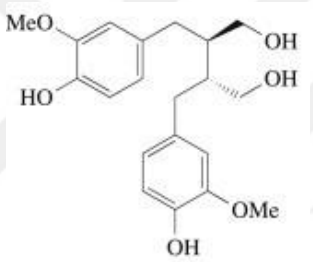
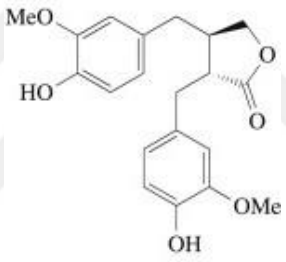
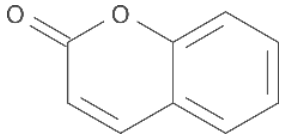
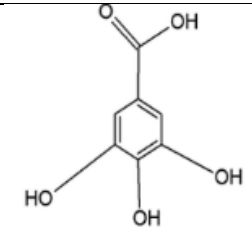
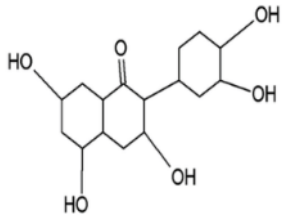
Çizelge 2.1. Polifenol bileşik grupları

Polifenoller	Kimyasal Yapısı	Alt Grupları	Besin Kaynakları
Fenolik Asitler	 Hidroksi Benzoik Asit  Hidroksi Sinnamik	**Hidroksi benzoik asit türevleri:** Gallik asit, protokatekuik asit, p-hidroksi benzoik asit, vannilik asit, siringik asit	Meyveler, baharatlar, tahıllar, çay
		Hidroksi benzoik asit türevleri: Gallik asit, protokatekuik asit, p-hidroksi benzoik asit, vannilik asit, siringik asit	Kahve, kekik, adaçayı, nane, Seylan tarçını, anason, kırmızı şarap, elma, kayısı, erik, kuru erik
Stilbenler	 Resveratrol  Pterostilben	**Resveratrol, Pterostilben**	Kırmızı şarap, üzüm, yer fıstığı, yaban mersini, böğürtlen, çilek, antep fıstığı, kızılcık ve mor üzüm suyu, şarap

Çizelge 2.1. Polifenol bileşik grupları (devam)

Flavonidler	 **Flavonla**  **Flavonolle**  **Flavanoller**  **İzoflovonlar**  **Flavononlar**  **Antosiyanidinler**	**Flavonlar:** Apigenin, luteolin	Kereviz, kekik, brokoli, maydanoz, yeşil biber, karahindiba, kekik, havuç, papatya çayı, nane, zeytinyağı, biberiye, ıspanak, enginar
		Flavonoller: Kersetin, kamferol, mirisetin	Soğan, sarımsak, elma, lahana, pırasa, karnabahar, brokoli, yaban mersini, kiraz, domates, kırmızı üzüm
		Flavanonlar: Hesperidin, nuringenin	Turunçgiller
		Flavanoller (Kateşinler): Kateşin, epikateşin, epigallokateşin	Siyah çay, yeşil çay, kakao, çikolata
		Antosiyanidinler: Siyanidin, pelargonidin, delfinidin, malvidin	Üzümsü meyveler (yaban mersini, kızılcık, frenk üzümü, merlot üzümü, kırmızı üzüm, çilek, ahududu, yaban mersini)
		İzaflavonlar: Genistein, daidzein	Soya ve ürünleri

Çizelge 2.1. Polifenol bileşik grupları (devam)

Lignanlar	 **Sekoizolarisiresinol**  **Matairesinol**	**Sekoizolarisiresinol, Matairesinol**	Bütün kepekli tahıllar, keten tohumu
Kumarinler		**Kumarin, Varfarin**	Tarçın, baharatlar, sebze ve meyveler
Tanenler	 **Hidrolize edilebilir**  **Yoğunlaştırılmış tanenler**	**Hidrolize edilebilir tanenler** (Gallik asit esterleri) **Yoğunlaştırılmış tanenler** (Proantosiyanidinler)	Baklagiller, kakao, çay, çikolata, kahve, olgunlaşmamış meyveler ve kırmızı/beyaz şarap

Bu gruptaki önemli bileşiklerden biri olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), düşük moleküler ağırlıklı doğal bir trifenolik bileşik olup, yalnızca güçlü antioksidan özellikleriyle değil, aynı zamanda apoptozu indükleyici etkisiyle de dikkat çekmektedir. Kimyasal formülü $C_7H_6O_5$ olan gallik asit (GA), beyazdan açık sarıya kadar değişen kristal toz formunda bulunur ve suda, alkolde ve asetonda kolaylıkla çözünür. Meşe palamudu, sumak, çay yaprakları, üzüm ve bazı meyve kabuklarında doğal olarak bulunan bu bileşik, antioksidan, antibakteriyel ve anti-inflamatuar etkileri sayesinde ilaç, gıda ve kozmetik sanayilerinde geniş kullanım alanına sahiptir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, GA'nın kanser önleyici potansiyelini ve karaciğer üzerinde koruyucu etkilerini ortaya koymuştur (Verma vd., 2013)

Güçlü antioksidan özelliği sayesinde GA, rejeneratif süreçlerde de önemli bir rol üstlenmektedir. Serbest radikalleri nötralize ederek hücresel oksidatif stresi azaltır; bu durum, doku hasarının engellenmesine ve hücre yenilenmesinin desteklenmesine katkıda bulunur. Hasar görmüş dokuların iyileşmesi ve yeni hücre oluşumu ile karakterize edilen rejenerasyon sürecinde, GA hücre yaşlanmasını yavaşlatmakta ve apoptoz mekanizmalarını düzenleyerek doku onarımını teşvik etmektedir. Bu özellikleri, GA'nın rejeneratif tıpta potansiyel bir terapötik ajan haline getirmektedir (Kahkeshani vd., 2019)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada ESOGU HADYEK'ten 09.10.2020 tarihli 773-1 dosya kayıt karar numarası ile onaylanmış "Gallik Asitin, Sıçanlarda Parsiyel Hepatektomi Sonrası PI3/AKT/mTOR Yolağı Üzerinden Karaciğer Rejenerasyonuna ve Nrf2 Yolağı üzerinden Oksidatif Stres Hasarına Karşı Etkisinin Belirlenmesi" başlıklı çalışmada kullanılan 220±20 gr ağırlığında erkek Wistar albino ırkı sıçanların (104 adet erkek) muhafaza edilen karaciğer dokuları kullanıldı. Bu çalışma yeni başvuru ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi HADYEK' dan alınan 1018/2024 no'lu etik kurul kararlarındaki önerilere göre planlandı.

3.1. Deneysel Tasarım

Rastgele seçimle 4 ana grup ve her ana grubun seçilmiş sürelerine (6, 12, 24, 48 saat) göre 4 alt grubu oluşturuldu. Her bir alt grupta n=6 deney hayvanı olacak şekilde deneysel tasarım oluşturuldu. Buna göre;

Sham Kontrol Grupları (Grup-I):

Kontrol grubu hayvanların karaciğeri abdominal laparotomi ile çıkarılarak karaciğer loblerının zarları kesilerek ayrılmaları sağlandı. PHx işlemi uygulanmaksızın karaciğerin ön sağ, orta ve sol loblarının bağlantı bölgesini kapsayacak biçimde cerrahi ipek iplik geçirildi. Karaciğer periton altına yerleştirilerek serum fizyolojik eşliğinde kesi bölgesi 4/0 cerrahi iplik ile dikilerek kapatıldı. Belirlenen sürelerin (6, 12, 24, 48 saat) sonunda diseksiyonları gerçekleştirilerek kan ve karaciğer örnekleri alındı.

Grup I-1: 6. Saat (Kontrol)

Grup I-2: 12. Saat (Kontrol)

Grup I-3: 24. Saat (Kontrol)

Grup I-4: 48. Saat (Kontrol)

PHx + Serum Fizyolojik (SF) Kontrol Grupları (Grup-II):

Serum fizyolojik uygulanan grupta, yaklaşık %70 PHx' den sonra bir doz serum fizyolojik (0,5 mL intraperitoneal (i.p) olarak verildi.

Grup II-1: 6. Saat (SF)

Grup II-2: 12. Saat (SF)

Grup II-3: 24. Saat (SF)

Grup II-4: 48. Saat (SF)

PHx + Silymarin (SLY) Grupları (Grup-III):

Pozitif kontrol grubuna %70 PHx'den sonra bir doz Silymarin (100 mg/kg i.p.) uygulandı.

Grup III-1: 6. Saat (SLY)

Grup III-2: 12. Saat (SLY)

Grup III-3: 24. Saat (SLY)

Grup III-4: 48. Saat (SLY)

PHx + Gallik Asit (GA) Grupları (Grup-IV):

Bu deney grubuna ise %70 PHx'den sonra tek doz Gallik Asit (200 $mg.kg^{-1}$) i.p. uygulandı.

Grup IV-1: 6. Saatler (GA)

Grup IV-2: 12. Saatler (GA)

Grup IV-3: 24. Saatler (GA)

Grup IV-4: 48. Saatler (GA)

3.2. Anestezi ve Cerrahi Uygulamalar

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirildi. Diurnal hormonal değişimlerin sıçanlar üzerine olası etkileri dikkate alınarak tüm cerrahi işlemler 09.00 ile 12.00 saatleri arasında yapıldı. Deney gruplarına ait hayvanlara intramuskular olarak 10 $mg.kg^{-1}$ ksilazin ve 70 $mg.kg^{-1}$ ketamin anestezisi uygulandı.

Deney hayvanı, sırt üstü pozisyonda ve ılık, sabit sıcaklıkta bir diseksiyon tablasına yerleştirildi. Cerrahi bölge temizliği için %70 etilalkol ve %10 povidon-iyot çözeltisi

(Batticon) kullanılarak sterilizasyon yapıldı. Deney hayvanının karın bölgesinde bir orta hat kesisi (2-3 cm) yapılarak laparotomi gerçekleştirildi. Yani, karın duvarı açılmış ve karaciğere erişim sağlandı. Karaciğerin sağ, orta ve sol lobları birbirine bağlayan zarlar cerrahi olarak ayrıldı. Bu loblar, karaciğerin yaklaşık %68-70'lik kısmını oluşturur. Hepatik arter, ven ve safra kanalları gibi önemli damar yapıları dikkatlice ayrıldı ve bu yapılar etrafına ipek iplik geçirilerek bağlandı. Bağlantılar yapıldıktan sonra, bağların hemen üstünden kesim gerçekleştirildi. Bu aşama, karaciğerin çıkarılacak kısmının ayrılmasını ve parsiyel hepatektominin tamamlanmasını sağlar.

Cerrahiden sonra, kaybolan sıvıların hipovolemik etkilerini engellemek için karın boşluğuna steril serum fizyolojik verildi. Kas ve deri kesileri, cerrahiden sonra ayrı ayrı ve sürekli şekilde 4/0 ipek sütür kullanılarak dikildi. Laparotomi bölgesi, iyileşme süreci için ek olarak batticon antiseptik solüsyon ile temizlendi. Cerrahi işlem görmüş her bir deney hayvanı, kimyasal sterilizasyon yapıldı, tek bireylik, polikarbonat bileşimli ve şeffaf kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar, diyet değişikliği yapılmaksızın, belirli süreler boyunca (0-6-12-24 saat) sağlıklı bir şekilde yaşatıldı.

Deney gruplarına ait hayvanlar kalpten tam kan alınarak hafif anestezi altında öldürüldü. Deney gruplarına ait hayvanlara intramusküler olarak 10 $mg.kg^{-1}$ ksilazin ve 70 $mg.kg^{-1}$ ketamin anestezisi uygulandı. Daha sonra orta hat laparotomi yapılarak karaciğer doku örnekleri alındı.

Kan örneği MSE Mistral 2000 marka cihazla 10 dakika süreyle 3000 rpm'de santrifüj edilerek serum elde edildi. Eppendorf tüplerine aktarılan serum örnekleri biyokimyasal alanin aminotransferaz (ALT) analizleri için -80 C°'de derin dondurucuda saklandı. Hepatektomi sonrası kalan karaciğer dokusundan diseksiyon sonrası alınan örneklerin bir kısmı dokuda biyokimyasal ölçümlerde ve moleküler biyolojik analizlerde kullanılmak üzere homojenize edilerek -80 C°'de derin dondurucuda saklandı

3.3. Biyokimyasal Analizler

ALT ölçümü ticari kit (Biolabo, Maizy, Fransa) kullanılarak Crony Airone 200 RA otoanalizörü ile gerçekleştirildi.

3.4. Moleküler Biyolojik Analizler

Moleküler düzeydeki değişimlerin değerlendirilmesi amacıyla analizlere polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile başlandı ve sonrasında Western blot yapılarak devam edildi.

3.4.1. RT-PCR analizi

HGF sinyal yoluna ait MEK ve ERK1 gen ifadeleri RT-PCR cihazı (Applied Biosystems (ABD) ile analiz edildi.

RT-PCR aşamasına geçmeden önce RNA izolasyonu yapıldı. Bu amaçla, lizis buffer, her bir örnek için 500 µL Buffer L ve 10 µL 14,3 M β-merkaptoetanol karıştırılarak hazırlandı. RNA izolasyonu için 10-20 mg doku örneğine 200 µL Ca^{2+}/Mg^{2+} içermeyen PBS, 10 µL Proteinaz K (20 mg/mL), 500 µL lizis buffer ve 60 mg zirkonyum bead eklendi. Örnekler homojenizatörde homojenize edildikten sonra yeni bir 2 mL santrifüj tüpüne aktarıldı ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi. Ardından örneklere 500 µL Buffer P eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 3 dakika daha inkübe edildi. Karışıma 200 µL kloroform izoamil alkol (49:1) ilave edilerek alt-üst edilmek suretiyle karıştırıldı ve oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi. Daha sonra örnekler 4 °C'de 12.000×g'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte oluşan sulu fazdaki süpernatant (yaklaşık 600 µL) yeni bir tüpe aktarıldı. Süpernatant üzerine 1,25 hacim oranında (%96-100) etanol (yaklaşık 800 µL) eklenerek pipetaj ile karıştırıldı. Elde edilen lizattan 700 µL kolona aktarılarak oda sıcaklığında 12.000×g'de 20 saniye santrifüj edildi. Tüp boşaltıldı ve kolon tekrar yerine yerleştirildi. Tüm lizatı kolona aktarmak için bu adım tekrarlanarak uygulandı. Kolon üzerine sırasıyla 700 µL Wash Buffer 1 eklenerek oda sıcaklığında 12.000×g'de 20 saniye santrifüj edildi. Ardından tüp boşaltılarak kolon tekrar yerine yerleştirildi. Bunu takiben kolon iki kez 600 µL Wash Buffer 2 ile yıkandı ve her yıkama sonrası aynı koşullarda santrifüj edildi. Yıkama adımlarının ardından kolon, maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilerek kurutuldu ve 1,5 mL'lik Eppendorf tüp üzerine yerleştirildi. RNA elüsyonu için kolonun merkezine 65-70 °C'de önceden ısıtılmış 50-100 µL nükleaz-free ultra saf su veya

DEPC'li su eklendi ve oda sıcaklığında 12.000 × g'de 1 dakika santrifüj edildi. Elde edilen RNA örnekleri hemen kullanıldı veya kullanılıncaya kadar -80 °C'de saklandı.

Elde edilen RNA'ların Nanodrop (OPTIZEN, NanoQ, Güney Kore) cihazında ölçümü yapıldı. Cihazda ölçülen değerler ng/ µL cinsinden olduğu için reaksiyon 1000 ng'dan kurularak hesaplamalar yapıldı. Her bir örnek için;

$$\text{X (µL)} = \frac{1000}{cihazda\ \text{ölçü}len\ değer\ (ng/\mu L)}$$

cDNA sentezi için kullanılan materyaller ve miktarları Çizelge 3.1'de belirtildiği gibidir. Reaksiyondaki örnek sayısı ile kullanılan her bir madde miktarı çarpılarak hesaplanan değere göre 1.5 mL lik ependorf tüpe aktarıldı. Hazırlanan mix eşit bir şekilde kuyucuklara dağıtıldı. 1 örnek başına hazırlanan mix toplamda 20 µL olduğundan her bir örneğin RNA'sı eklenerek total hacim 20 µl'den çıkarıldı ve su miktarları bulundu. Data sheete göre sıcaklık ve süre değerleri cihaza girildi (Çizelge 3.2). Primerler ürün bilgi dosyasına göre sulandırıldı. Hazırlanan stok primerler 10 µM' olacak şekilde dilüe edildi (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.1. cDNA Sentezi için kullanılan materyaller ve miktarları

cDNA Standart Reaksiyon (1 örnek için)	**Hacim**
5X Reaction Buffer	4 µL
Reverse Transcriptase (200 U/µl)	1 µL
Total RNA	1-6 µL
RNase free Water	x µL

Çizelge 3.2. cDNA Sentezi İçin Sıcaklık ve Süre Değerleri

	1. Adım	**2. Adım**	**3. Adım**
Sıcaklık	42°C	80°C	4°C
Süre	120 dk	10 dk	∞

Çizelge 3.3. Kullanılan Primerler

Primer Adı	**Dizi**	**Bç**
Beta Actin Forward	CCAGGAGTACGATGAGTCCG	20
Beta Actin Reverse	ACGCAGCTCAGTAACAGTCC	20
MEK Forward	TCCAAAGGAACTGGTGCAGG	20
MEK Reverse	AGCTCCTACCGTACTGCTGA	20

ERK-1 Forward	CTGCTGGGGTCTCCTCGTTC	20
ERK-1 Reverse	CAGGTCCTAGGGCGGTCATA	20

Real Time PCR aşamasında kullanılan maddeler ve miktarlarına (Çizelge 3.4) göre hazırlanan tüpler Çizelge 3.5'te belirtildiği gibi reaksiyona bırakıldı.

Çizelge 3.4. Real Time PCR için kullanılan maddeler ve miktarları

Maddeler	**Hacim**
Master Mix	10 µL
cDNA (10 ng/µl)	2 µL
Forward Primer (10µM)	1 µL
Reverse Primer (10µM)	1 µL
DNA free saf su	6 µL
Total Hacim	20 µL

Çizelge 3.5. Kullanılan RT-PCR Protokolü

Sıcaklık (°C)	**Süre**	**Döngü**	**Aşama**
95	5 dk		Cycling Stage
95	15 sn	x40	
60	30 sn		
72	30 sn		
95	15 sn		Melt Curve Stage
60	15 sn	0,2°C artış ile okuma	
95	15 sn		
60	15 sn		

3.4.2. Western Blot analizi

Protein miktarının belirlenmesi amacıyla Qubit™ Protein ve Protein Broad Range (BR) Assay Kit (Cat. No: Q33211, Thermo Fisher Scientific) kullanıldı. Qubit Buffer Mix, her bir örnek için 199 µL Qubit Protein Buffer ve 1 µL Qubit Protein Reagent olacak şekilde hazırlandı. Ölçüm için 0,5 mL'lik Qubit ölçüm tüplerine 198 µL Qubit Buffer Mix ve 2 µL protein örneği eklendi. Örnekler iki dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra (Denovix Florometer S04642, USA) cihazında ölçüldü. Elde edilen protein konsantrasyonları dilüsyon katsayısı ile çarpılarak hesaplandı. Jel elektroforezi için örneklerin protein konsantrasyonları denklem 3.2'ye göre eşitlendi.

$$M1.V1 = M2.V2$$

Her bir örnek için toplam hacmi 10 µL olan yükleme karışımı hazırlandı. Bu karışım; 2,5 µL LDS Sample Buffer, 1 µL Sample Reducing Agent, hesaplanan hacimde protein örneği ve kalan hacmin distile su ile 6,5 µL'ye tamamlanmasıyla oluşturuldu. Hazırlanan örnekler 70 °C'de 10 dakika inkübe edildi ve ardından buz üzerinde ya da +4 °C'de bekletildi.

Elektroforez işlemi, Invitrogen Mini Gel Tank sistemi kullanılarak Bolt™ %4–12 Bis-Tris Plus jel üzerinde gerçekleştirildi. Jel kuyucuklarına ilk olarak protein belirteci (Invitrogen SeeBlue Plus 2 Prestained Standard), ardından örnekler yüklendi. Jel, 1X Running Buffer çözeltisi içinde 200 V'da yaklaşık 30–35 dakika süreyle yürütüldü.

Proteinlerin membrana transferi Thermo Fisher Scientific iBlot™ 2 Dry Blotting System kullanılarak gerçekleştirildi. Jel, transfer öncesinde saf su içeren bir kapta kısa süre bekletildi ve üst jel tabakası dikkatlice ayrıldı. iBlot™ 2 Transfer Stacks (Cat. No: IB21001) kullanılarak transfer işlemi 20 V'da 7 dakika süreyle tamamlandı. Transfer sonrasında jel atıldı ve transfer kağıdı üzerindeki jel görüntüsü kesilerek bloklama aşamasına geçildi.

Bloklama çözeltisi, iBind™ Flex Solution Kit kullanılarak 40 mL saf su, 10 mL 5X Buffer ve 500 µL 100X Additive eklenerek hazırlandı. Membran, hazırlanan bloklama çözeltisi içerisinde 5 dakika inkübe edildi. Antikor inkübasyon işlemleri Invitrogen™ iBind™ Flex Western Blot cihazında gerçekleştirildi. Cihaza uygun olarak bloklama, yıkama ve antikor çözeltileri hazırlandı ve iBind™ Flex kartı 10 mL bloklama çözeltisi ile ıslatıldı. Membranın yerleştirileceği bölgeye 1 mL ek bloklama çözeltisi eklendi ve membran ters yüzeyine gelecek şekilde karta yerleştirildi. Silindir yardımıyla hava kabarcıkları giderildi ve membran sabitlendi.

Birincil ve ikincil antikor inkübasyonları iBind™ Flex cihazında yaklaşık 2,5–3 saat içerisinde tamamlandı. Çalışmada birincil antikor olarak β-Actin (Rabbit mAb, A026, ABclonal), Cyclin D1 (Rabbit mAb, 92G2, 2978T, Cell Signaling Technology), P70 S6 Kinase 1 (Rabbit pAb, A2190, ABclonal) ve Akt1 (Mouse mAb, B-1, sc-5298, Santa Cruz Biotechnology) kullanıldı. Sekonder antikorlar olarak HRP Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)

(Cat. No: AS014, ABclonal) ve HRP Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (Cat. No: AS003, ABclonal) tercih edildi.

İmmünreaktif bantların tespiti için ECL (Enhanced Chemiluminescence) yöntemi kullanıldı. ECL çözeltisi, 1 mL Luminol/Enhancer ve 1 mL Peroksidaz çözeltisinin 1:1 oranında karıştırılmasıyla hazırlandı. Membran bu çözeltide karanlık ortamda 5 dakika inkübe edildi. Görüntüleme işlemi Genbox kemilüminesans görüntüleme sistemi (ERBİYOTEK, GENBOX imagER Fx-CFx, Turkey) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm örnekler jel kuyucuklarına 50 µg protein yüklenecek şekilde hesaplanarak analiz edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında elde edilen sayısal verilerin analizi GraphPad Prism programı (versiyon 8.0.1; GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Analiz sürecine geçilmeden önce, incelenen parametrelerin dağılım yapısı Shapiro–Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım sergilediği saptanan verilerde, 6, 12, 24 ve 48 saatlik rejenerasyon süreleri ayrı zaman noktaları olarak ele alındı. Her bir zaman noktasında deney grupları arasındaki istatistiksel farklılıkları ortaya koymak amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanıldı. ANOVA sonucunda anlamlılık saptanan durumlarda, farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Tukey post-hoc çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu başlık altında çalışmadan elde edilen biyokimyasal, moleküler ve immünohistokimyasal bulgular değerlendirildi. Serum örneklerinde ölçülen ALT düzeyleri aracılığıyla karaciğer fonksiyonları incelendi. Bunun yanı sıra, karaciğer dokularından elde edilen homojenize örnekler kullanılarak gerçekleştirilen moleküler biyolojik analizler ile gen ekspresyon düzeyleri belirlendi. Elde edilen tüm sonuçlar, deney grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılıklarını ortaya koymak amacıyla analiz edildi.

4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi

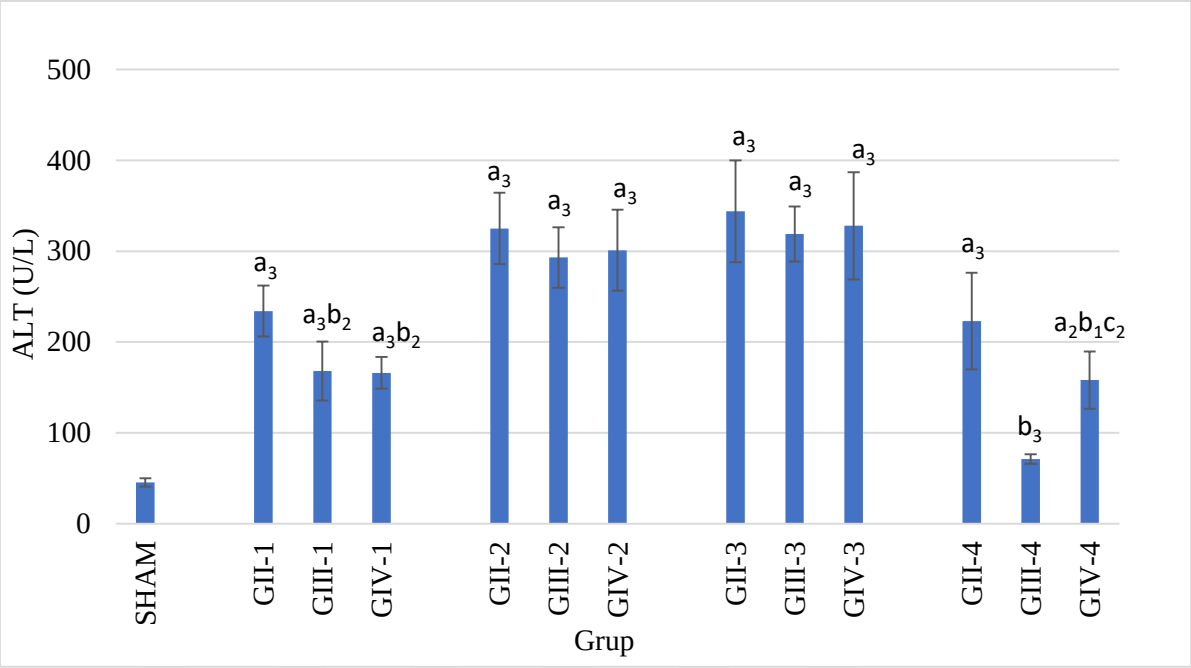
Karaciğer hasarının değerlendirilmesinde serum transaminazları, özellikle ALT ve AST yaygın olarak kullanılan biyokimyasal göstergelerdir. Bu enzimler arasında ALT, karaciğer dokusuna daha yüksek özgüllük göstermesi nedeniyle daha duyarlı bir parametre olarak kabul edilmektedir.

Çizelge 4.1. Deney Gruplarına Göre ALT Değerlerinin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

GRUP	***Mean± SD***
SHAM	45 ± 7.4
GII-1	234 ± 40.9
GIII-1	167 ± 37.8
GIV-1	166 ± 42.1
GII-2	325 ± 76.7
GIII-2	293 ± 37.6
GIV-2	301 ± 83.4
GII-3	343 ± 108.0
GIII-3	319 ± 43.1
GIV-3	328 ± 67,4
GII-4	223 ± 58,8
GIII-4	71 ± 12,5
GIV-4	158 ± 48,8

Gallik asidin PHx uygulaması sonrasında karaciğer üzerindeki olası etkilerini değerlendirmek amacıyla serum ALT seviyeleri ölçülerek, gruplara ait ALT değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı (Çizelge 4.1).

Gruplara ait serum ALT seviyelerinin zamana bağlı değişimi ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Tüm zaman noktalarında PHx + SF (GII) grubunda ALT düzeylerinin SHAM grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı, özellikle 12. ve 24. saatlerde en yüksek değerlere ulaştığı saptandı ($p<0,0001$). PHx + SLY (GIII) grubunda ise ALT düzeyleri SHAM grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmakla ($p<0,0001$) birlikte 48. saatte belirgin bir düşüş gözlendi ve bu değerlerin PHx + SF (GII) grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlendi ($p<0,0001$). GA uygulanan gruplarda, erken dönemde (6 saat) ALT düzeylerinin SF grubuna kıyasla daha düşük olduğu dikkat çekmektedir. Bu bulgu, gallik asidin erken dönemde hepatoselüler hasarı sınırlayıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir. PHx + GA gruplarında 12. ve 24. saatlerde ALT düzeylerinin yükselmeye devam ettiği ancak bu artışın PHx + SF gruplarına kıyasla daha sınırlı olduğu görülmektedir. Bu durum, gallik asidin akut fazda karaciğer hasarını tamamen engellememekle birlikte, hasarın şiddetini azaltıcı bir etki gösterdiğini düşündürmektedir. Özellikle 48. saatte, PHx + GA grubunda ALT düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı ve bu azalmanın PHx + SF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu, ancak PHx + SLY grubuna göre daha yüksek seyrettiği saptanmıştır ($p<0,01–0,001$). 48. Saatte silymarin grubunda ALT düzeylerinin gallik asit grubuna göre daha düşük olması, silymarinin karaciğer hücrelerini erken dönemde daha güçlü biçimde korumasıyla açıklanabilir. Silymarin, hepatosit membran bütünlüğünü hızlı şekilde stabilize ederken, gallik asidin daha çok inflamasyonu azaltıcı ve rejenerasyonu destekleyici etkileri ön plandadır. Bu nedenle gallik asidin koruyucu etkisi ALT düzeylerine daha geç yansımış olabilir, rejenerasyonun ilerleyen aşamalarında daha belirgin hale gelebilir.



Şekil 4.1. Deney gruplarında saatlere göre ALT (U/L) düzeyleri. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1:p<0,01, 2:p<0,001, 3:p<0,0001).

Literatürle uyumlu olarak, GA'nın antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde karaciğer enzim düzeylerini normale yaklaştırdığı birçok çalışmada vurgulanmıştır. Literatürde gallik asidin, oksidatif stres aracılı karaciğer hasarında serum ALT düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı bildirilmektedir. Örneğin, Diclofenac ve gentamisin ile indüklenen hepatotoksisite modellerinde gallik asit uygulamasının ALT artışını baskıladığı ve karaciğer fonksiyonlarını iyileştirici bir etkide bulunduğu rapor edilmiştir (Esmaeilzadeh vd., 2020), (Behvandi vd., 2025). Benzer şekilde, anti-tüberküloz ilaçlara bağlı karaciğer hasarı ve hepatik iskemi-reperfüzyon modellerinde gallik asidin serum ALT aktivitelerini anlamlı düzeyde düşürdüğü bildirilmiştir (Bayramoğlu vd., 2014), (Sanjay vd.,2021).

ALT enzim seviyeleri bakımından gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar sonucunda gallik asidin PHx sonrası gelişen hepatoselüler hasarı azaltarak rejenerasyonu destekleyici bir etki gösterdiği düşünülmektedir.

4.2. Moleküler Biyolojik Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi

Bu bölümde, çalışma kapsamında gerçekleştirilen RT-PCR ve Western blot analizleri sonucunda elde edilen moleküler veriler sunulmuş ve yorumlanmıştır. Bu analizler, PHx sonrasında karaciğerde başlatılan hücre çoğalmasıyla ilişkili süreçler ile büyüme ve düzenleyici sinyal yolaklarında oluşan değişikliklerin belirlenmesini amaçlamaktadır. RT-PCR analizi ile seçilen genlerin ekspresyon düzeylerindeki nicel farklılıklar ortaya konulurken, Western blot yöntemi ile bu genlere ait proteinlerin ekspresyon durumları değerlendirilmiştir. Bu yaklaşım, moleküler yanıtların gen ve protein düzeyinde birlikte ele alınmasına olanak sağlamıştır. Elde edilen bulgular, uygulanan deneysel işlemlerin hücresel ve moleküler mekanizmalar üzerindeki etkilerini yansıtmakta olup, alt başlıklarda gruplar arasındaki biyolojik ve istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesine temel oluşturmaktadır.

4.2.1 RT-PCR analizi sonuçları ve değerlendirilmesi

RT-PCR analizi kapsamında incelenen MEK ve ERK-1 genlerine ait ekspresyon düzeyleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, PHx sonrasında proliferasyon ve hücresel büyüme ile ilişkili bu genlerin ekspresyonlarının gruplar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, PCR analizlerinden elde edilen ortalama ± standart sapma (Mean ± SD) değerlerinin yer aldığı çizelge (4.2), ölçümlerin dağılımını yansıtmakta ve gruplar arasındaki karşılaştırmaların istatistiksel olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

Gen ekspresyon düzeyleri, RT-PCR analizlerinden elde edilen Ct (Cycle threshold) değerleri kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile hesaplandı. Bu yöntemde hedef genlerin Ct değerleri önce referans gene göre normalize edilmiş, ardından kontrol grubu (SHAM) ile karşılaştırılarak gruplara ait gen ekspresyon düzeyleri belirlendi.

Çizelge 4.2. MEK ve ERK-1 genlerinin deney gruplarına göre Ekspresyon düzeyleri (Mean ± SD).

Grup	MEK	ERK-1
SHAM	0.93 ± 0.13	0.87 ± 0.08
GII-1 (PHx+SF) (6 saat)	0.81 ± 0.11	1.46 ± 0.12
GIII-1 (PHx+SLY) (6 saat)	0.56 ± 0.11	0.91 ± 0.16
GIV-1 (PHx+GA) (6 saat)	1.17 ± 0.09	1.00 ± 0.16
GII-2 (PHx+SF) (12 saat)	0.48 ± 0.02	0.57 ± 0.05
GIII-2 (PHx+SLY) (12 saat)	0.71 ± 0.09	1.95 ± 0.28
GIV-2 (PHx+GA) (12 saat)	0.45 ± 0.08	0.72 ± 0.08
GII-3 (PHx+SF) (24 saat)	0.57 ± 0.07	0.38 ± 0.10
GIII-3 (PHx+SLY) (24 saat)	0.44 ± 0.06	0.48 ± 0.28
GIV-3 (PHx+GA) (24 saat)	0.45 ± 0.16	0.40 ±0.18
GII-4 (PHx+SF) (48 saat)	0.28 ± 0.17	0.45 ± 0.17
GIII-4 (PHx+SLY) (48 saat)	0.44 ± 0.22	0.30 ± 0.02
GIV-4 (PHx+GA) (48 saat)	0.40 ± 0.13	0.06 ± 0.03

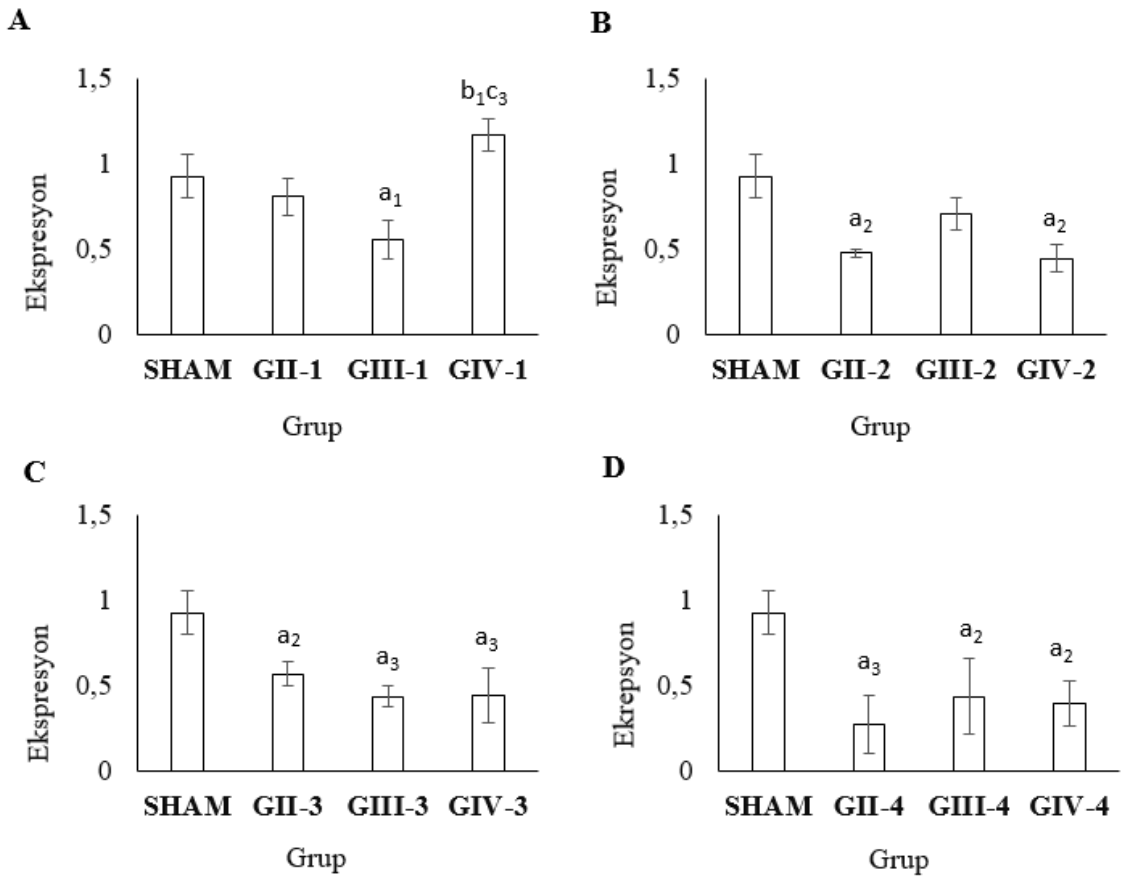
GIII-1 grubunda 6. saatte MEK ekspresyonunun SHAM grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı görüldü ($p<0,05$). Buna karşılık GIV-1 grubunda MEK ekspresyonu hem GII-1 hem de GIII-1 gruplarına kıyasla anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$; $p<0,001$) (Şekil 4.2-A). Bu bulgu, gallik asidin erken fazda MEK aracılı sinyal yolunu aktive edici bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. GII-1 grubunda ise MEK ekspresyonu SHAM'a yakın düzeylerde seyrettiği görüldü. 12.saatte ise GII-2 ve GIV-2 gruplarında MEK ekspresyonunun SHAM grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı izlendi ($p<0,01$). Buna karşılık GIII-2 grubunda MEK ekspresyonu diğer deney gruplarına göre daha yüksek olup SHAM'a daha yakın seviyelerde kaldığı tespit edildi (Şekil 4.2-B). Bu durum, GA

uygulamasının bu zaman diliminde MEK ekspresyonunu kısmen koruyucu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

24. saatte tüm deney gruplarında MEK ekspresyonunun SHAM grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı görülmektedir ($p<0,01$; $p<0,001$). Özellikle GIII-3 ve GIV-3 gruplarında bu düşüş daha belirgin olup, GII-3 grubuna kıyasla da anlamlı farklılık göstermektedir (Şekil 4.2-C). Bu sonuçlar, rejenerasyon sürecinin bu evresinde MEK aracılı sinyalizasyonun genel olarak baskılandığını göstermektedir. Geç dönemde GII-4, GIII-4 ve GIV-4 gruplarının tamamında MEK ekspresyonunun SHAM grubuna göre belirgin şekilde düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,01$; $p<0,001$) (Şekil 4.2-D). GII-4 grubunda ekspresyon düzeylerinin diğer gruplara göre daha düşük seyretmesi, gallik asidin geç fazda MEK aktivasyonunu daha baskılayıcı bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Tüm zaman noktaları birlikte ele alındığında, MEK gen ekspresyonunun PHx sonrası erken dönemde tedaviye bağlı olarak farklı tepkiler verdiği, ancak orta ve geç fazlarda genel olarak baskılandığı görülmektedir. Özellikle gallik asidin erken fazda MEK ekspresyonunu artırıcı, silmarin'in ise bazı zaman noktalarında baskılayıcı veya dengeleyici etkiler gösterebildiği; geç fazda ise tüm gruplarda MEK ekspresyonunun azaldığı anlaşılmaktadır. Bu bulgular, MEK sinyal yolunun karaciğer rejenerasyonu sürecinde zamana ve uygulanan tedaviye bağlı olarak düzenlendiğini ortaya koymaktadır.

Bu bağlamda, çalışmamızda PHx sonrası erken saatlerde MEK ekspresyonunda gözlenen değişimler, literatürde MAPK/ERK yolunun karaciğer rejenerasyonu ve proliferatif yanıtın başlatılmasında kritik rol oynadığını bildiren bulgularla uyumludur (Wen vd., 2022). PHx sonrasında MEK ekspresyonunda zamana bağlı olarak görülen değişimler, karaciğer hücrelerinin çoğalmasında MEK/ERK sinyal yolunun önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Literatürde de MEK/ERK yolunun aktivasyonunun hepatosit proliferasyonu için temel bir mekanizma olduğu belirtilmiştir (Talarmin vd.,1999).



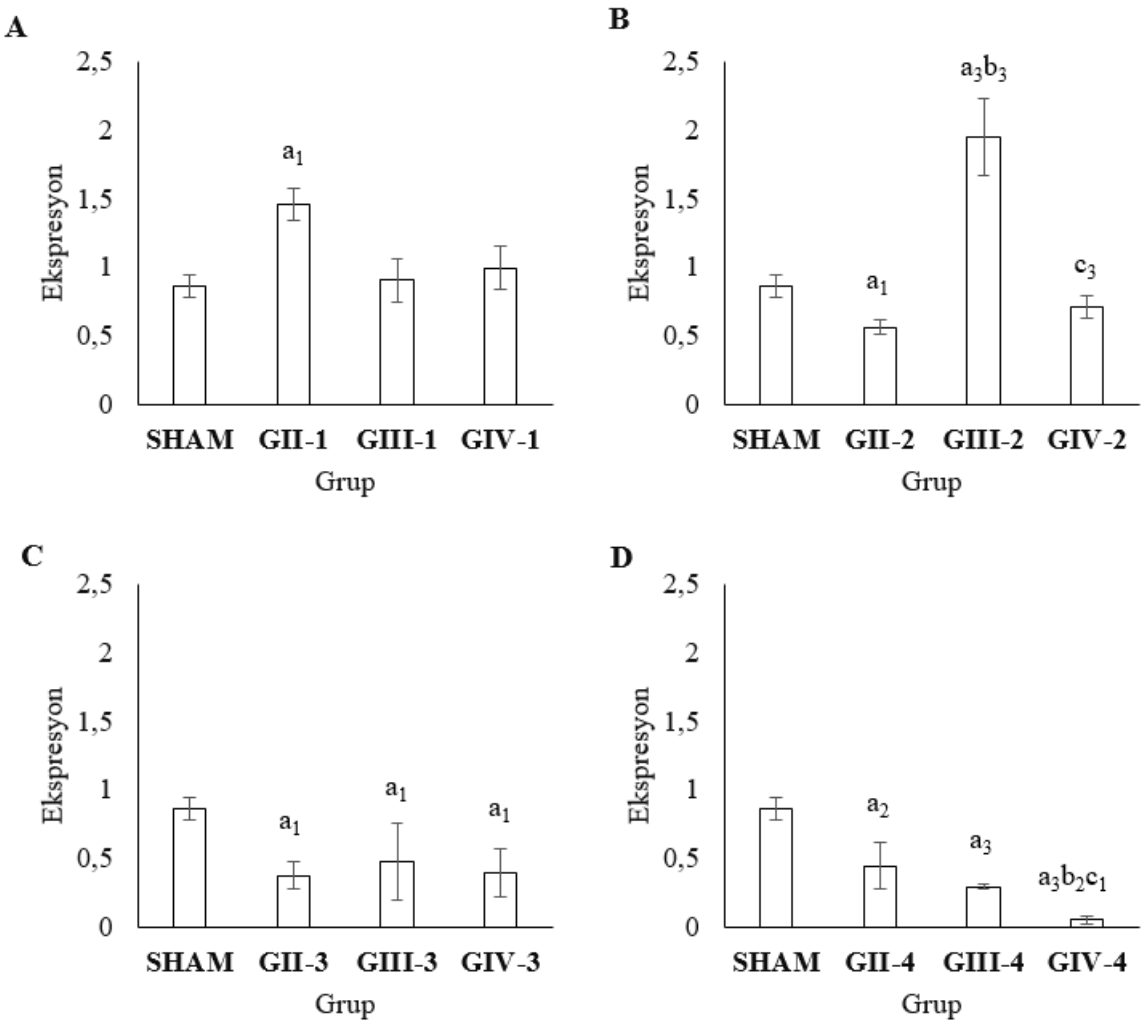
Şekil 4.2. Deney gruplarında saatlere göre MEK geni ekspresyon düzeyleri. (A) 6 saat (B) 12 saat (C) 24 saat ve (D) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1: $p<0,05$, 2:$p<0,01$, 3:$p<0,001$).

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular, PHx sonrası karaciğer rejenerasyonu sırasında MEK/ERK sinyal yolunun farklı zaman noktalarında farklı düzeylerde aktive edildiğini ve bu durumun hücresel çoğalma süreciyle yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

ERK-1 geninin ekspresyon düzeylerinin zamana bağlı olarak değiştiği şekil 4.3'de görülmektedir. 6. saatte, GII-1 grubunda ERK-1 ekspresyonu SHAM grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış gösterdi ($p<0,05$). Buna karşılık GIII-1 ve GIV-1 gruplarında ekspresyon düzeyleri SHAM grubuna yakın seyretmiş olup belirgin bir farklılık izlenmedi (Şekil 4.3-A). Bu bulgu, PHx sonrası erken dönemde ERK-1 aktivasyonunun özellikle SF uygulanan grupta belirginleştiğini düşündürmektedir. 12. saatte ERK-1 ekspresyonunda gruplar arasında daha belirgin farklılıklar ortaya çıktı. GIII-2 grubunda ERK-1 düzeylerinin hem SHAM hem de GII-2 grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı biçimde arttığı görüldü

($p<0,0001$). GII-2 grubunda ise SHAM grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı ($p<0,05$). GIV-2 grubunda ERK-1 ekspresyonu GIII-2 grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,0001$) (Şekil 4.3-B). Bu sonuçlar, 12. saatte ERK-1 aktivasyonunun özellikle SLY uygulanan grupta belirgin şekilde uyarıldığını göstermektedir. 24. saatte tüm deney gruplarında ERK-1 ekspresyonunun SHAM grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı gözlendi ($p<0,05$) (Şekil 4.3-C). Gruplar arasında belirgin bir fark bulunmaması, bu zaman noktasında ERK-1 sinyal yolunun baskılandığını ve proliferatif yanıtın farklı düzenleyici mekanizmalarla sürdürülebileceğini düşündürmektedir. 48. saatte ERK-1 ekspresyonu GII-4 ve GIII-4 gruplarında SHAM grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,0001$). GIV-4 grubunda ise ERK-1 düzeylerinin hem GII-4 hem de GIII-4 gruplarına kıyasla daha da düşük olduğu görülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Şekil 4.3-D). Bu durum, geç dönemde ERK-1 aktivasyonunun özellikle GA uygulanan grupta belirgin biçimde baskılandığını göstermektedir. ERK-1 ekspresyonunun PHx sonrası erken ve orta fazlarda zamana ve uygulanan tedaviye bağlı olarak farklı düzeylerde düzenlendiği, geç fazda ise baskılandığı görüldü. Bu bulgular, ERK-1 sinyal yolunun karaciğer rejenerasyonu sürecinde zamana bağlı etkin bir rol üstlendiğini düşündürmektedir.

Literatürde yer alan bilgiler doğrultusunda MEK/ERK sinyal yolunun erken fazda aktive olduğu ve özellikle ilk 6-12 saat içerisinde hepatosit proliferasyonunu başlatmada kritik rol oynadığı bilinmektedir. Önceki çalışmalarda ERK aktivasyonunun, cerrahiden sonraki erken saatlerde belirgin şekilde arttığı ve hücre döngüsünün G_1/S geçişini desteklediği gösterilmiştir (Talarmin vd., 1999; Michalopoulos, 2017).



Şekil 4.3. Deney gruplarında saatlere göre ERK-1 geni ekspresyon düzeyleri. (A) 6 saat (B) 12 saat (C) 24 saat ve (D) 48 saat. a:SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1: p<0,05, 2: p<0,001, 3: p<0,0001).

Bu çalışmada ise ERK-1 ekspresyonu erken fazda (6. saat) yalnızca PHx+SF grubunda anlamlı şekilde artmış, silmarin ve gallik asit uygulanan gruplarda ERK-1 düzeyleri SHAM grubuna yakın seyretmiştir. Bu farklılık, kullanılan biyolojik ajanların erken dönemde ERK yolunu doğrudan aktive etmekten ziyade, aşırı proliferatif sinyali baskılayıcı veya dengeleyici bir etki göstermesinden kaynaklanmış olabilir. Literatürde bazı fenolik bileşiklerin MAPK/ERK yolunu erken fazda baskılayarak oksidatif stres ve hücresel hasarı sınırladığı bildirilmektedir (Anantharaju vd., 2016; Ertaş Oğuz & Kırmızıgül, 2025). Birçok çalışmada ERK aktivasyonunun 12. saate doğru ikinci bir pik gösterdiği ve bu dönemin hepatosit proliferasyonunun yoğunlaştığı evreyle örtüştüğü belirtilmiştir (Howe vd., 2002). Çalışmamızda silmarin uygulanan grupta 12. saatte ERK-1 ekspresyonunun

belirgin şekilde artması, literatürle uyumlu bir bulgu olup silmarin bu zaman noktasında proliferatif sinyalleri desteklediğini düşündürmektedir. Buna karşılık gallik asit uygulanan grupta ERK-1 gen ekspresyon düzeylerinin belirgin bir pik seviyesine ulaşmadan zamana bağlı olarak dengeli şekilde azalması rejenerasyon sürecinde proliferasyonu artırıcı değil, daha çok düzenleyici bir rol üstlendiğini göstermektedir.

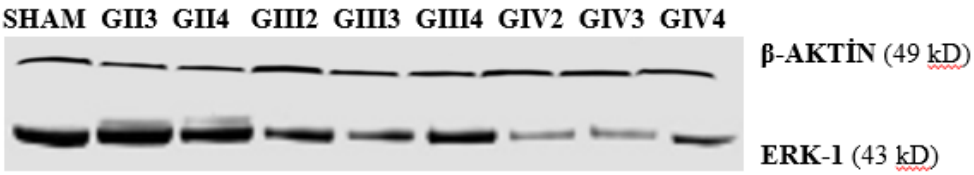
Literatürde karaciğer rejenerasyonunun ilerleyen safhalarında ERK sinyalizasyonunun baskılandığı ve proliferatif yanıtın kontrollü şekilde sonlandırıldığı bildirilmektedir (Fausto vd., 2006). Michalopoulos (2013)'un tanımladığı karaciğer rejenerasyonunun fazları dikkate alındığında, proliferatif pik fazın ardından sürecin homeostatik dengeye doğru ilerlediği ve bu aşamada proliferasyonla ilişkili sinyal yolaklarının aktivitesinin azaldığı bildirilmektedir. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda 24. ve 48. saatlerde tüm deney gruplarında ERK-1 ekspresyonunda gözlenen azalmanın, rejenerasyon sürecinin ilerleyen fazlarıyla uyumlu ve beklenen bir sonuç olduğu düşünülmektedir. Özellikle GA uygulanan grupta geç dönemde ERK-1 düzeylerinin belirgin şekilde düşmesi, bu bileşiğin aşırı hücresel çoğalmayı sınırlayıcı bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Bu bağlamda, literatürde ERK yolunun erken fazda güçlü şekilde aktive edildiği bildirilen çalışmalarla karşılaştırıldığında, çalışmamızda bazı tedavi gruplarında ERK-1 ekspresyonunun baskılanmış olması; ERK-1 sinyalizasyonunun zamana ve uygulanan bileşiğe bağlı olarak farklı biçimlerde düzenlendiğini göstermekte; silmarin belirli zaman noktalarında proliferatif yanıtı desteklediğini, gallik asidin ise daha çok dengeleyici ve koruyucu bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, elde edilen sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında karaciğer rejenerasyonunun yalnızca proliferasyonun artırılması değil, aynı zamanda kontrollü bir şekilde düzenlenmesi gereken bir süreç olduğunu desteklemektedir.

Western Blot Analizi Sonuçları Ve Değerlendirilmesi

Western blot yöntemiyle hedef proteinlerin kantitatif analizi yapılmıştır. Bu amaçla doku örneklerinden protein izolasyonu gerçekleştirilmiş, toplam protein miktarları belirlendikten sonra her örnekten eşit miktarda protein yüklenmiştir. Bant yoğunlukları β-

aktin referans proteini kullanılarak normalize edildi (Şekil 4.3.) ve ERK-1 proteinine ait densitometrik ölçümler elde edildi (Çizelge 4.3).



Şekil 4.3. Western Blot analizinde elde edilen β-aktin ve ERK-1 proteinlerine ait bant görüntüleri.

Gruplar ve farklı zaman noktaları arasında gözlenen değişimler, PHx sonrasında karaciğer rejenerasyonunun çeşitli evrelerinde bu proteinlerin nasıl düzenlendiğine dair önemli bilgiler sağlamaktadır. Ayrıca her bir proteine ait ortalama ekspresyon düzeyleri ve varyasyonlar verilmiş, gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık değerlendirmeleri bu veriler üzerinden yapılmıştır (Çizelge 4.4).

Bu sonuçlar, RT-PCR analizleriyle saptanan mRNA düzeylerindeki değişimlerin protein düzeylerine yansıyıp yansımadığını ortaya koymakta ve uygulanan deneysel tedavilerin ilgili sinyal yolakları üzerindeki etkilerinin daha bütüncül biçimde değerlendirilmesine olanak tanımaktadır.

Çizelge 4.3. Normalize edilmiş protein ekspresyon düzeyleri

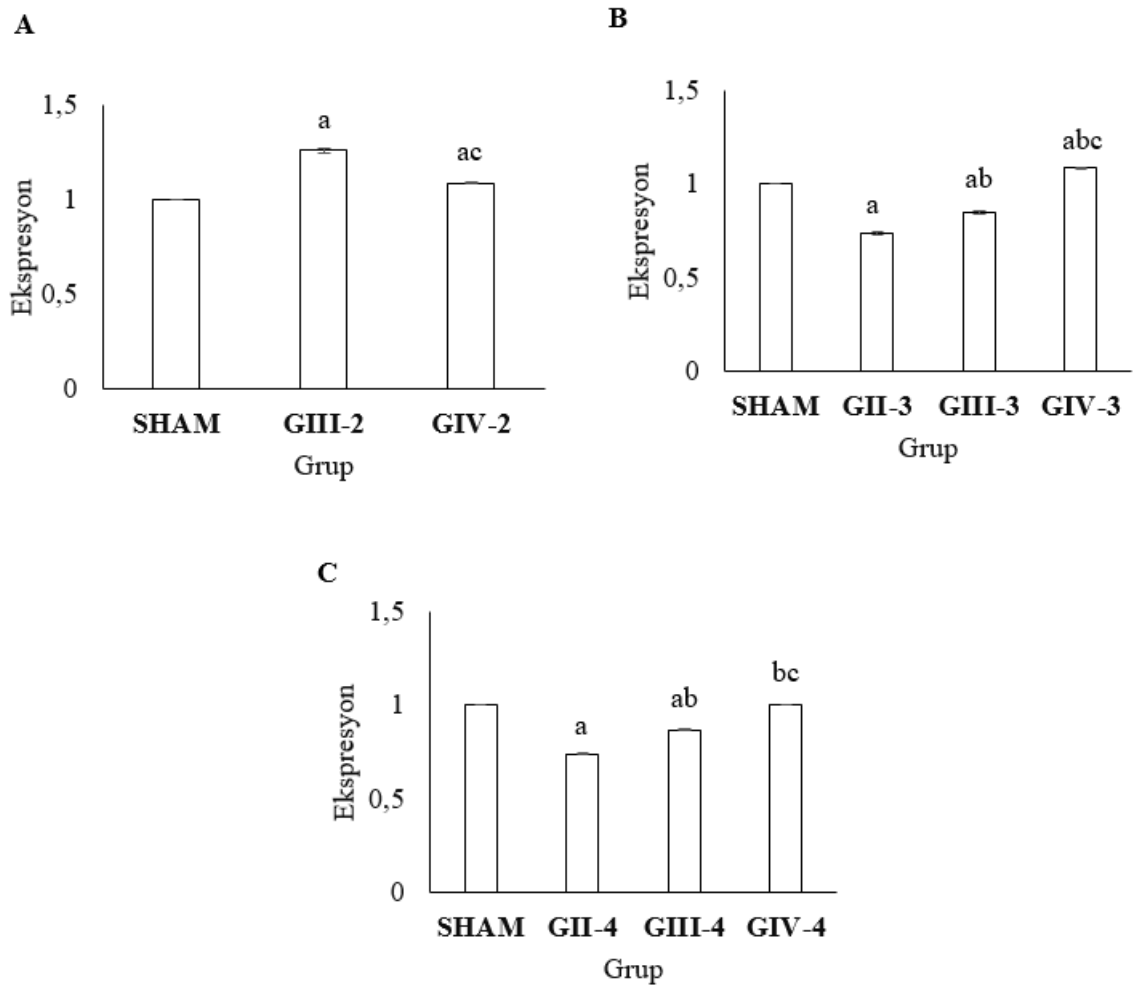
Grup	Western Sonuçları	
	B-aktin	**ERK-1**
SHAM	1,00	1,00
	1,00	1,00
	1,00	1,00
Grup II-3 (PHx+SLY) (24 saat)	0,73	0,79
	0,75	0,80
	0,75	0,80
Grup II-4 (PHx+SLY) (48 saat)	0,74	0,64
	0,75	0,66
	0,75	0,66
Grup III-2 (PHx+SLY) (12 saat)	1,27	0,77
	1,26	0,77
	1,25	0,78
Grup III-3 (PHx+SLY) (24 saat)	0,85	0,35
	0,86	0,36
	0,85	0,36
Grup III-4 (PHx+SLY) (48 saat)	0,87	0,61
	0,88	0,62
	0,87	0,62
Grup IV-2 (PHx+GA (12 saat)	1,09	0,21
	1,09	0,22
	1,08	0,23
Grup IV-3 (PHx+GA) (24 saat)	1,09	0,22
	1,09	0,24
	1,08	0,26
Grup IV-4 (PHx+GA) (48 saat)	1,00	0,34
	1,00	0,36
	1,00	0,38

Çizelge 4.4. Protein ifade düzeylerinin istatistiksel özeti (Mean ± SD)

Grup	**B-aktin**	**ERK-1**
SHAM	1 ± 0	1 ± 0
GII-3	0,74 ± 0,01	0,79 ± 0,005
GII-4	0,74 ± 0,005	0,65 ± 0,011
GIII-2	1,26 ± 0,005	0,77 ± 0,005
GIII-3	0,85 ± 0,005	0,35 ± 0,005
GIII-4	0,87 ± 0,005	0,61 ± 0,005
GIV-2	1,087 ± 0,005	0,22 ± 0,01
GIV-3	1,087 ± 0,005	0,24 ± 0,02
GIV-4	1 ± 0	0,36 ± 0,02

PHx sonrası β-aktin protein ekspresyonunda gözlenen zamana bağlı değişimler, karaciğer rejenerasyonu sürecinde hücresel yapı proteinlerinin dinamik biçimde düzenlendiğini göstermektedir. Bu çalışmada, özellikle GA uygulanan gruplarda β-aktin düzeylerinin zaman içerisinde farklılaşması, rejeneratif yanıtın evrelerine bağlı hücresel adaptasyon süreçleriyle ilişkili görünmektedir.

Erken dönemde, 12. saatte GIII-2 ve GA uygulanan GIV-2 gruplarında β-aktin ekspresyonunun SHAM grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artmış olması ($p<0,0001$) (Şekil 4.4), PHx sonrası gelişen cerrahi stres, inflamatuar yanıt ve hücre iskeleti yeniden yapılanmasının bir yansıması olarak değerlendirilebilir. Literatürde, rejenerasyonun erken fazında aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesine paralel olarak aktin ekspresyonunda geçici artışların meydana gelebileceği bildirilmiştir (Perrin vd., 2015; Wen vd., 2022). Bu bağlamda, GA uygulanan grupta gözlenen artış, GA'in erken fazda hücresel adaptasyon ve yapısal onarım süreçlerini düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Rejenerasyonun orta fazını temsil eden 24. saatte, GII-3 grubunda β-aktin ekspresyonunun SHAM grubuna göre azalması, buna karşın GA uygulanan GIV-3 grubunda ekspresyon düzeylerinin SHAM grubuna yakın seyretmesi (Şekil 4.4), GA'in hücresel yapı proteinlerinin daha dengeli bir ekspresyon düzeyinde bulunmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Önceki çalışmalarda β-aktin ekspresyonunun hücresel proliferasyon, stres yanıtı ve doku yeniden yapılanması süreçlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği ortaya konulmuştur (Dittmer ve Dittmer, 2006; Perrin vd., 2015). Bu açıdan, gallik asidin orta fazda hücresel stresin dengelenmesine katkıda bulunabileceği öne sürülebilir. Geç fazda, 48. saatte GII-4 grubunda β-aktin ekspresyonunun anlamlı biçimde azaldığı ($p<0,001$), buna karşılık GA uygulanan GIV-4 grubunda ekspresyon düzeylerinin SHAM grubuna yakın değerlere ulaştığı görüldü (Şekil 4.4). Bu bulgu, gallik asidin rejenerasyonun ilerleyen evrelerinde hücresel yapı proteinlerinin yeniden stabilize edilmesine katkı sağladığını düşündürmektedir. Rejenerasyonun tamamlanmasına yakın dönemlerde aktin gibi yapısal proteinlerin ekspresyonunun dengeye ulaştığı daha önce de ifade edilmiştir (Michalopoulos, 2017).



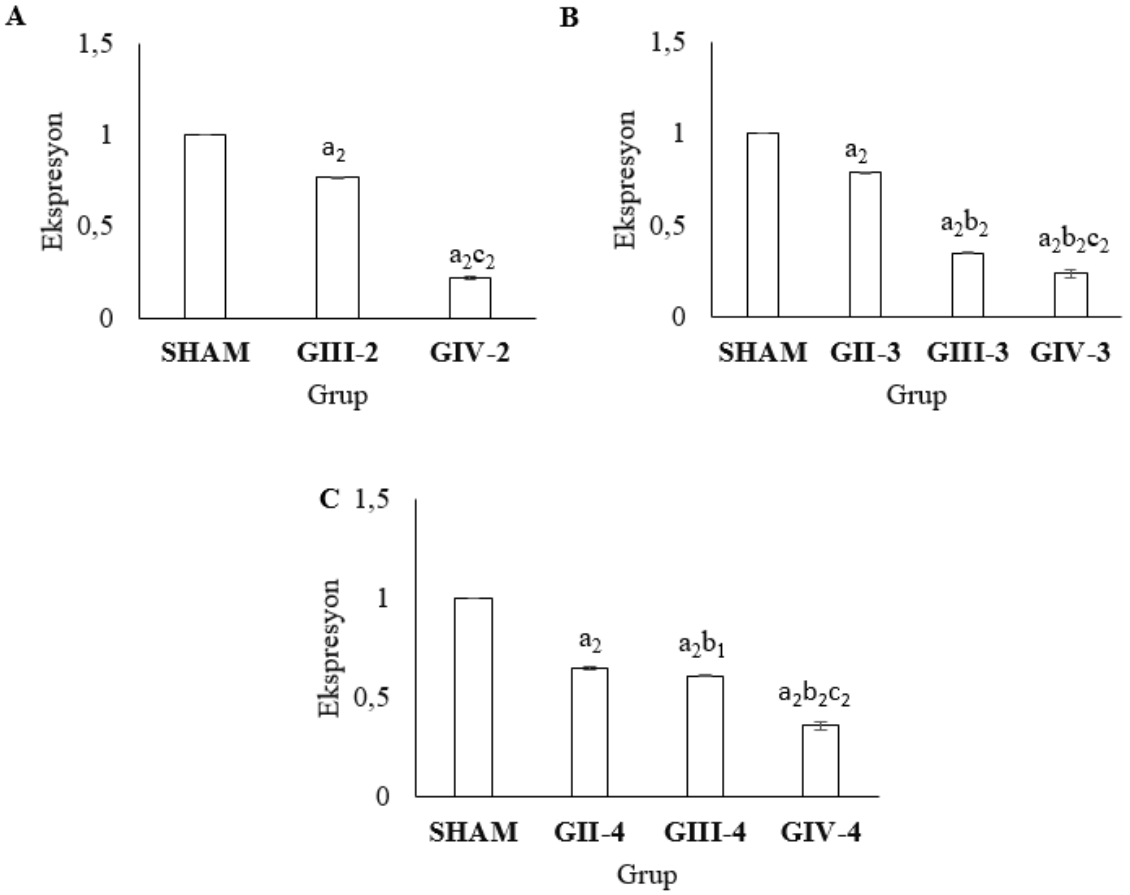
Şekil 4.4. Deney gruplarında saatlere göre β-aktin protein ekspresyon düzeyleri. (A) 12 saat (B) 24 saat ve (C) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir ($p<0,0001$).

Genel olarak değerlendirildiğinde, GA uygulanan gruplarda β-aktin ekspresyonunun erken dönemde geçici bir artış gösterdiği, orta ve geç fazlarda ise SHAM grubuna yakın ve daha stabil bir profile ulaştığı görülmektedir. Bu durum, GA'in rejenerasyon süreci boyunca hücresel stres yanıtlarını ve yapısal yeniden yapılanma süreçlerini dengeleyici bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu bulgular, β-aktinin yaygın olarak bir "housekeeping protein" ve yükleme kontrolü olarak kullanılmasına rağmen, rejenerasyon ve stres koşullarında sabit kabul edilmemesi gerektiğini desteklemektedir.

ERK-1 protein düzeylerinin PHx sonrası zamana ve uygulanan deneysel gruplara bağlı olarak anlamlı biçimde değiştiği gösterilmiştir. ERK/MAPK sinyal yolunun karaciğer

rejenerasyonunda hücre çoğalması, farkılaşması ve hayatta kalma süreçlerinde temel bir rol oynadığı bilinmektedir (Widmann vd., 1999; Michalopoulos, 2017).

12. saatte, GIII-2 ve özellikle GA uygulanan GIV-2 grubunda ERK-1 düzeylerinin SHAM grubuna kıyasla anlamlı biçimde azaldığı görüldü ($p<0,0001$) (Şekil 4.5-A). Rejenerasyonun erken fazı, sitokin salınımı ve inflamatuvar yanıtın baskın olduğu bir dönemdir. Literatürde ERK-1 aktivasyonunun bu erken dönemde geçici olarak baskılanabildiği, bunun hücre döngüsüne kontrollü geçişi sağlamak amacıyla gerçekleştiği bildirilmiştir (Cressman vd., 1996; Taub, 2004). Gallik asidin anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri göz önüne alındığında, erken dönemde ERK-1 sinyalinin baskılanmasının inflamatuvar yükün azaltılmasına bağlı olabileceği de düşünülmektedir (Bai vd., 2021). 24. saatte, ERK-1 düzeylerinin GII-3, GIII-3 ve GIV-3 gruplarında SHAM grubuna göre belirgin şekilde azaldığı, özellikle GA uygulanan GIV-3 gruplarında bu azalmanın daha belirgin olduğu izlenmektedir. (Şekil 4.5-B). Bu zaman noktası, hepatosit proliferasyonunun aktifleşmeye başladığı orta faza karşılık gelmektedir. Daha önceki çalışmalarda ERK-1 sinyalinin bu dönemde değişken bir grafik izleyebildiği, aşırı aktivasyonun ise hücre çoğalmasını olumsuz etkileyebileceği gösterilmiştir (Johnson ve Lapadat, 2002). Chu C. vd. (2024), yaptığı çalışma sonucunda gallik asidin hücre apoptozunu azalttığı, oksidatif stresi hafiflettiği ve NF-κB/MAPK yolunun aktivasyonunu baskılayarak temel sinyal moleküllerini inhibe edici etkisi olduğunu tespit etmiştir. 48. saatte ise tüm deney gruplarında ERK-1 düzeylerinin SHAM grubuna kıyasla düşük olduğu, GII-4 ise GIII-4'le hemen hemen yakın ekspresyon düzeylerine ulaştığı görüldü. GA uygulanan GIV-4 grubunda ERK-1 gen ifadesinin azalması daha belirgin saptandı. (Şekil 4.5-C). Bu veriler doğrultusunda rejenerasyonun geç fazında hücre çoğalmasındaki azalma ve dokunun homeostatik dengeye yönelmesi beklenen bir durumdur. Literatürde, karaciğer rejenerasyonunun tamamlanmasına yakın dönemlerde ERK-1 aktivitesinin baskılandığı ve hücre döngüsünün sonlandırıldığı bildirilmiştir (Fausto vd., 2006; Michalopoulos, 2017). Bu bulgulardan yola çıkarak, gallik asidin ERK-1 sinyalini baskılayıcı etkisinin, rejenerasyonun kontrollü biçimde sonlanmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.



Şekil 4.5. Deney gruplarında saatlere göre ERK-1 protein ekspresyon düzeyleri. (A) 12 saat (B) 24 saat ve (C) 48 saat. a: SHAM grubundan farkı, b: GII grubundan farkı, c: GIII grubundan farkı temsil etmektedir. (1: $p<0,05$, 2: $p<0,0001$).

Bu çalışmada ERK-1 protein düzeylerinin zamana bağlı olarak erken ve orta fazlarda baskılandığı, geç fazda ise belirgin şekilde azaldığı ortaya konulmuştur. GA uygulanan gruplarda gözlenen daha belirgin ERK-1 baskılanması, bu bileşiğin MAPK/ERK yolakları üzerinden rejeneratif süreci düzenleyici ve karaciğer dokularını onarıcı, koruyucu etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgular, ERK-1'in karaciğer rejenerasyonunda aktif ve zamana duyarlı bir rol aldığını literatürde bulunan rejenerasyon modelleri ile uyum göstermesiyle birlikte söyleyebiliriz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen bulgular, gallik asidin PHx sonrası karaciğer rejenerasyonunu destekleyici bir etki gösterdiğini ve bu etkinin büyük ölçüde MEK/ERK-1 sinyal yolu üzerinden gerçekleşebileceğini ortaya koymaktadır. MEK ve ERK-1 hücre büyümesi, hücre döngüsüne giriş ve doku yenilenmesi süreçlerinde kritik rol oynayan temel MAPK yolak bileşenleri olup, hepatik rejenerasyonun düzenlenmesinde merkezi öneme sahiptir.

MEK ekspresyonu değerlendirildiğinde, PHx sonrası erken dönemde GA uygulanan gruplarda belirgin değişimler gözlenmiş, bu durum MEK yolunun rejeneratif yanıtın başlatılmasında aktif rol aldığını düşündürmüştür. Özellikle erken saatlerde MEK düzeylerinde meydana gelen artış, hepatik hasara yanıt olarak hücresel sinyalizasyonun hızlı biçimde aktive edildiğini göstermektedir. İlerleyen zaman noktalarında MEK ekspresyonunun dengelenmesi ise, rejenerasyon sürecinin faza özgü olarak kontrol altında tutulduğuna işaret etmektedir.

ERK-1 protein düzeyleri incelendiğinde, GA uygulanan gruplarda özellikle erken ve orta fazlarda ERK-1 aktivasyonunun arttığı görülmüştür. ERK-1'in bu dönemde artış göstermesi, hepatik hücrelerin hücre döngüsüne girişinin ve çoğalma kapasitesinin desteklendiğini düşündürmektedir. 24. saat civarında bazı gruplarda ERK-1 düzeylerinde azalma gözlenmesi, bu yolun geçici ve zamana bağlı bir aktivasyon profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Buna karşın, GA uygulanan gruplarda ERK-1 düzeylerinin korunması gallik asidin MEK/ERK yolak aktivasyonunun kontrollü biçimde sürdürülmesini destekleyebileceğini düşündürmektedir. 48. saatte gözlenen ERK-1 düzenlenmesi ise rejenerasyonun geç fazında doku bütünlüğünün yeniden sağlanması süreciyle uyumlu bulunmuştur.

MEK ve ERK-1 birlikte değerlendirildiğinde, gallik asidin bu iki basamak arasındaki sinyal iletimini destekleyerek MAPK/ERK yolunun koordineli aktivasyonunu sağladığı söylenebilir. Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda GA uygulanan gruplarda gözlenen

MEK ve ERK-1 düzeylerindeki düzenlenmeler, gallik asidin bu temel sinyal yolunu hedef alarak rejeneratif yanıtı güçlendirdiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen veriler, gallik asidin PHx sonrası karaciğer rejenerasyonunu MEK/ERK-1 sinyal yolu üzerinden desteklediğini, bu etkinin zamana bağlı olarak farklı fazlarda düzenlendiğini ve gallik asidin rejeneratif sürece katkıda bulunabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, gallik asidin karaciğer rejenerasyonuna yönelik terapötik potansiyelinin daha ileri moleküler çalışmalarla ayrıntılı biçimde değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Akbulut, M. (2021). Sıçanlarda asetaminofen ile oluşturulan karaciğer toksisitesi üzerine somatostatin analoğu oktreotidin etkisinin araştırılması.

Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). *An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers*. Nutrition Journal, 15, 99.

Badhani, B., Sharma, N., & Kakkar, R. (2015). Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Rsc Advances*, *5*(35), 27540-27557.

Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X., ... & Meng, X. (2021). Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy*, *133*, 110985.

Bao, J., Shi, Y., Sun, H., Yin, X., Yang, R., Li, L., ... & Bu, H. (2011). Construction of a portal implantable functional tissue-engineered liver using perfusion-decellularized matrix and hepatocytes in rats. *Cell transplantation*, *20*(5), 753-766.

Bayramoglu, G., Bayramoglu, A., Engur, S., Senturk, H., Ozturk, N., & Colak, S. (2014). The hepatoprotective effects of Hypericum perforatum L. on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Cytotechnology*, *66*(3), 443-448.

Behvandi, MM, Sabbagh, S., Rostami, R., Moradipour, A., Karami, M., Jafarian, A., ... & Norouzirad, R. (2025). Erkek Wistar sıçanlarında gentamisin uygulamasıyla indüklenen hepatorenal hasarların hafifletilmesinde gallik asidin etkisi. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 1-13.

Berber, B., & Canbek, M. (2017). Karaciğer rejenerasyonunda mTOR sinyal yolağının önemi. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*, *2*(2), 68-73.

Canbek, M., Uyanoğlu, M., Aral, E., & Baser, K. H. C. (2006). Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Planta Medica*, *72*(11), P_192.

Chu, C., Ru, H., Chen, Y., Xu, J., Wang, C., & Jin, Y. (2024). Gallic acid attenuates LPS-induced inflammation in Caco-2 cells by suppressing the activation of the NF-κB/MAPK signaling pathway: Gallic acid alleviates the inflammation in Caco-2 cells. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, *56*(6), 905.

Cressman, D. E., Greenbaum, L. E., DeAngelis, R. A., Ciliberto, G., Furth, E. E., Poli, V., & Taub, R. (1996). Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*, *274*(5291), 1379-1383.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Çakır, H. K., Bayrakdar, A. N., Sarıoğlu, E., Öztürk, S., Güngördü, Ş., Kocabaş, K. S., & Eroğlu, O. (2023). Meme kanseri tedavisinde potansiyel bir antineoplastik ajan: gallik asit. *Osmangazi Tıp Dergisi*, *45*(5), 834-843.

Degirmenci, U., Wang, M., & Hu, J. (2020). Targeting aberrant RAS/RAF/MEK/ERK signaling for cancer therapy. *Cells*, *9*(1), 198.

Dittmer, A., & Dittmer, J. (2006). β-Actin is not a reliable loading control in Western blot analysis. *Electrophoresis*, *27*(14), 2844-2845.

Dodington, D. W., Desai, H. R., & Woo, M. (2018). JAK/STAT–emerging players in metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *29*(1), 55-65.

El-Lakkany, N. M., El-Maadawy, W. H., El-Din, S. H. S., Saleh, S., Safar, M. M., Ezzat, S. M., ... & Hammam, O. A. (2019). Antifibrotic effects of gallic acid on hepatic stellate cells: In vitro and in vivo mechanistic study. *Journal of traditional and complementary medicine*, *9*(1), 45-53.

Ertaş Oğuz, F., & Kırmızıgül, A. H. (Eds.). (2025). *Biyosağlıkta güncel yaklaşımlar V* (62 ss.). İKSAD Publications.

Esmaeilzadeh, M., Heidarian, E., Shaghaghi, M., Roshanmehr, H., Najafi, M., Moradi, A., & Nouri, A. (2020). Gallic acid mitigates diclofenac-induced liver toxicity by modulating oxidative stress and suppressing IL-1β gene expression in male rats. *Pharmaceutical biology*, *58*(1), 590-596.

Fausto, N., & Campbell, J. S. (2003). The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mechanisms of development*, *120*(1), 117-130.

Fausto, N., Campbell, J. S., & Riehle, K. J. (2006). Liver regeneration. *Hepatology*, *43*(S1), S45-S53.

Fernandes, F. H. A., & Salgado, H. R. N. (2016). Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical reviews in analytical chemistry*, *46*(3), 257-265.

GM, H. (1931). Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol*, *12*, 186-202.

Gökçimen, A., Öztürk, Ö., & Karaöz, E. (1999). Rejenerasyon. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, *19*(3), 169-183.

Hall, J. E. (2016). Liver as an organ. In *Guyton and Hall textbook of medical physiology* (13th ed., Chapter 71). Elsevier.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Haruyama, T., Ajioka, I., Akaike, T., & Watanabe, Y. (2000). Regulation and significance of hepatocyte-derived matrix metalloproteinases in liver remodeling. *Biochemical and biophysical research communications*, *272*(3), 681-686.

Hepatektomi ve Karaciğer Rejenerasyonu. (2019). (n.p.): Rating Academy Ar-Ge Yazılım Yayıncılık Eğitim Danışmanlık ve Organizasyon Ticaret Limited Şirketi.

Higgins, G.M. and Anderson, R.M., 1931 Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal, Arch Pathol., 12, 186-202.

Hoca, M., & Özduran, G. (2024). Polifenoller ve Özellikleri. C. Elmas içinde, *Sağlık & Bilim* (s. 10-11). İstanbul: EfeAkademi Yayınları.

Howe, A. K., Aplin, A. E., & Juliano, R. L. (2002). Anchorage-dependent ERK signaling–mechanisms and consequences. *Current opinion in genetics & development*, *12*(1), 30-35.

Huang, W., Han, N., Du, L., Wang, M., Chen, L., & Tang, H. (2021). A narrative review of liver regeneration—from models to molecular basis. *Annals of Translational Medicine*, *9*(22), 1705.

Ishiki, Y., Ohnishi, H., Muto, Y., Matsumoto, K., & Nakamura, T. (1992). Direct evidence that hepatocyte growth factor is a hepatotrophic factor for liver regeneration and has a potent antihepatitis effectin vivo. *Hepatology*, *16*(5), 1227-1235.

Itkin, M., Rabinowitz, D., & Hur, S. (2020). Liver Lymphatic Imaging and Interventions: Resurrection of the Forgotten Knowledge. *Seminars in interventional radiology*, *37*(3), 318–323.

Jangphattananont, N., Sato, H., Imamura, R., Sakai, K., Terakado, Y., Murakami, K., ... & Matsumoto, K. (2019). Distinct localization of mature HGF from its precursor form in developing and repairing the stomach. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(12), 2955.

Johnson, G. L., & Lapadat, R. (2002). Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, *298*(5600), 1911-1912.

Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R., ... & Bishayee, A. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian journal of basic medical sciences*, *22*(3), 225.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Kanter, M., Tuncer, I., Erboga, M., Atanassova, P., Takir, M., & Kostek, O. J. F. M. (2016). The effects of quercetin on liver regeneration after liver resection in rats. *Folia Morphologica*, *75*(2), 179-187.

Kay, M. A., & Fausto, N. (1997). Liver regeneration: prospects for therapy based on new technologies. *Molecular medicine today*, *3*(3), 108-115.

Khan, M. G. M., Ghosh, A., Variya, B., Santharam, M. A., Kandhi, R., Ramanathan, S., & Ilangumaran, S. (2019). Hepatocyte growth control by SOCS1 and SOCS3. *Cytokine*, *121*, 154733.

Kogure, K., Ishizaki, M., Nemoto, M., Kuwano, H., & Makuuchi, M. (1999). A comparative study of the anatomy of rat and human livers. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, *6*(2), 171-175.

Lemire, J. M., Shiojiri, N., & Fausto, N. (1991). Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine. *The American journal of pathology*, *139*(3), 535.

Li, W., Liang, X., Leu, J. I., Kovalovich, K., Ciliberto, G., & Taub, R. (2001). Global changes in interleukin-6–dependent gene expression patterns in mouse livers after partial hepatectomy. *Hepatology*, *33*(6), 1377-1386.

Liedtke, C., & Trautwein, C. (2012). The role of TNF and Fas dependent signaling in animal models of inflammatory liver injury and liver cancer. *European journal of cell biology*, *91*(6-7), 582-589.

Ma, X., Huang, T., Chen, X., Li, Q., Liao, M., Fu, L., ... & Zeng, Y. (2025). Molecular mechanisms in liver repair and regeneration: from physiology to therapeutics. *Signal transduction and targeted therapy*, *10*(1), 63.

Matsumoto, K., & Nakamura, T. (1991). Hepatocyte growth factor: molecular structure and implications for a central role in liver regeneration. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *6*(5), 509-519.

Michalopoulos, G. K. (2013). *Principles of liver regeneration and growth homeostasis*. *Comprehensive Physiology*, 3(2), 485–513

Michalopoulos, G. K. (2017). Hepatostat: Liver regeneration and normal liver tissue maintenance. *Hepatology*, *65*(4), 1384-1392.

Michalopoulos, G. K. (2020). LSP1 Involved in Liver Regeneration Termination, Deleted in 50 Percent of Human Liver Cancer and Major Determinant of Response to Sorafenib.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Michalopoulos, G. K., & Khan, Z. (2005). Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin. *Gastroenterology*, *128*(2), 503.

Mimuro, A., Aoki, T., Tsuchida, A., Miyashita, T., Koyanag, Y. and Enosawa, S., 2002, Effect of ethanolamine on liver regeneration after 90% hepatectomy in rats. Transplantation Proceedings, 34, 2664-2667.ra

Moore K. L., Dalley A. F. & Agur A. M. (2014). Moore clinically oriented anatomy. Philadelphia: Wolters Kluwer.

Nagai, K., Yagi, S., Uemoto, S., & Tolba, R. H. (2013). Surgical procedures for a rat model of partial orthotopic liver transplantation with hepatic arterial reconstruction. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (73), 4376.

Ozaki, M. (2020, April). Cellular and molecular mechanisms of liver regeneration: Proliferation, growth, death and protection of hepatocytes. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 100, pp. 62-73). Academic Press.

Önür, N. D., & Beyler, A. R. (2001). Safra asitleri metabolizmasi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, *54*(1).

Palmes, D., & Spiegel, H. U. (2004). Animal models of liver regeneration. *Biomaterials*, *25*(9), 1601-1611.

Peng, W. C., Logan, C. Y., Fish, M., Anbarchian, T., Aguisanda, F., Álvarez-Varela, A., ... & Nusse, R. (2018). Inflammatory cytokine TNFα promotes the long-term expansion of primary hepatocytes in 3D culture. *Cell*, *175*(6), 1607-1619.

Perrin, B. J., & Ervasti, J. M. (2010). The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskeleton*, *67*(10), 630-634.

Reckziegel, P., Dias, V. T., Benvegnú, D. M., Boufleur, N., Barcelos, R. C. S., Segat, H. J., ... & Bürger, M. E. (2016). Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicology reports*, *3*, 351-356.

Sanjay, S., Girish, C., Toi, P. C., & Bobby, Z. (2021). Gallic acid attenuates isoniazid and rifampicin-induced liver injury by improving hepatic redox homeostasis through influence on Nrf2 and NF-κB signalling cascades in Wistar Rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *73*(4), 473-486.

Schiff, E., Maddrey, W., & Sorrell, M. (2011). *Schiff's Diseases of the Liver*. J. W. Sons. içinde Wıley-Blackwell.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2016). IL-6 pathway in the liver: from physiopathology to therapy. *Journal of hepatology*, *64*(6), 1403-1415.

Sivasubramaniyam, T., Schroer, S. A., Li, A., Luk, C. T., Shi, S. Y., Besla, R., ... & Woo, M. (2017). Hepatic JAK2 protects against atherosclerosis through circulating IGF-1. *JCI insight*, *2*(14), e93735.

Şentürk, M., & Karabıyık, T. (2019). *Hepatektomi ve Karaciğer Rejenerasyonu*. içinde Çanakkale: Rating Academy Ar-Ge Yazılım Yayıncılık Eğitim Danışmanlık ve Organizasyon Tic.Ltd.Şti

Talarmin, H., Rescan, C., Cariou, S., Glaise, D., Zanninelli, G., Bilodeau, M., ... & Baffet, G. (1999). The mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase cascade activation is a key signalling pathway involved in the regulation of G1 phase progression in proliferating hepatocytes. *Molecular and cellular biology*, *19*(9), 6003-6011.

Tanaka, T., & Kishimoto, T. (2012). Targeting interleukin-6: all the way to treat autoimmune and inflammatory diseases. *International journal of biological sciences*, *8*(9), 1227–1236.

Taub, R. (2004). Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nature reviews Molecular cell biology*, *5*(10), 836-847.

Valizadeh, A., Majidinia, M., Samadi-Kafil, H., Yousefi, M., & Yousefi, B. (2019). The roles of signaling pathways in liver repair and regeneration. *Journal of Cellular Physiology*, *234*(9), 14966-14974.

Verma, S., Singh, A., & Mishra, A. (2013). Gallic acid: Molecular rival of cancer. *Environmental toxicology and pharmacology*, *35*(3), 473-485.

Wen, X., Jiao, L., & Tan, H. (2022). MAPK/ERK pathway as a central regulator in vertebrate organ regeneration. *International journal of molecular sciences*, *23*(3), 1464.

Widmann, C., Gibson, S., Jarpe, M. B., & Johnson, G. L. (1999). Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiological reviews*, *79*(1), 143-180.

Xiao, Y., Zhao, C., Tai, Y., Li, B., Lan, T., Lai, E., ... & Gao, J. (2023). STING mediates hepatocyte pyroptosis in liver fibrosis by epigenetically activating the NLRP3 inflammasome. *Redox biology*, *62*, 102691.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Zhang, C., Sun, C., Zhao, Y., Ye, B., & Yu, G. (2024). Signaling pathways of liver regeneration: Biological mechanisms and implications. *IScience*, *27*(1).

Zhao, Y., Ye, W., Wang, Y. D., & Chen, W. D. (2022). HGF/c-Met: a key promoter in liver regeneration. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 808855.