

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

PARSİYEL HEPATEKTOMİLİ RATLARDA
FOSFODİESTERAZ III İNHİBİTÖRÜ'NÜN KARACİĞER
HASARINA ETKİSİ

Dr. Erkan AKSOY

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güldeniz KARADENİ ÇAKMAK

ZONGULDAK

2014

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

PARSİYEL HEPATEKTOMİLİ RATLARDA
FOSFODİESTERAZ III İNHİBİTÖRÜ'NÜN KARACİĞER
HASARINA ETKİSİ

Dr. Erkan AKSOY

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK

ZONGULDAK

2014

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Parsiyel Hepatektomili Ratlarda Fosfodiesteraz III İnhibitörü'nün Karaciğer Hasarına Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Erkan AKSOY

Tez Savunma Tarihi: 28/02/2014

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK

Doç. Dr. Ali Uğur EMRE
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Öge TAŞÇILAR
Üye

Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK
Üye



Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimim süresince, eğitimimde büyük katkı ve destekleri olan, her konuda yardımlarını gördüğüm sayın hocalarım; Prof. Dr. Mustafa Cömert, Doç. Dr. Öge Taşçılar, Doç. Dr. Bülent Hamdi Uçan, Doç. Dr. Ali Uğur Emre, Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz Çakmak, Doç. Dr. Kemal Karakaya, Doç. Dr. Fatma Ayça Gültekin' e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerinden ötürü özellikle Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz Çakmak, Patoloji bölümünden Doç. Dr. Burak Bahadır, Biyokimya bölümünden Doç. Dr. Murat Can, Biyoistatistik bölümünden Yrd. Doç. Dr. Firuzan Köktürk ve Yrd. Doç. Dr. Ümmühani Özel Türkçü 'ye teşekkür ederim.

Ayrıca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Dr. Hüseyin Bayrak, Dr. Muzaffer Önder Öner, Dr. Serap Çağlayan Çabalak, Dr. İlhan Taşdöven, Dr. Ufuk Tali, Dr. Onur Merdivan, Dr. Murat Yüklü, Dr. Demet Sümer, Dr. Metin Varlı, Dr. Sait Tayfun, Dr. Selçuk Özkan, Dr. Ali Gençoğlu, genel cerrahi servis, yoğun bakım, ameliyathane hemşire ve personeline asistanlığım süresince göstermiş oldukları anlayış ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim canım annem, babam, eşim ve biricik kızlarıma sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Erkan AKSOY

Zonguldak, 2014

ÖZET

Erkan Aksoy, Parsiyel Hepatektomili Ratlarda Fosfodiesteraz III İnhibitörü'nün Karaciğer Hasarına Etkisi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2014.

Giriş: Hasar veya rezeksiyon sonrası rejenerasyon yeteneği karaciğerin etkileyici bir özelliğidir. Karaciğer yaralanma, iskemi ve rezeksiyon sonrasında rejenerasyon ancak hepatik rejenerasyon için en kuvvetli uyarıcı rezeksiyondur. Fosfodiesteraz III inhibitörlerinin karaciğer hasarını kolestazda hem-oksijenaz yoluyla engellediği ve fibrojenizasyonu esnasında ise stellat hücre aktivasyonunu baskılayarak antifibrojenik etki gösterdiği bildirilmiştir.

Amaç: Selektif fosfodiesteraz 3 inhibitörü olan silostazol uygulamasının parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonuna etkisinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Kırk adet erkek Wistar albino cinsi rat randomize edilerek dört gruba ayrıldı. Tüm ratlara standart %60 hepatektomi uygulandı. Deney gruplarına silostazol verildi. Rezeksiyon sonrası denekler 4 ve 7. günlerde sakrifiye edildi. Gruplar biyokimyasal, morfolojik ve histopatolojik parametreler açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Biyokimyasal inceleme sonucunda silostazol uygulamasının karaciğer fonksiyon testlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yaratmadığı görüldü. Gruplar rölatif karaciğer ağırlığı açısından karşılaştırıldığında, silostazol uygulanan gruplarda, her iki zaman dilimi açısından da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artış tespit edildi ($p>0.05$). Histopatolojik değerlendirme sonucunda ise silostazol uygulanan gruplarda mitoz indeksinin ve çift çekirdek sayısının 7. günde anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve PCNA (proliferating cell nuclear antigen) oranında ise 4 ve 7. günlerde anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Silostazol uygulanan gruplarda süper oksit dismutaz (SOD) düzeyi anlamlı yüksek, miyeloperoksidaz (MPO) ve aşırı okside olmuş protein ürünleri (AOPP) seviyesi anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Grupların glutatyon düzeyleri arasında anlamlı fark görülmedi.

Sonuç: Çalışmamızda silostazol uygulamasının karaciğer rezeksiyonu sonrası histopatolojik parametreleri olumlu yönde etkilediği ancak karaciğer rölatif ağırlığında anlamlı fark oluşturmadığı gözlemlendi. Silostazol'un histolojik parametrelere olan olumlu etkisinin, istatistiksel olarak anlamlı fark yaratacak düzeyde karaciğer rölatif ağırlığına yansımaması üzerine etkili mekanizmaların daha ileri çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: silostazol, hepatektomi, karaciğer rejenerasyonu

ABSTRACT

Erkan Aksoy, Phosphodiesterase 3 inhibitor in experimentally models of partial hepatectomy effects of liver damage, Bulent Ecevit University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Thesis, Zonguldak, 2014.

Introduction: Damage or after resection of liver regeneration capability is an impressive feature. Injury, ischemia and after resection of liver are regenerated but the most potent stimulus for regeneration of hepatic resection is accepted. Cholestasis of liver injury phosphodiesterase III inhibitors that prevent through the HEM-oxygenase and suppressing the activation of stellate cells have been reported to show the anti-fibrogenic effects.

Purpose: To research the effect of selective phosphodiesterase 3 inhibitor cilostazol after partial hepatectomy.

Materials and methods: Forty male Wistar albino rats were randomized and divided into four groups. Whole rats were administered a standard 60% hepatectomy. Experiment groups were given cilostazol. In the fourth and seventh days after resection, subjects were sacrificed. Biochemical, morphological and histopathological parameters were compared with among the groups.

Results: Cilostazol implementation did not make a statistically significant difference was seen in liver biochemical function tests. Groups were compared in terms of relative liver weight; in terms of both time frames, although not statistically significant increase was detected($p>0.05$). In the group treated with cilostazol histopathological examination of the mitotic index and the number of dual-core 4 day was significantly higher, fourth and seventh days was found to increase significantly in ratio of PCNA(proliferating cell nuclear antigen)($p<0.05$). superoxide dismutase (SOD) levels were significantly higher in the group treated with silastazol but myeloperoxidase (MPO) and advanced oxidation protein products (AOPP) levels were significantly lower in this group($p<0.05$).Among the groups were not significantly different in glutathione levels.

Conclusion: In our study, implementation of cilostazol after liver resection were affect positively histopathologic parameters however no significant difference was observed in the liver relative weight. Therefore, further studies should be performed.

Key Words: Cilostazol, hepatectomy, liver regeneration

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİL DİZİNİ	ix
RESİM DİZİNİ	x
TABLO DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer Anatomisi	3
2.1.1. Karaciğerin Kanlanması	3
2.1.2. Karaciğerin Ligamentleri	4
2.1.3. Karaciğer Segmental Anatomisi	4
2.1.4. Rat Karaciğer Anatomisi	5
2.2. Karaciğer Histolojisi	6
2.3. Karaciğerin Görevleri	8
2.4. Karaciğer Rejenerasyonu	10
2.5. SİLOSTAZOL	16
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. Gruplar	19
3.2. Operatif Prosedür	20
3.3. Parametreler	22
3.3.1. Biyokimyasal parametreler	22
3.3.2. Doku enzimleri	22
3.3.3. Morfolojik parametreler	24
3.3.4. Histopatolojik parametreler	24
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR	26

4.1. Regenerasyon Parametreleri Median Değerleri	26
4.2. Biyokimyasal Analiz	28
4.3. Karaciğer Rölatif Ağırlığı	29
4.4. Histopatolojik İnceleme	29
4.5. Doku Enzim Düzeyi	30
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ	41
7. KAYNAKLAR	43
8. EKLER	51
Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Arter
AKT	: Protein kinaz B
ALP	: Alkalen fosfataz
AST	: Aspartat amino transferaz
EBF	: Epitelyal büyüme faktörü
SLS	: Silostazol
GER	: Granüllü endoplazmik retikulum
GGT	: Gama glutamil transferaz
GzER	: Granülsüz endoplazmik retikulum
HBF	: Hepatosit büyüme faktörü
H&E	: Hematoksilen & Eozin
IBF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
Jak	: Janus tirozin kinaz
KRA	: Karaciğer rölatif ağırlığı
NF	: Nükleer faktör
PCNA	: Prolifere olan hücre nükleer antijeni
RES	: Retiküloendotelyal sistem
TNF	: Tümör nekroze edici faktör
TNFR	: Tümör nekroze edici faktör reseptörü
V	: Ven
VEBF	: Vasküloendotelyal büyüme faktörü

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Silostazolun Hücre İçi Etki Mekanizması.....	18
2. Mitoz indeksi ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması	32
3. Çift çekirdek görülme oranı ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.	34
4. PCNA görülme oranı ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.	35
5. KRA ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.	36

RESİM DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Coinaud segmental anatomisi	5
2. Rat karaciğer anatomisi.....	6
3. Ratların traş edildikten sonra povidon iyot ile temizlik sonrasında örtülmesi ve batına giriş insizyonu.....	20
4. Sol lobun vasküler pedikülünün askıya alınması.....	21
5. Sol lobun vasküler pedikülünün bağlanması.....	21
6. Silostazol uygulanmamış gruptaki görünüm (Mitoz Aktivitesi) (7.gün) (H&E 200x).....	31
7. Silostazol uygulanmış gruptaki görünüm.(siyah ok: artmış mitoz aktivitesi) (H&E 4.gün) (200x).	32
8. Silostazol uygulanmamış gruptaki çift çekirdek görünümü (7.gün) (H&E 200x). 33	
9. Silostazol uygulanmış grupta çift çekirdek (siyah ok) görünümü (7.gün) (H&E 200x).....	33
10. Silostazol uygulanmamış gruptaki PCNA ile boyanma görünümü (4.gün) (x200)	34
11. Silostazol uygulanmış gruptaki PCNA ile boyanma görünümü (4.gün) (x200)..	35

TABLO DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.Grupların karaciğer fonksiyon testleri Median(min-max) değerleri	26
2. Grupların karaciğer rölatif ağırlığının Median(min-max) değerleri.	26
3. Grupların doku enzimleri'nin Median (min-max) değerleri.	27
4. Grupların histopatolojik parametreler açısından ortalama değerleri.....	27
5.Silostazol uygulanan ve uygulanmayan grupların karaciğer fonksiyon testleri, KRA ve doku enzimleri ve histopatolojik parametreler açısından karşılaştırılmalı sonuçları	28

1. GİRİS VE AMAÇ

Karaciğerin birbölümünün çıkarılması karaciğerin selim ve malign hastalıklarının tedavisinde önemli bir yöntemdir. Önceleri korkulan bir cerrahi girişim olan karaciğer rezeksiyonunun mortalitesi gelişen teknoloji, karaciğer anatomi ile fizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve operasyonların bu bilgiler ışığında uygulanması ile bugün %5'in altına düşmüştür.¹

Karaciğer geniş bir yenilenme özelliğine sahip olması nedeni ile diğer bütün organlardan farklıdır. Karaciğerin çoğalma yeteneği, eski çağlardaki efsanelerde dahi vurgulanmaktadır. Ancak farklı patolojik mekanizmalar sonucu yenilenme yeteneği kaybolmakta, uzamış toksik, enfektif ve kolestatik maruziyet, geri dönülemeyen fibrozis ile sonuçlanmakta ve hastaların birçoğu genç yaşta kaybedilmektedir.

Parsiyel hepatektomi birçok hastalıkta sık olarak uygulanmaktadır. Hepatektomi sonrası akut karaciğer yetmezliği, multiorgan yetmezliği, böbrek yetmezliği, sepsis, pulmoner disfonksiyon gibi komplikasyonlarda sık olarak görülmektedir. Karaciğer rezeksiyonları total veya parsiyel dışında irregüler rezeksiyonlar şeklinde yapılabilmektedir. Karaciğer rezeksiyonu sonrası hepatik fonksiyonların devamı için hepatektomi sırasında ve yapılmadan uygulanan hepatik iskeminin zamanının ve etkisinin enaz sürede olması gereklidir.

Fosfodiesteraz III inhibitörlerinin karaciğer hasarında hem oksijen az yoluyla rat karaciğerini koruduğu ve sağ kalımı artırdığı bildirmiştir.² Ancak fosfodiesteraz III inhibitörü silastazol'un karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Silostazol ve metabolitlerinden bazıları, siklik adenzin monofosfat (cAMP) bozulmasını baskılayarak trombositler ve kan damarları dahil çeşitli dokulardaki cAMP düzeyinin artmasına neden olan fosfodiesteraz III (PDE III) inhibitörleridir. Bu mekanizma çeşitli uyarılar yoluyla trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve vazodilatasyona yol açar. Silostazol'un farklı vasküler yataklarda homojen olmayan bir vazodilatatör etkisi vardır.³

Çalışmamızda ratlar üzerinde oluşturulan hepatik rezeksiyon modelinde Silostazol'un karaciğer rejenerasyonu üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer insan vücudunda batındaki en büyük organdır ve sağ hipokondrium ile epigastrium bölgesinde bulunur. Karaciğerin yüzleri anterior, süperior ve posterior yönlerde facies diafragmatika, inferior yönde ise facies visseralisdir. Facies diafragmatica düzgün, kubbe biçiminde olan karaciğerin diafragmatik yüzü, diafragmanın alt yüzünde uzanır. İlgili olarak recessus subphrenicus ve recessus hepatorenalis bulunur. Recessus subphrenicus diafragmatik yüzü, diafragmadan ayırır ve embriyoda ventral mesenterden oluşan ligamentum falciforme ile sağ ve sol alanlara ayrılır. Rec. hepatorenalis, karaciğerin sağ yanı ile sağ böbrek ve surrenal bezi arasında yer alan periton boşluğunun bir kısmıdır. ⁴

Erişkinlerde karaciğer ağırlığı vücut ağırlığının yüzde ikisi civarındadır. Karaciğer ağırlığı 1.3-1.7 kg arasında bulunmaktadır. Karaciğer Glisson olarak isimlendirilen fibröz bir yapıya sahip kapsülle çevrilidir. Karaciğer üst yüzeyinde diafragma, alt yüzde ise duodenum, transverskolon, sağ böbrek, sağısurrenal, özefagus ve mide ile komşudur. ⁵

2.1.1. Karaciğerin Kanlanması

Beslenmesi hepatic arter ve portal ven tarafından sağlanmaktadır.

Hepatic arter

Hepatic arter karaciğere gelen kanın yüzde yirmibeşini, gelen oksijenin ise yüzde ellisini sağlar. Çoğunlukla truncus çölyakustan çıkar. ⁶⁻⁷ Karaciğere gelmeden hemen önce sağ ve sol dallara ayrılır. Hepatic arter değişik varyasyonlar gösterebilmektedir. Hepatika dextra büyük oranda porta hepatis seviyesinde koledok kanalının arkasında seyretmektedir. A.hepatika sinistra ise çoğunlukla lobus hepatis sinistrayı kanlandırır, fakat azda olsa sol median segmentin kanlanması a. hepatica dextranın bir dalı tarafından olabilir. Karaciğer içinde a.hepatika dextra ön ve arka dallara, a.hepatika sinistra ise medial ve lateral dallara ayrılarak safra yollarının seyrini izler. ⁶

Portal ven

Vena porta karaciğer kanının yüzde yetmişbeşini, gelen oksijenin ise yüzde ellisini taşır.⁶⁻⁷

Vena porta ince ve kalın bağırsaklar, dalak ve pankreastan topladığı kanı karaciğere getirir. Portal venle karaciğere getirilen besinler burada önce depo edilir ve sonra dönüştürülür.⁸⁻⁹

Portal ven v.mezenterika süperior ile v.liena'lisin pankreas posteriorunda birinci ve ikinci lomber vertebra düzeyinde birleşmesi ile meydana gelir.⁷ V. porta hepaticus sağ ve sol olmak üzere ikiye bölünür. V. porta dextra ön ve arka olmak üzere iki dala, bu dalların herbiride süperior ve inferior olarak ayrıca iki dala ayrılır. V. porta sinistra ise medial ve lateral olarak iki dala, bunların herbiride süperior ve inferior olarak ayrıca iki dala ayrılırlar.⁷

Hepatik ven

V. hepaticae karaciğerin segmentlerinin arasında seyrederek V. hepatica dextra v. hepatica sinistra ve v. hepatica media olmak üzere 3 adet veni bulunur. Ayrıca minör vena hepatica denilen elliye yakın küçük vena bulunmaktadır.

2.1.2. Karaciğerin Ligamentleri

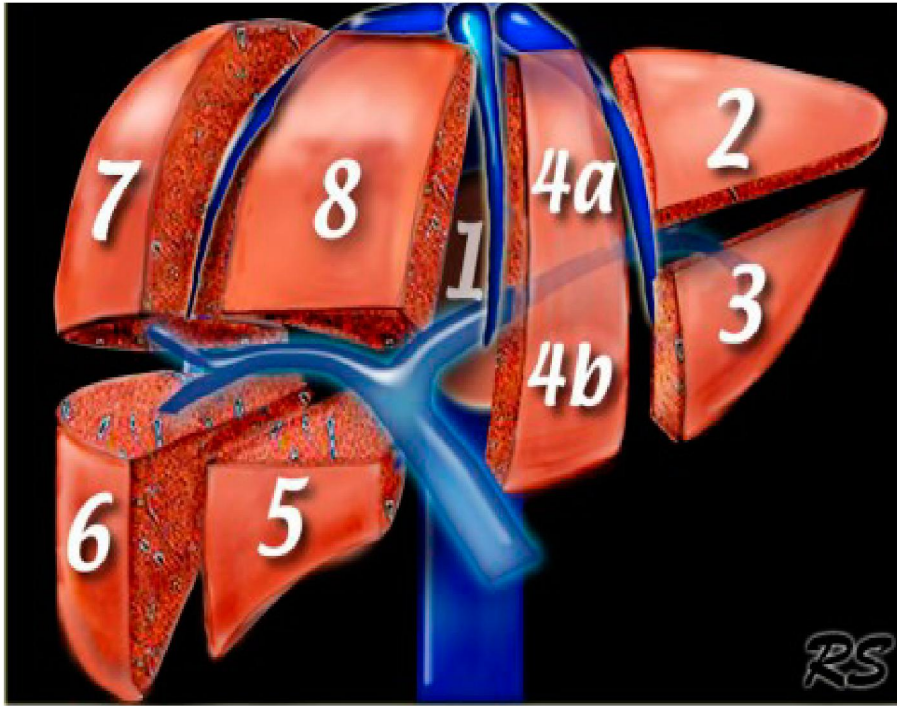
Falsiform ligament karaciğeri karın ön duvarına bağlar. Sağ ve sol koroner ligamentler falsiform ligamentin devamıdır. Karaciğeri diafragmaya bağlarlar. En alt kısmında oblitere sol umbilikal venin oluşturduğu ligamentum teres hepatis yer alır. Hepatoduodenal ligament içinde koledok, hepatic arter ve vena porta bulunur. Önde safra kesesi sol yanından, arkada inferior vena cava sol yanına uzanan çizgiye portal fissür (Cantlie çizgisi) denir. Bu fissür karaciğeri sağ ve sol loblara ayırır. Sol lob falsiform ligament ile medial ve lateral segmentlere ayrılır.⁵⁻¹⁰

2.1.3. Karaciğer Segmental Anatomisi

Karaciğer segment anatomisinin keşfi cerrahisinin gelişmesinde çok önemli bir etmen olmuştur. 1957 yılında Couinaud karaciğerde portal ve hepatic venlerin

dağılımına dayanan bir segmental anatomi tariflemiştir. Pratikte *Couinaud sistemi* karaciğer segmental anatomisinin isimlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.¹¹⁻¹²

Bu sınıflamaya göre karaciğerde 8 adet segment bulunur. Sağ lobda segmentV, VI,VII, VIII ve sol lobda II, III, IV mevcuttur. Kaudat lob ise ayrı bir segment olarak segment I şeklin de isimlendirilir.¹³

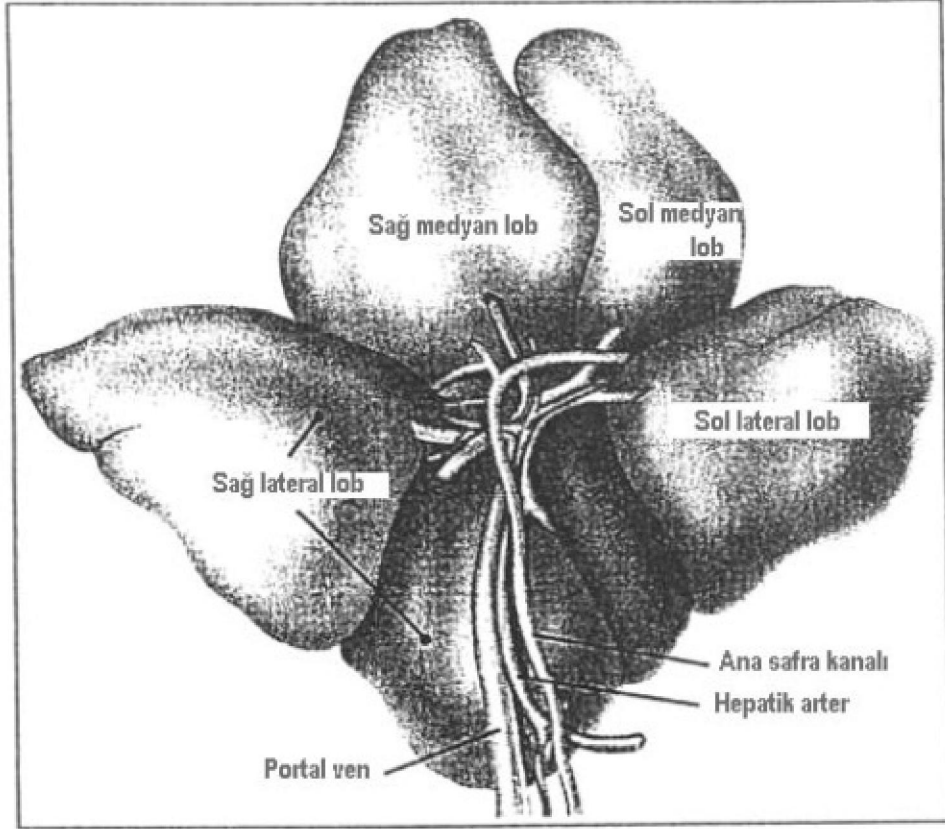


Resim 1. Couinaud segmental anatomisi¹⁷

2.1.4. Rat Karaciğer Anatomisi

Ratlarda karaciğer sert kıvamda koyu kırmızı renkte parankimatöz bir organdır. Karaciğer kapsülü her lobu ayrı ayrı sarmaktadır ve dolayısıyla loblar sadece porta hepatis düzeyinde birleşirler. Portal ven, hepatik arter ve safra kanalları her lob için ayrı olarak porta hepatis düzeyinde dallanırlar. Ratlarda safra kesesi yoktur. Ana safra kanalı (koledok) pankreas üzerinden duodenuma dökülür. Rat karaciğeri dört ana lobdan oluşur. Medyan (sistik) lob, hepatik ligamana ait olan derin bir longitudinal fissür ile sağ ve sol santral segmentlere ayrılır. Sağ santral segmentin hemen arkasında, transfers bir fissür ile süperior ve inferior iki küçük segmente ayrılan sağ lateral lob yer alır. Sol lateral lob ise en büyük lob olup, sol santral

segmentin hemen arkasında bulunur. En derin planda ise anterior ve posterior segmentleri bulunan kaudat lob yer alır.¹⁴



Resim 2. Rat karaciğer anatomisi¹⁹

Deneysel parsiyel hepatektomide Higgins ve arkadaşlarının tanımladığı metoda uygun olarak yüzde altmış hepatektomi yapılmaktadır. Bu metodda medyan ve sol lateral lob beraber eksize edilmektedir. İnfirior vena cava'nın sağ tarafında bulunan segmentler karaciğer ağırlığının yüzde otuzunu, sol tarafında bulunan medyan ve sol lateral lob ise yüzde altmışını teşkil etmektedir.¹⁵

2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve kullanılmak üzere depolandığı bir organdır. Bu nedenle sindirim sistemi ile kan dolaşımı arasında bir geçiş bölgesi oluşturur. İnce bağırsaklardan emilen maddelerin büyük kısmı portal ven yoluyla karaciğere ulaşır, sadece şilomikronlar lenf yoluyla taşınır. Karaciğerin dolaşım sistemindeki konumu, metabolitlerin bir araya getirilmesi, dönüştürülmesi,

biriktirilmesi, toksik maddelerin nötralize ve elimine edilmesi için son derece uygundur. Bu eliminasyon karaciğerin lipit sindirimi için önemli bir ekzokrin sekresyonu olan safra aracılığı ile gerçekleşir.⁹

Karaciğerin temel yapısı olan hepatik lobüller 1833 yılında ilk defa Kiernan tarafından tanımlanmıştır. Kiernan piramit şeklindeki hepatik lobülün ortasından geçen hepatik veni ve etrafındaki portal alanlarda yandaş olarak seyreden hepatik arter, portal ven ve safra kanallarının dallarını demonstre etmiştir. Bu iki vasküler sistem arasında hepatositlerden oluşan kolonlar ve aralarında yer alan sinüzoidler mevcuttur. Elektron mikroskopik çalışmalarda karaciğerin yapısını santral hepatik venülden başlayıp perifere uzanan ve hepatositlerden oluşan kolonlar ve bu kolonlar arasında mevcut olan sinüzoidlerin oluşturduğu gösterilmiştir. Karaciğer dokusunun iki ana damar sistemi hepatik ve portal venlerin dallarından oluşmaktadır ve bu iki sistem arasında hiç bir yerde direkt bağlantı bulunmamaktadır. Portal venüller, terminal dalları içindeki kanı sinüzoidlere boşaltır. Portal ven ile hepatik ven arasındaki basınç farkı, akımın portal venden hepatik venlere doğru devam etmesini sağlar. Rapport adlı araştırmacıya göre karaciğerin fonksiyonel ünitesi ortada portal triad (hepatik arter, portal ven ve safra kanallarının dalları) ve çevresindeki hepatik venlerden oluşan ve hepatik asini adı verilen üçgen şekilli bir lobdur. Asinilerin periferleri yani hepatik venlere komşu kısımları viral, toksik veya anoksik etkenlerden daha çok etkilenmektedirler ve özellikle nekroz öncelikli bu bölgelerde oluşmaktadır. Portal triada yakın alanlar ise daha dayanıklıdır ve hepatik hasardan sonra oluşacak rejenerasyon genelde bu alanlardan başlar. Karaciğerin %60'ını oluşturan asıl fonksiyonel hücreleri olan hepatositler poligonal ve ortalama 30 nm çapındadırlar. Genelde tek ve nadiren multipl çekirdekli olan bu hücreler hayat boyunca mitoz yapma yeteneklerini devam ettirirler. Deney hayvanlarında hepatosit yaşam süresi 150 gündür. Bazal membranı bulunmayan hepatositlerin üç önemli yüzey komşuluğu vardır:

- 1) Sinüzoidler ve Disse aralığı ile,
- 2) Safra kanalikülleri ile,
- 3) Komşu hepatositler ile

Hepatositlerde sitoplazmik membrandan hem safra kanaliküllerinin içine hemde perisinüzoidal alanlara uzanan çok sayıda mikrovilluslar mevcuttur. Bunun sayesinde aktif absorpsiyon ve sekresyon varlığının olduğu düşünülmektedir. Puberteden sonra ve özellikle 20 yaşın üzerinde hepatositlerin çekirdeklerinde poliploidi görülmektedir. Poliploidinin artması prekanseröz bir fenomen olarak kabul edilmektedir. Çekirdeğin çevresindeki sitoplazma ile bağlantısı çok sayıdaki porlar tarafından sağlanır. Granüllü endoplazmik retikulum (GER) özellikle pıhtılaşma faktörleri, albümin ve enzimler gibi spesifik proteinlerin sentez yeridir. GER ayrıca glukojenez ve lipoprotein sentez yeri olup sentezlenen maddelerin salınması için polizomlarla bağlantılıdır. Granülsüz endoplazmik retikulum (GzER) ise bilirubinün konjugasyonu ve detoksifikasyondan sorumludur, kolesterol ve derivelerinin sentezinde burada yapılmaktadır. Lizozomlar hidrolitik enzimlerle dolu veziküller olup muhtemelen hücre içi yaşlanmış organellerin sindiriminden sorumludur. Lizozomların içinde ferritin, lipofusin, bakır ve safra pigmentleri bulunur.¹⁶⁻¹⁷

2.3. Karaciğerin Görevleri

- A) Vücudun metabolik sisteminin büyük bir kısmının koordinasyon ve regülasyonu (metabolik fonksiyon)
- B) Safranın yapılması ve gastrointestinal sisteme ulaştırılması
- C) Kanın depolanması ve filtrasyonu
- A) Karaciğerin Metabolik Fonksiyonları

Karaciğer hücreleri çok yüksek metabolizma hızına sahiptirler. Hepatositler vücudun diğer bölgelerinde kullanılacak birçok molekülün sentezinde, dönüştürülmesinde ve enerji balansının regülasyonunda rol oynayan kritik öneme sahip hücrelerdir.¹⁸

Karbonhidrat Metabolizması

Normal kan glukoz düzeyinin hem kısa (saatlik), hem de uzun (gün veya hafta) periyotlarda devamlılığını sağlamak karaciğerin en önemli görevlerinden birisidir. Karaciğer kana ulaşan fazla miktardaki glukoz ve diğer şekerleri glikojen şeklinde

depolar (glikojenez). Daha sonra glukoz konsantrasyonu düştüğünde glikojeni tekrar glukozla çevirerek dolaşıma verir (glikoliz). Bunun dışında gerekli durumlarda protein ve yağlardan da glukoz sentezleyebilir (glikoneojenez). Bu üç olay sayesinde karaciğer kan glukoz düzeyinin regülasyonunu sağlamakta tampon görevi üstlenmiştir.¹⁸⁻¹⁹

Yağ Metabolizması

Yağ metabolizması vücuttaki bütün hücreler tarafından yürütülse de, bu metabolizmanın bazı işlemleri başlıca karaciğerde yapılmaktadır. Karaciğerin yağ metabolizmasındaki özgün fonksiyonları arasında; diğer vücut fonksiyonları için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu, büyük miktarda kolesterol, fosfolipid ve lipoprotein sentezi ve karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi yer almaktadır.¹⁸

Protein Metabolizması

Karaciğerin önemli fonksiyonlarından birisi aminoasitlerin de aminasyonudur. Deaminasyon aminoasitlerin enerji için kullanımı veya karbonhidrat ve yağa çevrilmesi esnasında önemlidir. Gama-globulinlerin bir bölümü dışında hemen bütün plazma proteinleri (albümin, haptoglobulin, transferrin, seruloplazmin, anti-trombin-3, alfa-1 antitripsin, protrombin, fibrinojen, C-reaktif protein v.s) karaciğer hücrelerinde yapılır. Geriye kalan gama-globulinler ise antikor görevi yapmaktadırlar ve kandaki plazma hücrelerince sentezlenirler. Çalışmalar plazma proteinlerindeki düşüşün karaciğer hücrelerindeki mitozu arttırdığını göstermiştir. Bu ise karaciğer büyüklüğünün artmasına yol açar.²⁰

Amonyaktan üre yapımı da karaciğerde olur böylece organizma toksik bir madde olan amonyaktan korunmuş olur.¹⁸

Vitaminlerin Depolanması

Karaciğerin vitaminleri depo etme özelliği vardır. Karaciğerde en fazla depo edilen A vitamini, D vitamini ve B12 vitamini de büyük oranlarda depo edilebilir.¹⁸

Demir Metabolizması

Hemoglobinde bulunan demir hariç vücuttaki demirin büyük kısmı karaciğerde ferritin olarak depolanır. Karaciğer hücrelerinde demir ile birleşebilen apoferritin adlı protein bol miktarda bulunur. Ferritin-apoferritin sistemi demir deposu işlevi yaptığı gibi kan demirinin tampon işlevini de yürütür.¹⁸

B) Safra Oluşumu ve İtrahı

Birçok madde safra dolayısıyla gayta ile atılmaktadır. Bunlar içerisinde bilirubin çok önemli bir yer tutar. Bilirubin hemoglobinin yıkılması sonucu ortaya çıkar ve bütün hücre membranlarından geçiş yapabilen toksik bir ajandır. Dolayısıyla bilirubinin safra ile atılması karaciğerin en önemli fonksiyonlarından biri olarak gösterilebilir.¹⁸

Sülfonamidler, penisilin ve ampisilin gibi birçok ilaç karaciğerde detoksifiye edilip safra ile vücuttan atılmaktadır. Aynı şekilde iç salgı bezlerinden salgılanan östrojen, kortizol, aldesteron gibi tüm steroid hormonlar ve tiroid hormoları safra ile atılır.¹⁸

C) Karaciğerin Hematolojik Fonksiyonları

Karaciğer embriyolojik yaşamda hematopoetik sistemin temel hücreleri olan miyelositlerin, megakaryositlerin, eritrosit ve eritroblastların üretim yeridir.¹⁸ Doğumdan sonra bu üretim durmaktadır, fakat kemik iliğinin görevini yapamadığı bazı özel durumlarda karaciğer bu görevi tekrar üstlenebilir.¹⁸ Karaciğer sinüzoidlerinin iç yüzeyinde retikülo endoteliyal sistemin (RES) elemanlarından, fagositik özelliği olan Kupffer hücreleri bulunur. Kupffer hücreleri yüksek fagositik kapasiteye sahip olup, portal sistemdeki bakterilerin %99'unu fagosite edebilme yeteneğine sahiptirler. Özellikle portal sistemin zengin kolonik kan taşıdığı gözönünde tutulursa bunun önemi açıkça ortaya çıkar¹⁰. Karaciğer pıhtılaşmada önemli yeri olan faktör II, VII, IX ve X'un üretim yeridir. Bu faktörlerin sentezi K vitaminine bağlıdır.¹⁸

2.4. Karaciğer Rejenerasyonu

Karaciğer, deri ve kemik iliği, iyileşmeleri onarımla değil regenerasyonla olduğu için özel dokulardır. Karaciğerde hasara cevap kök hücrelerden bağımsız olması

nedeniyle farklıdır.²¹ Karaciğerin rejenerasyon potansiyeli antik çağlardan buyana bilinmektedir. Ateşin sırlarını çalmakla suçlanan Prometheus'un, Zeus tarafından cezalandırıldığından ve Zeus'un kartalı tarafından her gün yenilen karaciğerinin ertesi gün yeniden oluştuğundan Yunan mitolojisinde bahsedilmektedir.²²

Karaciğer dokusundaki azalmanın en sık nedeni cerrahi işlemler olup, bunun dışında kitle kaybı olmadan viruslar ve kimyasal ajanlar fonksiyonel kayıplara neden olabilmektedir. Segmental veya lobar rezeksiyonlar insanlarda tümör cerrahisi ya da canlı donörden transplantasyon amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde ise %60'luk karaciğer dokusunun rezeke edildiği parsiyel hepatektomi en sık uygulanan modeldir.²³⁻²⁴

Karaciğer rejenerasyonunu fonksiyonel, hücresel, moleküler ve gen düzeyinde incelemek doğru olur. Fonksiyonel kayba en tipik örnekler kitlede değişiklik olmaksızın hücre ve doku nekrozuna neden olan patolojilerdir. Bunlara örnek olarak akut karaciğer yetmezliği, masif hepatosit nekrozu, toksik ajanlar ve virüsler gibi yaygın hücre ölümüne neden olan etkenler sayılabilir.²⁵⁻²⁶

Karaciğerin kompensatuar hiperplazisi memelilerde bilinen en hızlı doku büyümesidir. Parsiyel rezeksiyon sonrası kalan karaciğer dokusundaki tüm majör hücresel yapılarda hipertrofi ve hiperplazi görülür.²⁷

Gerçekte rejenerasyon terimi biyolojik olarak doğru değildir. Çıkarılan loblar yeniden büyümmez; bunun yerine karaciğer kitlesinin restorasyonu geride kalan loblardaki hücrelerin hiperplazisi ile oluşmaktadır. Bu da hepatik büyümenin fonksiyonelden çok anatomik faktörlerce yönetildiğini düşündürmektedir. Bu fonksiyonel kontrolün doğası ne olursa olsun, kesin bir hakimiyete sahip olduğu açıktır, çünkü karaciğer orijinal ağırlığına ulaştığında büyüme durur. Ek olarak büyüme tekrarlayan parsiyel hepatektomiler sonrası düzensiz veya otonom olmamaktadır. Bu nedenle altta yatan düzenleyici mekanizmalar tam olarak anlaşılmasa da karaciğer büyümeye ne zaman başlayacağını ve ne zaman duracağını bilmektedir.²⁸

Karaciğerde meydana gelen rejenerasyon üzerinde ekstrasellüler faktörlerin etkisi çeşitli çalışmalarla ortaya atılmıştır. Ekstrasellüler faktörlerin etkisini gösteren en az 2 sebep vardır. Bunlardan ilki, hücre bölünmesi basit yara iyileşmesinde olduğu gibi sadece yara kenarı civarında değil tüm karaciğer bölgelerinde görülmektedir. İkincisi ise karaciğer kitlesi önceden mevcut olan miktarına ulaştığında rejenerasyon sona ermektedir.²⁹

Karaciğer rejenerasyonu hepatositlerin, matriks yapıların ve endoteliyumun kombine hipertrofi ve hiperplazisi sonucu ortaya çıkar. Hücrelerdeki mitoz malignitelerdeki gibi hızlıdır, mitotik indeks normale göre 300 kat artış gösterir. Normal erişkinlerde hepatositlerin replikasyonu çok nadirdir, mitozun görülme sıklığı 1/10000-20000 arasındadır. Hepatik hücre kaybına yol açan durumlarda (parsiyel hepatektomi, viral hepatit, toksik reaksiyon v.s) kompensatuar hiperplazi hızla ortaya çıkar ve karaciğer eski büyüklüğüne geldiğinde ise durur.²⁷⁻³⁰

Rejenerasyon olayında göze çarpan iki hücresel özellik olan hiperplazi ve hipertrofi dokunun büyümesine katkıda bulunurlar. Hiperplazi hücrelerin sayısındaki artışı, hipertrofi ise hücrelerin boyutundaki artışı gösterir.²⁷

Araştırmalarda gerekli olan rejeneratif cevap, karaciğer rezeksiyonu, irridasyonu veya toksik destrüksiyonu ile elde edilebilmesine rağmen, son iki metod geride fazla miktarda nekrotik karaciğer dokusu bıraktığından ve inflamatuvar reaksiyona yol açtığından rejeneratif cevabın değerlendirilmesini güçleştirir. Bu nedenle karaciğer rejenerasyonunun incelenmesinde genellikle rezeksiyon modelleri seçilmektedir.²⁷

Normal erişkin rat hepatositi yılda yaklaşık bir mitozluk rejenerasyon hızına sahipken, uyarılarla bu oran çok artış göstermektedir.³¹⁻³²

Weinbren'e göre rejenerasyonun erken fazında tüm hepatosit, çekirdek ve çekirdekçiği boyut olarak iki katına çıkar ve sitoplazması lipit ve diğer inklüzyon maddeleri ile dolar.²⁷

Ratlarda %60 hepatektomiden 24-30 saat sonra mitoz başlar. Mitoz oranı yaklaşık 1/20000'den 3/100'e çıkar. 7-10 günde ağırlığı normal ağırlığına ulaşır.

İnsanda ise bu dönem daha uzun olup, karaciğerin eski boyutlarına ulaşması ortalama 6-8 ay sürer, buna karşın karaciğer fonksiyonlarının büyük bir kısmı 2-3 aylarda düzelir.²⁷⁻³⁰⁻³¹⁻³³

Karaciğerin %10'dan fazla kısmının çıkartılması geride kalan karaciğer dokusunda hücrel proliferasyonu, hipertrofiyi ve sonuçta rejenerasyonu sitümüle eder. Normalin üzerine çıkan mitotik aktivite tüm karaciğerde senkron ve jeneralize bir dağılım gösterir, fakat özellikle periportal alandaki hepatositlerde daha belirgindir.²⁷ Bu rejeneratif cevabın şiddeti, çıkartılan karaciğer dokusunun miktarı ile orantılıdır. Karaciğer en fazla eski boyutuna ulaştığında büyüme durur.³³⁻³⁴

Karaciğer rejenerasyondan ziyade DNA sentezi ve mitozlarla iyileşmektedir. Hepatositler sayı ve boyut olarak artar. Karaciğerde iyileşme olayı hepatositler, endotelyal hücreler, epitelyal hücreler, kupffer hücreleri ve Ito hücrelerinin tamamında proliferasyonla karakterizedir. Hücrel düzeyde proliferasyon aktivitesi ile ilişkili enzimlerde upregülasyon olur. Rezeksiyon sonrası DNA sentezi 10-24. saatte başlar ve 36-48. saatlerde ikinci bir zirve yapar.²⁸⁻³⁵

Hücreler G0 fazından G1, G2 ve S fazlarına doğru hareket eder. G0-G1 geçişi ve G1'den progresyonun sınırlanma noktaları uygun sinyal varlığına bağlı olup sinyal yokluğunda hücreler bu yollardan çıkar. Hücrede bölünme olayı başlayınca G1 fazına progresyon mitojen stimülasyonuna bağlı olup bu gerçekleşince hücre S fazına girer ve replikasyon başlar. Normal hepatositlerin proliferatif indeksleri düşük olup herhangi bir zamanda normal karaciğer hücre kitlesinin temini için apoptoza giden hücrelerin yenilenmeside oldukça yavaş olur.²¹

Hepatositler ilk proliferasyon belirtisi gösteren hücreler olup 24 saat sonra diğer hücre dizilerinde de proliferasyon görülür. Hepatik doku kaybının ardından, hepatosit proliferasyonu 24. saatte, kolanjiositler 48. saatte, Kupffer hücreleri 72. saatte ve sinüzoidal endotelyal hücreler ise 96. saatte zirve yapar.³⁶⁻³⁷⁻³⁸ Hücrel proliferasyon periportal alandan başlayıp perisantral alana doğru yayılır.³⁸

Hücrel karaciğer doku rejenerasyonunun üç fazda gerçekleştiği öngörülmektedir.

1. Başlangıç fazı ile replikasyon kompetansı
2. Proliferasyon fazı; bu fazda hücre popülasyonlarının ekspansiyonu oluşur
3. Terminasyon fazı, hücre büyümesi süprese olur ve rejenerasyon bir set noktasında durdurulur.³⁹

Bu fazların herhangi birinde meydana gelen kusur karaciğerin rejenerasyon yeteneğini önemli ölçüde hasara uğratacaktır.³⁹

Normal hücre siklüsünde ki bu hepatositler içinde aynıdır, G1 fazı Gap1, S fazı DNA sentezi, G2 fazı Gap2 ve M fazı kromozom ve sitoplazmanın ayrıldığı ve G0 fazı ise hücre siklüsünden çıkılan fazdır. Hepatositler genel olarak son diferansiye hücreler olmayıp G0 fazındaki hücreler dahi uygun stimulan olduğunda proliferere olabilmektedir.³⁹Hepatosit büyüme faktörü (HBF) G1 fazındaki hepatositleri etkiler ve hücre siklüsünü S fazına atlatır ve DNA sentezlenir.⁴⁰

Karaciğer rejenerasyonunun çok basamaklı evrelerinde en az iki kritik faz bulunur. Bunlar sessiz hücrelerin hücre siklüsüne geçişi (priming) ve G1 fazındaki kısıtlayıcı noktadan ileriye progresyondur. Bu basamakların farklı kontroller altında olduğu düşünülmektedir. Priming'i tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin- 6 (IL-6) sitokinleri, hücre süklüs progresyonunu ise büyüme faktörleri [HGF ve (transforming büyüme faktörü) TGF] etkilemektedir.⁴¹

İlk fazda sessiz hepatositlerin hücre siklusuna girip replike olmaları için kompetan hale gelmeleri gerekir. Bu hücreler ilk basamak olan priming'den geçer ve bu G0 dan G1'e geçiş anlamı taşır. Sonraki basamakta kompetan hepatositler G1 fazına girer ve hücre siklusu doğrultusunda DNA replikasyonu gerçekleşir.²⁸ Priming fazı hepatektomi sonrası ilk 4 saatte oluşur ve erken genlerin ekspresyonu ile karakterizedir.²⁸⁻⁴² Gecikmiş genler (Bcl xl) ise parsiyel hepatektomi sonrası 4-8 saatte eksprese olurlar.⁴³

Karaciğer rejenerasyonunda çeşitli genler, sitokinler, büyüme faktörleri ve hücrelerin etkili olduğu günümüzde kanıtlanmış bir gerçektir. Ancak rejenerasyon mekanizması ve hücreler ile sitokinler arasındaki ilişki tam olarak anlaşılammıştır.

Karaciğer rejenerasyonu ile sonuçlanan bir dizi evre kümesi ile rejenere karaciğerin boyutunu kontrol eden bir kısım inhibitörlerin olduğu görüşü hakimdir. HGF, TGF, epidermal büyüme faktörü (EGF), TNF-alfa, IL-1 ve IL-6 hepatik hasar ve parsiyel hepatektomi sonrası temel büyüme ve promotör faktörler olup bir dizi kompleks reaksiyon sonucu nükleer faktör-k β (NF- k β), sinyal transdüksiyon ve transkripsiyon-3 aktivatörü gibi transkripsiyon faktörlerini aktive edip karaciğer rejenerasyonu sağlayan özel genleri etkilemektedir. TNF- α proinflamatuvar bir sitokin olup parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer ölümünü etkili yollara bağımlı olarak tetikler. İki farklı reseptörü vardır; TNFR-1 ve 2. TNFR-1 karaciğer rejenerasyonu için gerekli olan reseptör olup stimülasyon sonrası NF-k β ve STAT3'ü aktive eder. TNF- α çeşitli hücre tiplerinde TNFR-1 ve 2'ye bağlanarak hücre ölüm mediyatörü olarak da işlev görmektedir. NF-k β aktivasyonunun inhibisyonu TNF- α bağımlı hücre ölümüne yatkınlığı artırır.⁴⁴⁻⁴⁵

NF-k β dimerik bir transkripsiyon faktörü olup büyüme faktör stimülasyonu sonrası indüklenir ve sitokinleri kodlayan gen ekspresyonunu kontrol eder. Hücre siklusunu regüle eder ve karaciğer rejenerasyonu sırasında apoptoz antagonizmi açısından vazgeçilmezdir. Örneğin p50 subgrubunun TNF- α ekspresyonunu sınırlayarak hasarlanmış karaciğerde kesin koruyucu etkisi gösterilmiştir. Ayrıca NF-k β inhibisyonunun TNF- α ile indüklenen apoptozu artırdığı görülmüştür. Karaciğer rejenerasyonu sırasında NF-k β aktivasyonu parsiyel hepatektomi sonrası ilk birkaç dakikada belirir ve 1-2 saat içinde tekrar ortadan kaybolur. Rejenere olan karaciğer dokusunda NF-k β aktivasyonu karaciğer hücrelerinde meydana gelirken non parankimal hücreler olan endotelial hücreler ve Kupffer hücrelerinde de gelişebilir.

Yakın dönemdeki çalışmalar akut veya kronik karaciğer hastalığında hepatosit hücre ölümünde sitokilerin önemli modülatörler olduğuna dikkat çekmiştir. Hücre yüzey reseptörleri ile etkileşerek özel hücre içi yolları aktive edip hücrenin daha sonra izleyeceği yolu etkilemektedirler. Örneğin TNF- α kaspaz kaskadı yoluyla proapoptotik sinyalleri tetiklemekle kalmayıp, NF-k β gibi hücre içi sağkalım yollarını da aktive eder.⁴⁶ NF-k β bir hücre içi sağkalım yolağı olup proapoptotik kaspaz kaskadına paralel olarak aktive olur. NF- k β , DNA bağlayan proteinlerden Rel ailesinin üyesidir. İnsan ve hayvan modelleri TNF ve Fas ligandı gibi ölüm

reseptör ligandlarının apopitozun indüklenmesi ve karaciğer yıkımının tetiklenmesi gibi olaylarda önemli olduğunu kuvvetle desteklemektedir.⁴⁷ TNF ilk olarak fare tümöründe hemorajik nekroza yol açma kapasitesiyle tanınmıştır.⁴⁸ Ancak şiddetli yan etki potansiyeli sistemik antikanser kemoterapötöğü olarak kullanımını kısıtlamıştır.⁴⁹⁻⁵⁰

Önde gelen etkilerinden biri insan hepatositine direk sitotoksik etki göstermesi olup serum aminotansferaz ve bilirubin düzeylerinde artışa yol açmıştır. Bunun ardından birçok çalışma TNF'nün fulminan karaciğer yetmezliğindeki önemli rolünün altını çizmiştir. TNF, içinde iskemi-reperfüzyon hasarı, alkolik-viral hepatit ve hepatotoksik hasar bulunan pek çok hepatik patolojiye katılır.⁵¹⁻⁵² Eksojen TNF fulminan karaciğer yetmezliğini indükleyip diğer toksinlerle birlikte hepatosit apopitozuna neden olur.⁵² Fulminan karaciğer yetmezlikli hastaların serum TNF düzeyleri belirgin olarak yüksek bulunmuştur.⁵³ Bunun da ötesinde fulminan karaciğer yetmezlikli hastalarda apopitotik hepatositler anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ve TNF- α ekspresyonu ile kuvvetli bir korelasyon saptanmıştır.⁵⁴

TNF programlı hücre ölümünü kaspazları aktive ederek kolaylaştırır. Kaspaz aktivasyonunun ardından TNF'nün reseptörüne ligand bağlanması NF- κ B yolağında aktivasyonuna neden olur. NF- κ B'nin karaciğerdeki antiapopitotik fonksiyonu ile ilgili sayısız çalışma mevcuttur. NF- κ B karaciğerde ölüm reseptörlerinin indüklediği apopitoz bağlamında sağkalım sinyalleri sağlar. Bu olayın çeşitli apopitotik supresörlerin transkripsiyonel indüksiyonunu kapsadığı düşünülmektedir.⁵⁵ NF- κ B yolağının hepatositlerde apopitozu engellediğine dair gelişmiş kanıtlar genetik deneylerden elde edilmiştir. NF- κ B'nin p65 alt grubuna sahip olmayan farelerin post coitum 15-16. günlerde fetal hepatosit apopitozu sonucu öldüğü gösterilmiştir.⁵⁶

Bunun nedeni TNF'ye karşı duyarlılığın artmasıdır.⁵⁷

2.5. SİLOSTAZOL

Klinik olarak ağrısız yürüme mesafesinin artışı ile de görüldüğü gibi aralıklı klodikasyon semptomlarının tedavisinde, kronik arteriyel oklüzyonda ülserasyon, ağrı

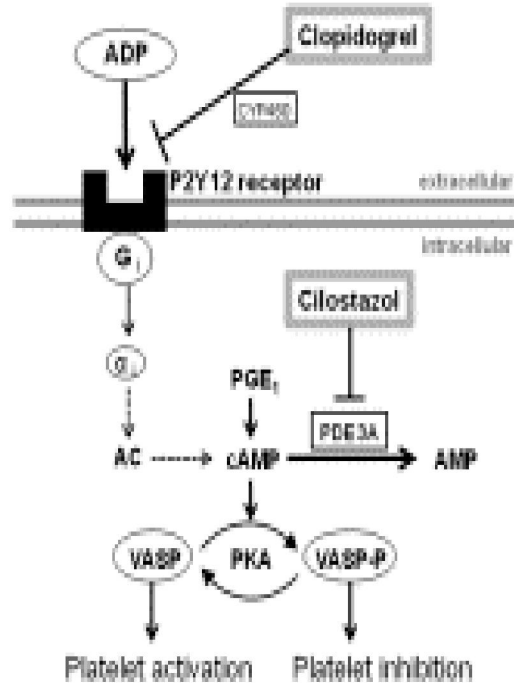
ve ekstremitelerde soğukluk dahil iskemik semptomların tedavisinde, diğer geleneksel ilaçların yetersiz kaldığı veya kullanılamayacağı tekrarlayan serebral inmede kullanılan fosfodiesteraz III inhibitörü bir ajandır.

Silostazol ve metabolitlerinden bazıları, siklik adenozin monofosfat (cAMP) bozunmasını baskılayarak trombositler ve kan damarları dahil çeşitli dokulardaki cAMP düzeyinin artmasına neden olan fosfodiesteraz III (PDE III) inhibitörleridir. Bu mekanizma çeşitli uyarılar yoluyla trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve vazodilatasyona yol açar. Silostazol'un farklı vasküler yataklarda homojen olmayan bir vazodilatatör etkisi vardır.

Silostazol oral yoldan alımı takiben gastrointestinal sistemden emilir. Yağlı yiyecekler emilimi artırır: doruk plazma konsantrasyonu (Cmaks) yaklaşık %90, eğri altındaki alan (EAA) ise yaklaşık %25 artar. Mutlak biyoyararlılığı bilinmemektedir. Silostazol başta 3A4 olmak üzere karaciğer sitokrom P450 enzimlerince metabolize edilir. Metabolitler daha çok idrar yoluyla vücuttan atılır. İki metaboliti aktiftir: 3,4-dehidro-silostazol ve 4'-trans-hidroksi-silostazol. Farmakokinetikleri dozla orantılı olarak değişir. Silostazol ve aktif metabolitlerinin eliminasyon yarı ömürleri 11 ile 13 saat civarındadır. Silostazol ve aktif metabolitleri kronik kullanımda 2 kata kadar birikebilir ve birkaç günde kararlı kan konsantrasyonuna ulaşır. Silostazol ve iki majör aktif metabolitinin farmakokinetikleri, sağlıklı normal kişilerde ve periferik arter hastalığına bağlı intermitant klodikasyonlu hastalarda benzer bulunmuştur.

Silostazol ağırlıklı albumin olmak üzere %95 ile %98 civarında proteine bağlanır. 3,4 dehidro-silostazol ortalama %97.4, diğer aktif metabolit 4'-trans-hidroksi-silostazol ise ortalama %53.7 oranında proteine bağlanır. Hafif karaciğer bozukluğu proteine bağlanmayı etkilememiştir.

Silostazolün oral LD50 dozu fare ve sıçanlarda >5g/kg, köpeklerde ise >2g/kg'dır.³



Şekil 1. Silostazol'un Hücre İçi Etki Mekanizması

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp ve Hayvan Laboratuvarında, çalışma ile ilgili 25/04/2012 tarih ve B.30.2.Z.K.Ü.0.20.00.00/33 sayılı izni ile yapıldı. Çalışmada, ağırlıkları 200-270 gram arasında değişen (ortalama ağırlığı: 231gr), 20 haftalık, 36 adet Wistar türü albino rat kullanıldı. Hem preoperatif, hem de postoperatif dönemde hayvanlara standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu verildi.

3.1. Gruplar

Ratlar rastgele seçilen ve herbiri 10 ratdan oluşan 1-2-3-4 şeklinde isimlendirilen dört gruba ayrıldı. Deney esnasında ve sonrasında ratlarda her grupta bir adet rat ölmüştür.

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1. Grup: %60 hepatektomi yapılan silostazol verilmeyen 4.günde sakrifiye edilen ratlar2. Grup:%60 hepatektomi yapılan silostazol verilmeyen 7.günde sakrifiye edilen ratlar |
| <ol style="list-style-type: none">3. Grup: %60 hepatektomi yapılan silostazol verilen 4.günde sakrifiye edilen ratlar4. Grup:%60 hepatektomi yapılan silostazol verilen 7.günde sakrifiye edilen ratlar |

3.2. Operatif Prosedür

Ameliyatlar gruplar halinde ve diurnal değişikliklerin sonuca yansımısını standardize edebilmek için sabah saat 9 ve 12 arasında yapıldı. Ratlarda anestezi, 90mg/kg ketamin (Ketalar® 50 mg Flakon, Eczacıbaşı, İstanbul) dozu ile sağlandı ve kiloları tartılarak kaydedildi. Karın cildindeki tüyler traş edildikten sonra povidoniyodür (Batticon® 100 ml solüsyon, Adeka) solüsyonu ile temizlendi (Resim 3).

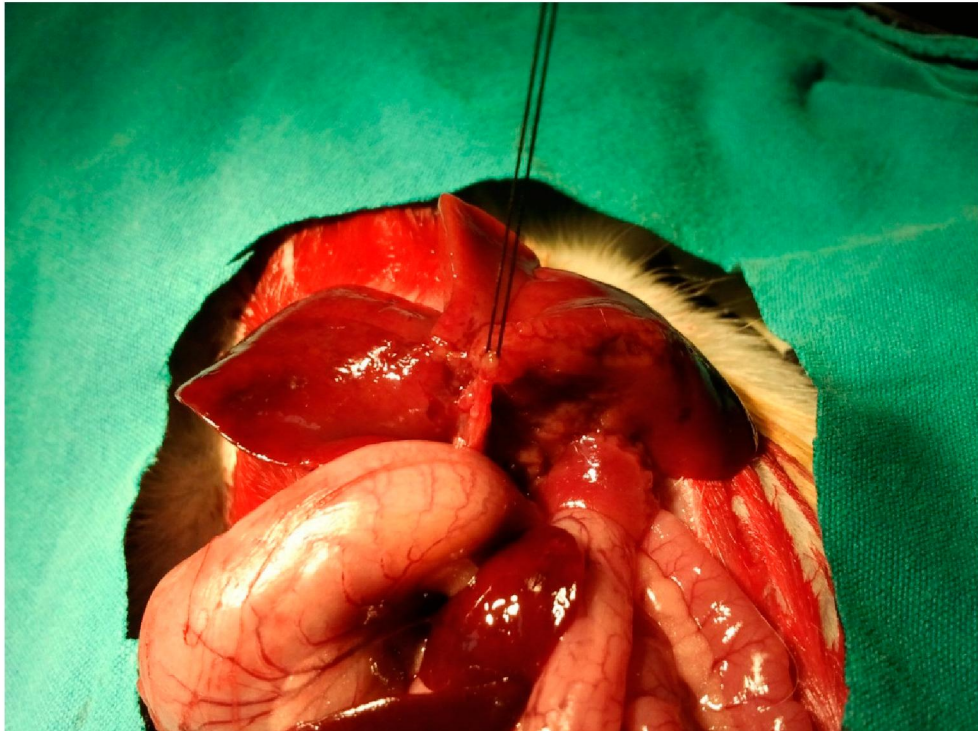
Medyan insizyonla batına girildi. Higgins ve Anderson'un standart %60'lık hepatektomi tekniği ile karaciğer sol ve medyan lobları ortaya konuldu (Resim 4). Önce sol lob pedikülü 4-0 ipek sütün (Ethicon® Silk Suture 4-0, Johnson&JohnsonJNTL, Brussels, Belgium) ile bağlanarak rezeke edildi ve sonrasında medyan lob pedikülü 4-0 ipek sütün ile bağlanarak rezeke edildi (Resim 5). Çıkarılan parsiyel hepatektomi spesmenleri tartılarak kaydedildi. Tüm ratlarda geriye karaciğer sağlob ve kaudat lob bırakıldı. Karın 3-0 atravmatik prolen sütün ile tek kat halinde devamlı dikişler ile kapatıldı ve povidon iyodür ile temizlendi.



Resim 3. Ratların traş edildikten sonra povidon iyot ile temizlik sonrasında örtülmesi ve batına giriş insizyonu



Resim 4. Sol lobun vasküler pedikülünün askıya alınması.



Resim 5. Sol lobun vasküler pedikülünün bağlanması.

3. ve 4. Grubtaki(deney grupları), ratlara preop 5gün ve post op 4 (3.grup) ve 7 (4.grup) gün süreyle 10 mg /kg silostazol (Abdi İbrahim İlaç) NG den oral yolla verildi. Tüm ameliyatlar steril şartlarda gerçekleştirildi. 1.ve 3.Grup operasyondan sonra 4.günde, 2. ve 4.grup 7.günde sakrifiye edildi. Sakrifikasyon intra kardiyak kan alma yöntemi ile gerçekleştirildi. Sakrifikasyon esnasında ratlara laparotomi ve torakotomi işlemleri uygulandı. Karaciğer dokusu tümüyle çıkartılarak tartıldı, sonrasında histopatolojik inceleme ve doku enzim tespiti için %10'luk formaldehit içerisine konularak işlem zamanına kadar korundu.

3.3. Parametreler

3.3.1. Biyokimyasal parametreler

Karaciğer fonksiyon testleri:

Ratlardan jelli biyokimya tüpüne alınan kanlar 5 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar aspartat amino transferaz (AST), ve alanin aminotransferaz (ALT) çalışılmak üzere -80 C°'de çalışma gününe dek saklandı. Ölçümler BioSystems Reagents and Instruments (Spain)'a ait AST, ALT kitleri ile Shimadzu SPD-20AV UV dedektör kullanılarak yapıldı. AST ve ALT, NADH'daki azalmanın 340 nm'de spektrofotometrik enzimatik ölçümü ile U/L olarak hesaplandı.

3.3.2.Doku enzimleri

Miyeloperoksidaz Tayini

Bu metodun prensibi H₂O₂'in homojenattaki MPO tarafından oksitlenirken reaksiyon karışımında bulunan o-dianisidin redüklenmesi ve redükte o-dianisidinin 410 nm dalga boyundaki ışığı absorplaması esasına dayanır. 100 mg karaciğer dokusu 1 ml soğuk 20mM potasyum fosfat tamponu (KPO₄) (pH: 7.4) ile yaklaşık 1 dakika homojenize edildi. Homojenatlar 13 000 rpm'de 30 dakika +4 °C'de santrifüj edildi. Süpernatant atılıp pellet % 0.5 heksaadesil trimetilamonyum bromid (HETAP) içeren 1 ml 50 mM KPO₄ tamponu (pH: 6.0) ile çözülüp 20 sn sonike edildi. Bu numuneler 60°C'de 2 saat inkübe edilip, 13 000 rpm'de 30 dakika +4 °C'de santrifüj edildi.

Süpernatanda myeloperoksidaz aktivitesi tayin edildi. Daha sonra numuneler 37°C’de 30 dakika su banyosunda bekletildi. Sonra her bir tüpe 200µl 3 M’lık HCl asit eklenerek 410 nm’de okundu. Sonuçlar Ü/ gr doku olarak verilir.⁵⁸

Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini:

Karaciğer dokuları 1/10 oranında 20 mM KPO₄ içinde (pH: 7.4) homojenize edildi. Homojenat 13000 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant, kloroform/etanol karışımı (3/5) ile 1/1 (v/v) oranında karıştırıldı. 13000 rpm’de +4 °C’de bir saat santrifüj edildi. Süpernatanda enzim aktivitesi ve protein tayini yapıldı (REF). % 50 inhibisyonun 1Ü aktivite sağladığı düşünülerek enzim aktivitesi hesaplandı. SOD enzim aktivitesi protein miktarlarına bölünerek sonuçlar Ü/mg protein olarak verildi.⁵⁹

AOPP Düzeylerinin Tayini:

AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve ark.nın (1996) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür.Karaciğer dokuları 1/10 oranında 20 mM KPO₄ içinde (pH: 7.4) homojenize edildi. 13000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi. Dokular fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilüe edildi. Dilüe numunelerin üzerine 10 µl KI ve 20µl asetik asit eklenerek vortekslendi ve 340 nm absorbansta PBS’ye karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0 – 100 µM Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak µmol /L olarak verildi.⁶⁰

Protein Tayini:

Lowry metoduna (Ref 1) göre süpernatanda protein tayinleri yapıldı. Süpernatantlar 1/5 oranında dilüe edilerek üzerlerine 2 mL reaktif karışımı (0.5 mL % 2’lik Na₂CO₃ içinde 0.1 N’lik NaOH,0.5 mL %2’lik Na-K tartarat,16.5 mL %1’lik CuSO₄) eklendi. Deney tüpleri karıştırıldıktan sonra, 15 dakika bekletildi. Daha sonra deney tüplerine 200 µl Folinicalteu’s fenol eklenerek iyice karıştırıldı ve 1 saat karanlıkta bekletildi. Kör tüpleride süpernatantlar gibi çalışıldı ancak numune yerine distile su konuldu. Tüpler 750 nm’de köre karşı okundu. Sonuçlar standart eğri üzerinde hesaplanarak mg/mL olarak verildi.⁶¹

Total Sülfidril içeriği:

Dokular PBS'de homojenize edildi ve 10000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 1:1 oranında %6 oranındaki SDS ile karıştırıldı. 200 µl 0.25 M Tris-HCl, 25 µl süpernatant ve 10 µl DTNB eklenerek 15 dakika inkübe edilerek, 412 nm'de süpernatansız köre karşı spektrofotometrik okuma yapıldı. 0-450 µM glutatyon (GSH) numune gibi çalışıldı. Total sülfidril içeriği GSH eğrisi üzerinden hesaplanarak µmol/mg protein.⁶²

3.3.3. Morfolojik parametreler

Rölatif karaciğer ağırlığı

Tüm karaciğer ağırlığından rezeke edilen karaciğer ağırlığı çıkartıldı. Bulunan değer sakrifikasyondaki karaciğer ağırlığından çıkartılarak, tüm karaciğer ağırlığına bölündü ve elde edilen değer 100 ile çarpılarak karaciğer rejenerasyon oranı bulundu.⁶³Tüm karaciğer ağırlığı rat ağırlığının %3.4'ü kabul edildi ve sonuçlar persentil şeklinde ifade edildi.

RKA (Rölatif Karaciğer Ağırlığı) =

Otopsideki karaciğer ağırlığı - (tüm karaciğer ağırlığı - rezeke edilen karaciğer ağırlığı) x 100 Tüm karaciğer ağırlığı

3.3.4. Histopatolojik parametreler

1. *Mitoz indeksi (MI):* %10'luk formaldehit içerisinde saklanan karaciğer dokusundan elde edilen parafin bloklardan hazırlanan hematoksilen eozin(H&E) ile boyalı kesitlerde incelendi. Mitozun en fazla olduğu 30 sahada ki mitotik hepatositlerin ve total hepatositlerin sayısı bulundu ve her 1000 hücreye oranı şeklinde ifade edildi.⁶⁵

2. *Çift çekirdekli hücreler:* Rejenerasyon göstermeyen normal karaciğer hücrelerinde oldukça seyrek izlenen çift çekirdek ve hiperkromatik iri çekirdeğe sahip hücre formasyonu, normal şartlar altında rejenerasyon gösteren karaciğer

hücrelerinde belirgin olarak gözlenir. %10'luk formaldehit içerisinde saklanan karaciğer dokusundan elde edilen parafin bloklardan hazırlanan hematoksilen eozin (H&E) ile boyalı kesitlerde incelendi. Çift çekirdekli hücrelerin en fazla olduğu 30 sahadaki çift çekirdekli hepatositlerin ve total hepatositlerin sayısı bulundu ve her 1000 hücreye oranı şeklinde ifade edildi.

3. *Prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA) ile işaretlenme oranı:* PCNA evrim sürecinde rol oynayan 36 kDa ağırlığında bir moleküldür. PCNA, DNA polimeraz enzimi için bir kofaktör olmasının yanı sıra DNA sentez ve tamiri sırasında önemli rol oynar.⁶⁶⁻⁶⁷ PCNA çok uzun yarı ömre sahip proteinler içerir. Ultraviyole ışınlarının deride PCNA yapımını artırabilecekleri gösterilmiştir.⁶⁸ PCNA'nın hücre büyümesi, yenilenmesi ve tamiri sürecinde rol oynadığı son çalışmalar ışığında gösterilmiştir. %10'luk formaldehit içerisinde saklanan karaciğer dokusu parafine gömüldükten sonra spesimenlerden 5 µm kalınlığında kesitler alınarak PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) kiti ile immünohistokimyasal inceleme yapıldı. 30 büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı bulundu ve 1000 hücreye oranı şeklinde ifade edildi.⁶⁹

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlanmadığı için Mann-Whitney U testi kullanıldı ve p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Regenerasyon Parametreleri Median Değerleri

ALT, AST değerlerinin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Grupların karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer rölatif ağırlığı açısından median (min-max) oranları aşağıda tablolar ile gösterilmiştir (Tablo 1, 2).

Tablo 1. Grupların karaciğer fonksiyon testleri Median(min-max) değerleri.

GRUP	1	2	3	4
Alt (U/L)	46 (30-111)	33 (28-63)	63 (31-93)	59 (30-91)
Ast (U/L)	174 (116-291)	111 (86-168)	167 (103-356)	151 (112-247)

Tablo 2. Grupların karaciğer rölatif ağırlığının Median(min-max) değerleri.

	Grup 1 n=9	Grup 2 n=9	Grup 3 n=9	Grup 4 n=9
KRA	36,35 (11,15-55,56)	44,14 (23,92-17,78)	41,40 (20,52-51,92)	51,96 (31,41-86,12)

Tablo 3.Grupların doku enzimleri'nin Median (min-max) değerleri.

GRUP	1	2	3	4
SOD(Ü/mg)	113,16 (101,19-134,88)	129,16 (119,83-119,83)	146,16 (142,22 - 159,22)	107,98 (67,55-211,00)
MPO(Ü/ gr)	0,20 (0, 17-0, 33)	0,22 (0, 19-0, 29)	0,24 (0,17-0,30)	0,13 (0,10-0,23)
AOPP(µmol /L)	364,74 (235,12-948,98)	603,77 (224,23-967,06)	248,21 (205,82-631,80)	164,03 (75,89-273,19)
GSH(µmol/mg)	298,76 (211,58-375,37)	328,11 (118,74-386,83)	343,50 (221,26-397,68)	237,93 (176,39-494,82)

Tablo 4. Grupların histopatolojik parametreler açısından ortalama değerleri.

GRUP	1	2	3	4
Mitoz (%)	3 (2-5)	12 (6-16)	5 (2-8)	19 (11-27)
Çift çekirdek (%)	15 (8-21)	18 (12-26)	17 (9-22)	27 (18-32)
Pcna (%)	15 (10-21)	26 (19-32)	21 (16-28)	39 (28-45)

Tablo 5. Silostazol uygulanan ve uygulanmayan grupların karaciğer fonksiyon testleri, KRA , doku enzimleri ve histopatolojik parametreler açısından karşılaştırılmalı sonuçları

	GRUP 1-3	GRUP 1-2	GRUP 3-4	GRUP 2-4
SOD	0,001	0,002*	0,024*	0,136
MPO	0,863	0,666	0,003*	0,001
AOPP	0,040	0,666	0,011*	0,001
GSH	0,161	0,605	0,031*	0,063
MİTOZ	0,063	< 0,001*	< 0,001*	0,004
ÇİFT ÇEKİRDEK	0,297	0,094	0,001*	0,011
PCNA	0,006	< 0,001*	< 0,001*	0,001
ALT	0,113	0,161	0,489	0,014
AST	0,796	0,019	0,863	0,120
KRA	0,297	0,161	0,113	0,436

* Anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ alınmıştır.

Grup içi ve gruplar arası yapılan karşılaştırma sonucunda

4.2. Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analiz sonrası yapılan hesaplamalar sonucunda:

Silostazol uygulanan ve uygulanmayan grupların karşılaştırılmasında ALT bakımından grup 2-4 arasında anlamlı fark tespit edildi. Silostazol uygulanan grubun alt değeri daha yüksekti ($p < 0.05$) (Tablo 5). Grup 1-3 arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$) (Tablo 5). AST bakımından yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 5). Bu veriler silostazol uygulamasının karaciğer fonksiyon testlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yaratmadığını göstermiştir.

Grup içi yapılan karşılaştırmada ise AST bakımından gruplar arasında sadece grup 1-2 arasında anlamlı değişiklik bulundu ($p<0.05$) (Tablo 5). 7.gün ast değerinin ortalamasının 4.gruptan anlamlı yüksek olduğu görüldü (Tablo 5). Silostazol uygulanan gruplar arası yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5). ALT değerlerinin hesaplamasında her iki grubun karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 5).

4.3. Karaciğer Rölatif Ağırlığı

Karaciğer rölatif ağırlığı bakımından silostazol uygulanan ve uygulanmayan gruplar arası yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5) (Şekil 4). Grup içi yapılan karşılaştırmalarda da yine anlamlı fark gösterilemedi ($p>0,05$) (Tablo 5).

4.4. Histopatolojik inceleme

Gruplar mitoz indeksi açısından karşılaştırıldığında 4.gün Silostazol verilen ve verilmeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$) (Tablo 5). 7.günde ise anlamlı fark tespit edildi ($p=0,004$) (Tablo 5) (Şekil 1) (Resim 1-2). 7.günde Silostazol verilen grupta mitoz indeksi anlamlı yüksek bulundu. Grup içi karşılaştırmalarda ise silostazol uygulanmayan Grup 1-2 arasında 2 lehine anlamlı fark bulundu ($p<0,001.$) (Tablo 5). 7.günde mitoz indeksi anlamlı yüksekti (Tablo 5). Deney gruplarında 4 lehine anlamlı fark görüldü ($p<0,001$) (Tablo 5). 7.gün Silostazol uygulanan grupta 4.güne göre mitoz indeksi anlamlı yüksek tespit edildi (Tablo 5). Bu sonuçlarla Silostazol uygulamasının mitoz indexini olumlu yönde etkilediği görüldü.

Çift çekirdek açısından karşılaştırıldığında 4.gün Silostazol verilen ve verilmeyen Grup 1-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.297$) (Tablo 5). Grup 2-4 arasında çift çekirdek sayısı 4 lehine anlamlı yüksek bulundu ($p=0,011$) (Tablo 5) (Şekil 2) (Resim 3-4). 7.günde silostazol uygulamasının çift

çekirdek sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu gözlemlendi. Grup içi karşılaştırmalarda deney grubunda 7.gün lehine anlamlı fark bulundu ($P=0,094$) (Tablo 5). 7.günde çift çekirdek sayısı 4.güne göre anlamlı yüksekti. İlaç uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p=0,094$) (Tablo 5). Mevcut sonuçlarla silostazol uygulamasının çift çekirdek sayısında artırdığı gözlemlendi.

PCNA oranı açısından yapılan ikili karşılaştırmalarda gruplar arasında 4.günde silostazol uygulanan grup 3 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p=0.006$) (Tablo 5) (Şekil 3) (Resim 5-6). 4.gün silostazol uygulanan grubun PCNA oranı uygulanmayan gruptan daha yüksekti. 7.günde isesilostazol uygulanan grup lehine anlamlı fazla bulundu ($p<0,001$) (Tablo 5). Grup içi karşılaştırmalarda ilaç uygulanmayan gruplardaki oran grup 2 lehine istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$) (Tablo 5). 7.gün ilaç uygulanmayan grubun PcnA oranı 4.gün ilaç uygulanmayan gruptan yüksekti. Silostazol uygulanan gruplar arasında ise 4 lehine anlamlı fark görüldü ($<0,001$) (Tablo 5). 7. gün ilaç uygulamasının 4 gün ilaç uygulamasından pcna oranını daha fazla artırdığı görüldü.

4.5. Doku Enzim Düzeyi

Doku enzim düzeyleri açısından gruplar arası karşılaştırmada 4.gün ilaç uygulanan ve uygulanmayan grupların SOD yönünden değerlendirilmesinde grup 3 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,001$) (Tablo 5). 4.gün ilaç uygulanan grubun SOD düzeyi uygulanmayandan yüksek bulundu.

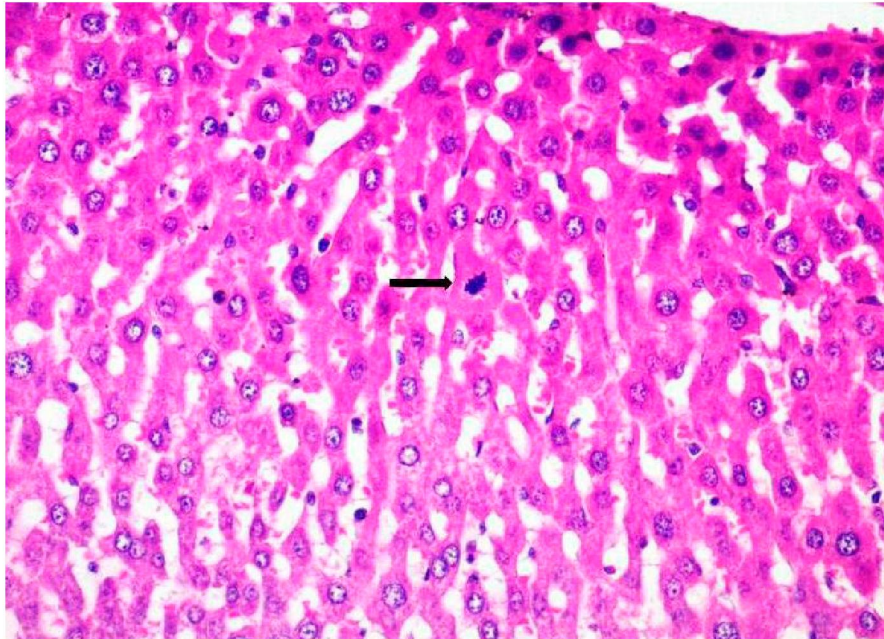
MPO da grup 1 ve grup3 arasında anlamlı fark görülmedi ($p=0,863$) (Tablo 5). AOPP de grup 1 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,040$) (Tablo 5). Silostazol uygulanmayan grupta AOPP düzeyi anlamlı yüksekti. GSH da iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi ($p=0,102$) (Tablo 5).

Gruplar arası karşılaştırmaların 7.gününde yapılan değerlendirmede ise SOD açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,136$) (Tablo 5). MPO açısından grup 2 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<,001$) (Tablo 5). 7.gün ilaç verilmeyen grubun MPO ortalaması ilaç verilenden anlamlı olarak

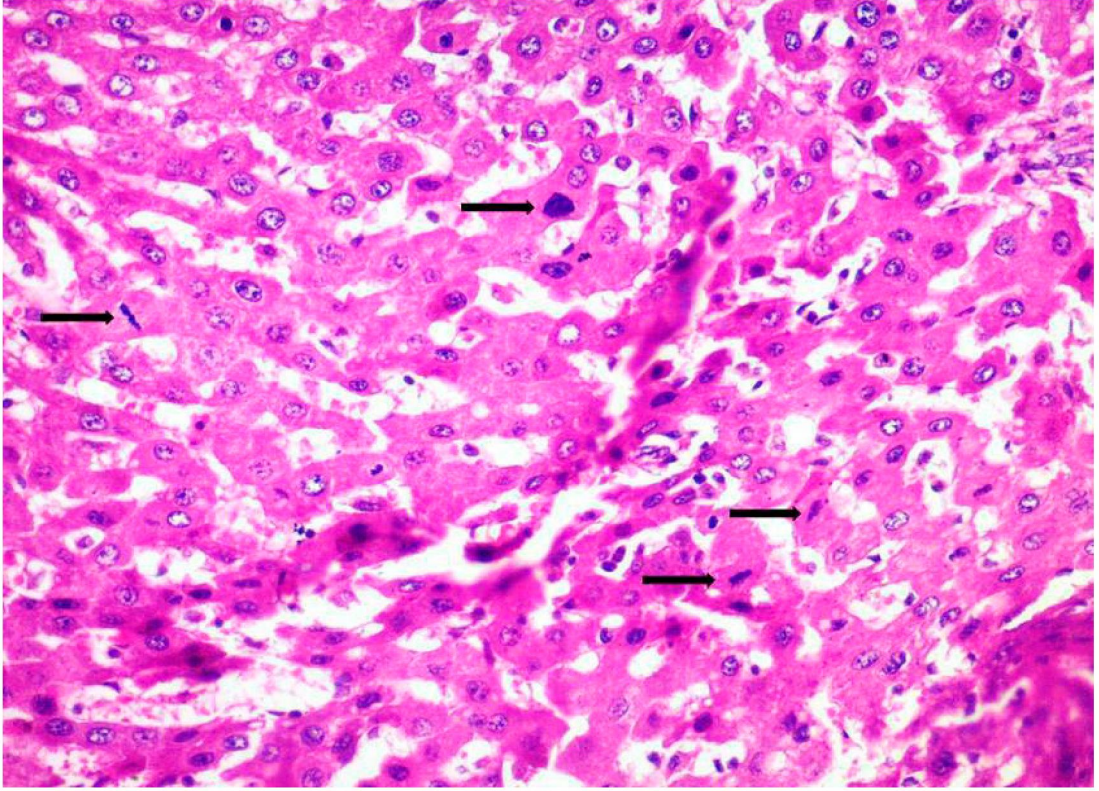
fazla bulundu. AOPP açısından da grup 2 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,001$) (Tablo 5). İlaç verilmeyen grupta yine AOPP düzeyi yüksekti. GSH da anlamlı fark görülmedi ($p = 0,063$) (Tablo 5).

Gruplar içi yapılan değerlendirilmede grup 1 ile grup 2'nin karşılaştırmasında SOD açısından 2 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p = 0,002$) (Tablo 5). 7.gün ilaç verilmeyen grupta 4.gün ilaç verilmeyene göre SOD düzeyi ortalaması anlamlı daha fazla bulundu. MPO açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p = 0,666$) (Tablo 5). AOPP açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p = 0,666$) (Tablo 5). GSH açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p = 0,605$) (Tablo 5).

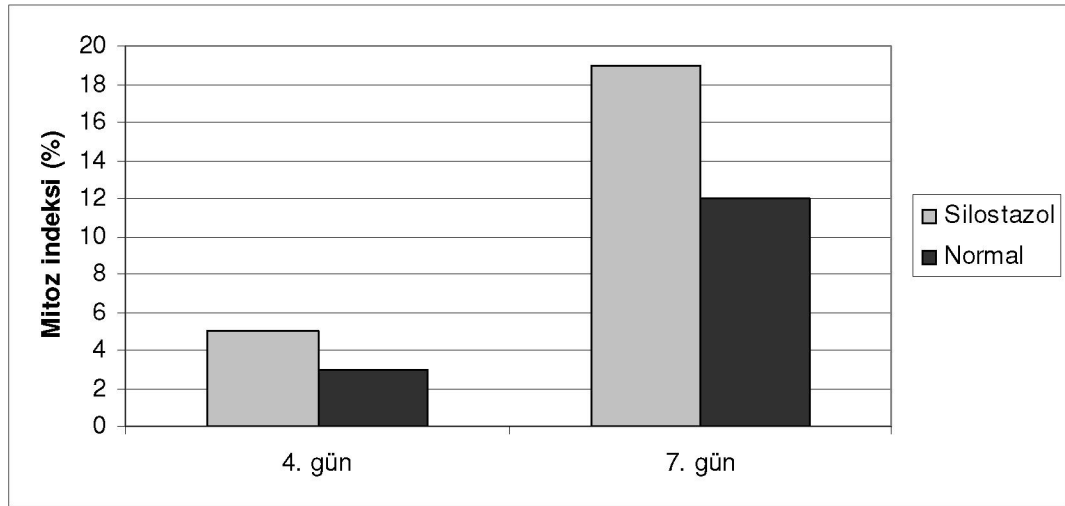
Diğer grup içi değerlendirilmede Grup 3 ile grup 4'ün karşılaştırılmasında SOD yönünden grup 3 lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p = 0,024$) (tablo 5). 4.günde SOD düzeyi daha fazla bulundu. MPO da 3 lehine anlamlı fark görüldü ($p = 0,003$) (Tablo 5). Yine 4.günde MPO düzeyi anlamlı büyük bulundu. AOPP de 3 lehine anlamlı fark görüldü ($p = 0,011$) (Tablo 5). Grup 3'ün AOPP düzeyi ortalaması anlamlı daha fazlaydı. GSH'de 3 lehine anlamlı fark görüldü ($p = 0,011$) (Tablo 5). 4.günde GSH düzeyi fazlaydı.



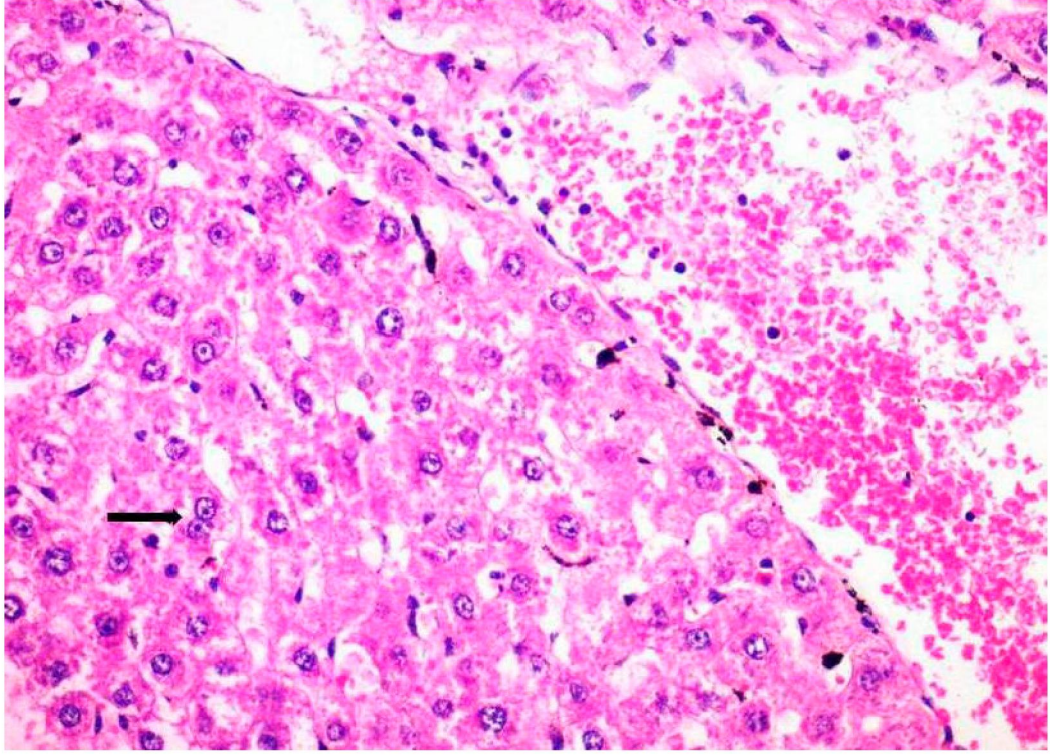
Resim 6. Silostazol uygulanmamış gruptaki görünüm(Mitoz Aktivitesi) (7.gün) (H&E 200x).



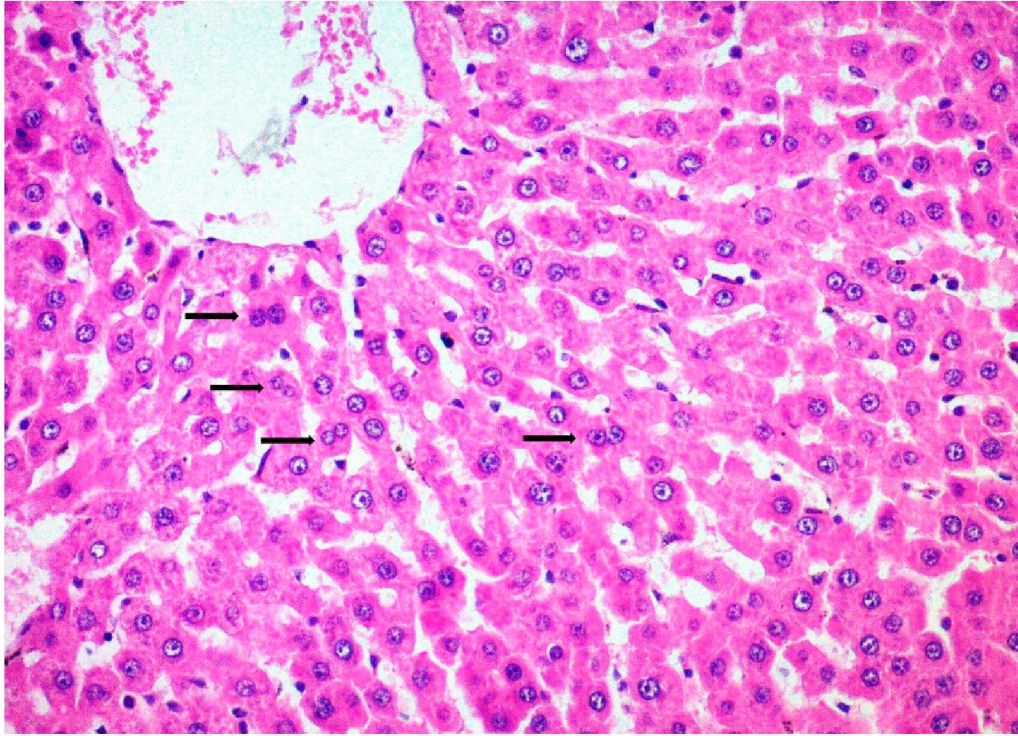
Resim 7. Silostazol uygulanmış gruptaki görünüm.(siyah ok: artmış mitoz aktivitesi)(H&E 4.gün) (200x).



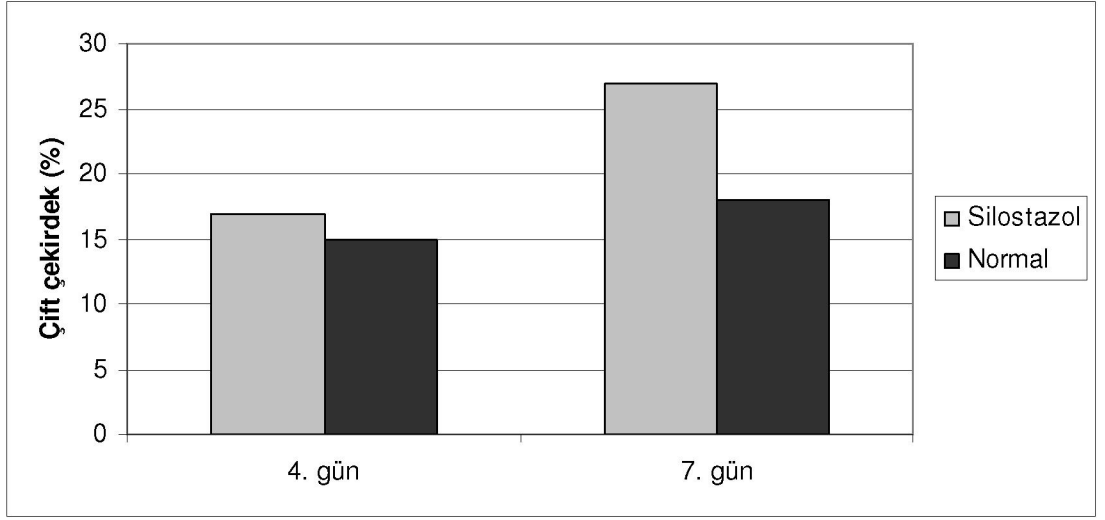
Şekil 2. Mitoz indeksi ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması



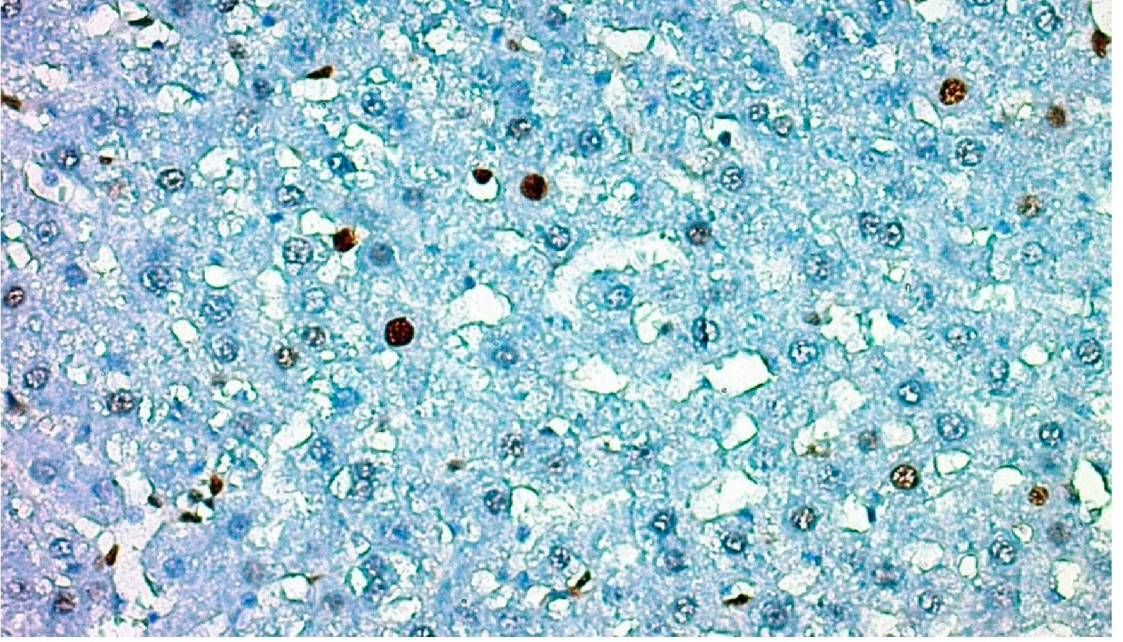
Resim 8. Silostazol uygulanmamış gruptaki çift çekirdek görünümü (7.gün) (H&E 200x).



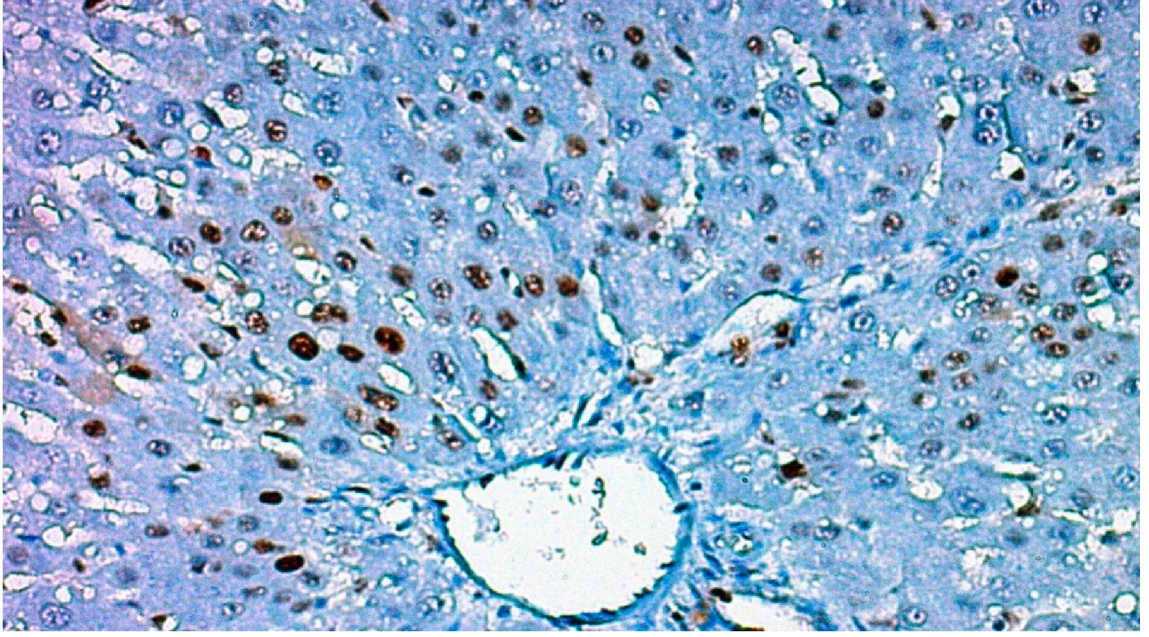
Resim 9. Silostazol uygulanmış grupta çift çekirdek (siyah ok) görünümü (7.gün) (H&E 200x)



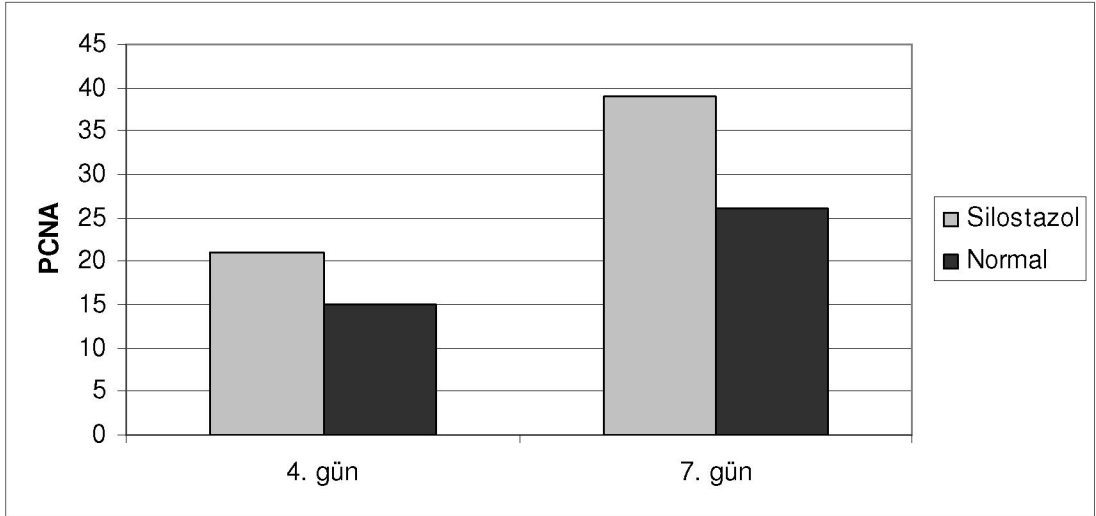
Şekil 3. Çift çekirdek görülme oranı ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.



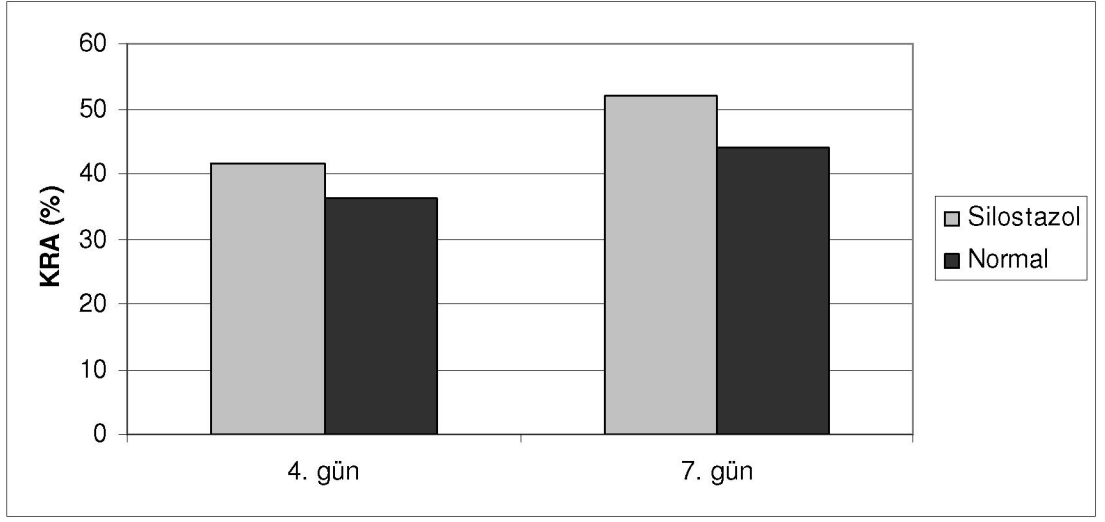
Resim 10. Silostazol uygulanmamış gruptaki PCNA ile boyanma görünümü (4.gün) (x200)



Resim 11. Silostazol uygulanmış gruptaki PCNA ile boyanma görünümü (4.gün)
(x200)



Şekil 4. PCNA görülme oranı ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.



Şekil 5.KRA ortalama değerlerinin zamana göre karşılaştırılması.

5.TARTIŞMA

Yüzde 60'lık karaciğer rezeksiyonunu içeren parsiyel hepatic rezeksiyon modelinde hepatic loblar sağlam olarak çıkarılır ve geride kalan doku hasar görmez. Çeşitli çalışmalarda rejeneratif cevabın %60'lık karaciğer çıkarılırken geride bırakılan karaciğer dokusuyla orantılı olduğu gösterilmiştir. Daha fazla oranda yapılan rezeksiyonlarda bu cevabın kademeli olarak azaldığı belirtilmiştir.⁷⁰ Çalışmamızda Selektif fosfodiesteraz 3 inhibitörü olan silostazolün, parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonuna etkisi araştırıldı.

Çalışmamızda %60'lık hepatic rezeksiyon modelini, karaciğer rejenerasyonunun en uygun incelebileceği model olmasından dolayı tercih ettik. Parsiyel hepatektomi sonrası gen ekspresyonları ve reseptörler ile transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda hızlı değişiklikler meydana gelir. Hepatic parankim kaybı sonrası karaciğerde veya dolaşımında çeşitli potansiyel sinyal uyarıları salınır.⁷¹

Karaciğer farklı hücre gruplarından oluşmuştur. Bunlar içinde tüm hepatic hücrelerin %60'ını oluşturan hepatositler, endotelial hücreler, Kupffer hücreleri ve oval hücreler bulunur. Parsiyel hepatektomi (%60 rezeksiyon) sonrası karaciğer rejenerasyonu genellikle karaciğer prekürsör (kök) hücre aktivasyonunu içermez.⁷² Bunun yerine karaciğer kütlesi erişkin hepatositlerin (tetraploid hücreler) proliferasyonunca yenilenir.⁷³

Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan karaciğer dokusunda rejenerasyonun ilk günden itibaren başladığı gösterilmiştir.^(20, 21, 39, 79, 80) Karaciğerin 2/3 nin kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobuller oluşması ve artık lobullerin genişlemesi şeklinde olur. Ratlarda %60 hepatektomiden 24-30saat sonra mitoz başlar. Mitoz oranı yaklaşık 1/20000'den 3/100'e çıkar. 7-10 günde ağırlığı

normal ağırlığına ulaşır. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda rejenerasyon kriterlerini değerlendirilebilmek için rezeksiyon sonrası 4 ve 7.günü seçtik.

Karaciğer rejenerasyonunda çeşitli genler, sitokinler, büyüme faktörleri ve hücrelerin etkili olduğu günümüzde kanıtlanmış bir gerçektir. Ancak rejenerasyon mekanizması ve hücreler ile sitokinler arasındaki ilişki tam olarak anlaşılamamıştır. Karaciğer rejenerasyonu ile sonuçlanan bir dizi evre kümesi ile rejenerasyonun boyutunu kontrol eden bir kısım inhibitörlerin olduğu görüşü hakimdir.⁷⁴ Epiteyal büyüme faktörü (EBF), TNF- α , IL-1 ve IL-6 hepatik hasar veya parsiyel hepatektomi sonrası temel büyüme ve promotör faktörler olup bir dizi kompleks reaksiyon sonucu NF- κ B, sinyal transdüksiyon ve transkripsiyon-3 aktivatörü gibi transkripsiyon faktörlerini aktive edip karaciğer rejenerasyonu sağlayan özel genleri etkilemektedir.

Karaciğer rejenerasyonunun karmaşık mekanizmalarının açığa çıkarılması son dönem karaciğer yetmezliği olan hastaların tedavisinde çığır açabilecektir. Özellikle rejenerasyonun indüklenmesi donör morbiditesini azaltabilecek ve karaciğer transplantasyonu yapılan alıcının hızlı bir şekilde iyileşmesine olanak sağlayacaktır. Karaciğer rejenerasyonunu pozitif veya negatif yönde etkileyebilecek maddeler günümüz biliminin en ilgi çeken konularından biri olmuştur.⁷⁵

Silostazol ve metabolitlerinden bazıları, siklik adenozin monofosfat (cAMP) bozunmasını baskılayarak trombositler ve kan damarları dahil çeşitli dokulardaki cAMP düzeyinin artmasına neden olan fosfodiesteraz III (PDE III) inhibitörleridir. Bu mekanizma çeşitli uyaranlar yoluyla trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve vazodilatasyona yol açar. Silostazol'un farklı vasküler yataklarda homojen olmayan bir vazodilatatör etkisi vardır.

Bugüne kadar yapılan deneysel çalışmalarla silostazol'un, serebral enfarktüs hacmini azalttığı⁷⁹, çok damarlı koroner arter hastalığında ikili antiagregan tedaviye ek bir katkı sağlamadığı⁸⁰, oositlerde yumurtlamayı uyardığı⁸¹, total atriyal iletim süresini azalttığı⁸², antiagregan etki⁸³, iskemi reperfüzyon modelinde kan - beyin bariyeri disfonksiyonu azalttığı⁸⁴, vasküler düz kas üzerinde güçlü bir vazodilatatör olduğu⁸⁵, hipokampus bağımlı uzun süreli hafızayı geliştirdiği⁸⁶, karaciğer lipogenezinin negatif bir regülatörü⁸⁷, karaciğer fibrozuna karşı fareleri koruduğu⁹⁴,

topallamada yürüme mesafesinde ve yaşam kalitesinde iyileşmeler yaptığı⁸⁸, inmede etkin bir antiagregan etki yaptığı⁸⁹, aterosklerotik retinopatide aterosklerozu önleyici etki yaptığı⁹⁰, diabetik farelerin iskemik arka bacaklarda kollateral kan akışını artırdığı⁹¹, sıçan mezenterine gelen kılcal damarlarda endotel bariyeri güçlendirdiği⁹², diyabetik hastalarda ayak ülserini önlediği⁹³, gösterilmiştir.

Ayrıca 5-fluorourasil⁷⁶, amfiregülün⁷⁷, H2 reseptör antagonistleri⁷⁸ gibi çok değişik ajanın karaciğer rejenerasyona etkisi ile ilgili deneysel çalışmalar vardır.

Fosfodiesteraz III inhibitörlerinin karaciğer hasarını kolestazda hem-oksijenaz yoluyla engellediği ve fibrojen esnasında ise stellat hücre aktivasyonunu baskılayarak antifibrojenik etki gösterdiği bildirilmiştir². Ancak silostazolun karaciğer rejenerasyonuna etkisi hakkında yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamız yüksek doz erken eksojen silostazol uygulamasının karaciğer rejenerasyonuna etkisini incelemiştir. Karaciğer rejenerasyonu bir takım testler kullanılarak değerlendirilebilir. Bunlar içinde karaciğer ağırlığı, sentez oranları, protein düzeyleri, özel enzim belirteçleri, mitotik indeksler, DNA sayımları, nükleer antijenlerin immunohistokimyasal boyanması ve gen ekspresyonları bulunmaktadır. Nükleer antijenlerin [Ki-67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA)] immunohistokimyasal boyanması rejenerasyon monitörizasyonu için uygulanmaktadır. PCNA protein ölçümü immunoblot yöntemi basit, kesin ve tekrarlanabilir bir yöntemdir.⁹⁵ PCNA ile boyanan hepatosit yüzdesi hesaplanabilmektedir. Çalışmamızda biyokimyasal analizin yanında rölatif karaciğer ağırlığı, doku enzim düzeyleri ve histopatolojik inceleme yöntemleri kullanıldı. Gruplar arası rejenerasyonun karşılaştırılmasında mitoz indeksi, çift çekirdek sayısı ve PCNA düzeyleri kullanıldı. İnsanlarda rejeneratif cevap cerrahi sonrası yaklaşık 72. saatte başlar ve genelde 3-6 ay kadar sürer⁹⁶. Karaciğerin rejeneratif kapasitesinin tekrarlayan rezeksiyonlar sonrası sınırsız olduğu görülmüş ancak deneysel çalışmalarda yaşla birlikte azaldığı gösterilmiştir.⁹⁷

Bu rejeneratif döngü sürecinde karaciğer'in metabolik ve sentetik fonksiyonlarında bozulma görülmez. Çalışmamızda da karaciğer fonksiyon testlerinde gruplar arasında anlamlı fark tespit etmezken rölatif karaciğer ağırlığı

açısından karşılaştırıldığında, silostazol uygulanan gruplarda, her iki zaman dilimi açısından da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artış tespit edildi ($p>0.05$). Histopatolojik değerlendirme sonucunda ise silostazol uygulanan gruplarda mitoz indeksinin ve çift çekirdek sayısının 7. günde anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve PCNA oranında ise 4 ve 7. günlerde anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Silostazol uygulanan gruplarda süper oksit dismutaz (SOD) düzeyi anlamlı yüksek, miyeloperoksidaz (MPO) ve aşırı okside olmuş protein ürünleri (AOPP) seviyesi anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Grupların glutatyon düzeyleri arasında anlamlı fark görülmedi.

Silostazol uygulamasının karaciğer rezeksiyonu sonrası histopatolojik parametreleri ve oksidatif stres belirteçlerini olumlu yönde etkilediği ancak bu etkinin karaciğer rölatif ağırlığında anlamlı fark oluşturmadığı gözlemlendi. Silostazol'un histolojik parametrelere ve oksidatif stres belirteçlerine olan olumlu etkisinin, istatistiksel olarak anlamlı fark yaratacak düzeyde karaciğer rölatif ağırlığına yansımaması üzerine etkili mekanizmaların daha ileri çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Karaciğer, hasar veya rezeksiyon sonrası rejenerasyon kapasitesine sahip olmasıyla, etkileyici özelliğe sahip bir organdır. Karaciğer yaralanma, iskemi ve rezeksiyon sonrasında rejenerasyon olur ancak hepatik rejenerasyon için en kuvvetli uyaran rezeksiyondur. Fosfodiesteraz III inhibitörlerinin karaciğer hasarını kolestazda hem-oksijenaz yoluyla engellediği ve fibrojenizasyon esnasında ise stellat hücre aktivasyonunu baskılayarak antifibrojenik etki gösterdiği bildirilmiştir. Sessiz ve tam diferansiyel hepatositlerin hücre siklus progresyonu, proliferasyonu ve sonunda rejenerasyonun durması gibi yüksek oranda kompleks olaylara iten hücre içi ve dışı faktörlerin değerlendirilmesi araştırmacılar açısından önemli bir konu olmuştur.⁹⁸

Çalışmamızda, selektif fosfodiesteraz 3 inhibitörü olan silostazol uygulamasının parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonuna etkisi incelendi.

Silostazol ve metabolitlerinden bazıları, siklik adenozin monofosfat (cAMP) bozunmasını baskılayarak trombositler ve kan damarları dahil çeşitli dokulardaki cAMP düzeyinin artmasına neden olan fosfodiesteraz III (PDE III) inhibitörleridir. Bu mekanizma çeşitli uyaranlar yoluyla trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve vazodilatasyona yol açar. Silostazol'un farklı vasküler yataklarda homojen olmayan bir vazodilatatör etkisi vardır.

Silostazol oral yoldan alımı takiben gastrointestinal sistemden emilir. Yağlı yiyecekler emilimi artırır: doruk plazma konsantrasyonu (C_{max}) yaklaşık %90, eğri altındaki alan (EAA) ise yaklaşık %25 artar. Mutlak biyoyararlılığı bilinmemektedir. Silostazol başta 3A4 olmak üzere karaciğer sitokrom P450 enzimlerince metabolize edilir. Metabolitler daha çok idrar yoluyla vücuttan atılır. İki metaboliti aktiftir bunlar: 3,4-dehidro-silostazol ve 4'-trans-hidroksi silostazol. Farmako kinetikleri dozla orantılı olarak değişir. Silostazol ve aktif metabolitlerinin eliminasyon yarı ömürleri 11 ile 13 saat civarındadır. Silostazol ve aktif metabolitleri kronik kullanımda 2 kata kadar birikebilir ve birkaç günde kararlı kan konsantrasyonuna ulaşır. Silostazol ve iki majör aktif metabolitinin farmakokinetikleri, sağlıklı normal

kişilerde ve periferik arter hastalığına bağlı intermitant klodikasyonlu hastalarda benzer bulunmuştur.

Deneysel çalışmada, kırk adet erkek Wistar albino cinsi rat randomize edilerek dört gruba ayrıldı. Tüm ratlara standart %60 hepatektomi uygulandı. Deney gruplarına silostazol verildi. Rezeksiyon sonrası denekler 4 ve 7. günlerde sakrifiye edildi. Gruplar biyokimyasal, morfolojik ve histopatolojik parametreler açısından karşılaştırıldı.

Biyokimyasal inceleme sonucunda silostazol uygulamasının karaciğer fonksiyon testlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark yaratmadığı görüldü. Gruplar rölatif karaciğer ağırlığı açısından karşılaştırıldığında, silostazol uygulanan gruplarda, her iki zaman dilimi açısından da istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte artış tespit edildi ($p>0.05$). Histopatolojik değerlendirme sonucunda ise silostazol uygulanan gruplarda mitoz indeksinin ve çift çekirdek sayısının 7. günde anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve PCNA (proliferating cell nuclear antigen) oranında ise 4 ve 7. günlerde anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Silostazol uygulanan gruplarda süper oksit dismutaz (SOD) düzeyi anlamlı yüksek, miyeloperoksidaz (MPO) ve aşırı okside olmuş protein ürünleri (AOPP) seviyesi anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Grupların glutatyon düzeyleri arasında anlamlı fark görülmedi.

Çalışmamızda silostazol uygulamasının karaciğer rezeksiyonu sonrası histopatolojik parametreleri olumlu yönde etkilediği ancak karaciğer rölatif ağırlığında anlamlı fark oluşturmadığı gözlemlendi. Silostazol'un histolojik parametrelere olan olumlu etkisinin, istatistiki olarak anlamlı fark yaratacak düzeyde karaciğer rölatif ağırlığına yansımaması üzerine etkili mekanizmaların daha ileri çalışmalarla aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Tuncer U, Kupeliođlu R, Karahan S, Gursel C, Akalın G. Masif karaciğer rezeksiyonunda ranitidin ve famotidinin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkileri. T.klin. Gastroenterohepatoloji 1993; 4:183-185.
2. Akcan A , Kűçük C, Ok E, Artıř T,Yılmaz T, Canöz Ő ve S. Muhtarođlu, “DeneySEL hepatic rezeksiyon modelinde tip III fosfodiesteraz inhibitörlerinin karaciđer rejenerasyonu üzerine etkisi”, Ulusal Cerrahi Kongresi, 26-30 Mayıs 2004 Antalya
3. <http://www.ilacrehberi.com/pletal-50-mg-tablet-kub.html/6>
4. Gray’s anatomi Richard L. Drake Wayne vogle, Adam W. M. Mitcehell 2004
- 5.Kuran O. Sistematik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi; 1983. p. 429-43
6. Skandalakis J. Surgical anatomy and technique. New York: Springer verlag;1994
7. Zuidema G.Volume: 3 Shackelford's surgery of the alimentary tract. Pennsylvania: W.B.Saunders; 1996.
8. Guyton A, Hall J Bir organ olarak karaciğer. In: Çavusoglu H, editor. TıbbiFizyoloji. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2001. p. 797-802
- 9.Junquerira L, Carneiro J, Kelley R. Basic histology. Applenton&Lange; 1993.p. 245-76.
- 10.Lafortune M, Madore F, Patriquin H, Breton G. Segmental anatomy of the liver: sonographic approach to the Couinaud nomenclature. Radiology 1991;181:443-48
- 11.Couinaud C. Le foie. Etudes anatomiques et chirugicaves. Paris: Masson&Cie; 1953
- 12.Strasberg, S, Belghiti, J, Clavien, P-A, and et al. The Brisbane 2000terminology of liver anatomy and resections. 2000. Terminology committee of the international hepato-pancreato-biliary association HPB Surg: 333. Ref Type: Report
- 13.Pandit JJ, Maxwell PH. New insights into the regulation of erythropoietin production. Br.J.Anaesth. 2000;85:329-30.
14. Griffith J, Jr Farris E. The rat in laboratory investigation. London: J.B. Lippincott Company; 1942. p. 32
- 15.Emond J, Capron-Laudereau M, Meriggi F, Bernuau J, Reynes M, Houssin D. Extent of hepatectomy in the rat. Evaluation of basal conditions and effect of therapy. Eur Surg Res. 1989;21:251-59

16. West MA, Billiar TR, Curran RD, Hyland BJ, Simmons RL. Evidence that rat Kupffer cells stimulate and inhibit hepatocyte protein synthesis in vitro by different mechanisms. *Gastroenterology* 1989;96:1572-82
17. <http://www.radiologyassistant.nl/en/p4375bb8dc241d/anatomy-of-the-liver-segments.html>
18. Alison MR, Poulsom R, Jeffery R, Anilkumar TV, Jagoe R, Sarraf CE. Expression of hepatocyte growth factor mRNA during oval cell activation in the rat liver. *J Pathol* 1993;171:291-99
19. Guyton A, Hall J. Bir organ olarak karaciger. In: Çavusoglu H, editor. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2001. p. 797-802
20. Keppens S, Vandekerckhove A, Moshage H, Yap SH, Aerts R, De WH. Regulation of glycogen phosphorylase activity in isolated human hepatocytes. *Hepatology* 1993;17:610-14
21. Healey JE, Jr., Schroy PC, Sorensen RJ. The intrahepatic distribution of the hepatic artery in man. *J. Int. Coll. Surg.* 1953;20:133-48.
22. Khan AZ, Mudan SS. Liver regeneration: mechanisms, mysteries and more. *ANZ J Surg.* 2007;77:9-14
23. İnkoma-Sey V. Hepatic Regeneration-Revisiting the Myth of Prometheus. *NewsPhysiol Sci.* 1999;14:149-55
24. Bucher N, Larmer S. Liver regeneration following partial hepatectomy; genes and metabolism. In: Strain A, Diehl A, editors. *Liver Growth and Repair*. London: Chapman & Hall; 1998. p. 3-27
25. Francavilla A, Zeng Q, Polimeno L, Carr BI, Sun D, Porter KA et al. Small-for-size liver transplanted into larger recipient: a model of hepatic regeneration. *Hepatology* 1994;19:21016
26. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol.* 2000;32:19-31
27. Junquerira L, Carneiro J, Kelley R. Basic histology. *Appleton & Lange*; 1993. p. 245-76
28. Hays D. Surgical research aspects of hepatic regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1974;139:609-19
29. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after Hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2001; 48:556-62.48

30. Sigel B, Baldia L, Dunn M, Et A. Humoral control of liver regeneration. Surg. Gynecol. Obstet. 1967;1023-31
31. Ethier C, Kestekian R, Beaulieu C, Dube C, Havrankova J, Gascon-Barre M. Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in rat. Endocrinology 1990;126:2947
32. Higgins G, Anderson R. Experimental pathology of the liver: Restoration of the liver on the white rat following partial surgical removal. Arch Pathol 1931;186- 202.
33. Madding G, Kennedy P. Trauma to the liver. Philadelphia: W.B. Saunders company;1971. p. 94-96
34. Chamuleau RA, Bosman DK. Liver regeneration. Hepatogastroenterology 1988;35:309-12
35. Mac Sween R, Anthony P, Scheuer P. Pathology of the liver. New York: Churchill Livingstone; 1979. p. 6-7
36. Bucher N. Regeneration of the mammalian liver. Int Rev Cytol. 1963. p. 245- 94.
37. Michholopoulos G, De Frances M. Liver regeneration. Science 1997;270:60- 66
38. Widmann JJ, Fahimi HD. Proliferation of mononuclear phagocytes Kupffer cells and endothelial cells in regenerating rat liver. A light and electron microscopic cytochemical study. Am J Pathol. 1975;80:349-66
39. Grisham J. A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regeneration in the liver: autoradiography with thymidine-H3. Cancer. Cancer Res 1964;22:842-49
40. Zimmermann A. Liver regeneration: the emergence of new pathways. Med Sci Monit. 2002;8:RA53-RA63
41. Cho MK, Kim SG. Hepatocyte growth factor activates CCAAT enhancer binding protein and cell replication via PI3-kinase pathway. Hepatology 2003;37:686-95
42. Fausto N. Liver regeneration. J Hepatol. 2000;32:19-31. 49
43. Haber AH, MKDRTR. Induction patterns of 70 genes during nine days after hepatectomy define the temporal course of liver regeneration. J Clin Invest 1993;91:1319
44. Fausto N. Liver regeneration. J Hepatol. 2000;32:19-31

45. Kamata H, Honda S, Maeda S, Chang L, Hirata H, Karin M. Reactive oxygen species promote TNF α -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell* 2005;120:649-61
46. Vandenabeele P, Declercq W, Beyaert R, Fiers W. Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol* 1995;5:392-99
47. Luedde T, Trautwein C. Intracellular survival pathways in the liver. *Liver Int* 2006;26:1163-74
48. Luedde T, Liedtke C, Manns MP, Trautwein C. Losing balance: cytokine signaling and cell death in the context of hepatocyte injury and hepatic failure. *Eur Cytokine Netw*. 2002;13:377-83
49. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. A endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci. USA* 1975;72:3666-70
50. Feinberg B, Kurzrock R, Talpaz M, Blick M, Saks S, Gutterman JU. A phase I trial of intravenously-administered recombinant tumor necrosis factor- α in cancer patients. *J Clin Oncol* 1988;6:1328-34
51. Kimura K, Taguchi T, Urushizaki I, Ohno R, Abe O, Furue H et al. Phase I study of recombinant human tumor necrosis factor. *Cancer Chemother Pharmacol* 1987;20:223-29.
52. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA, Jr. Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990;85:1936-43.
53. Leist M, Gantner F, Naumann H, Bluethmann H, Vogt K, Brigelius-Flohe R et al. Tumor necrosis factor-induced apoptosis during the poisoning of mice with hepatotoxins. *Gastroenterology* 1997;112:923-34
54. Muto Y, Nouri-Aria KT, Meager A, Alexander GJ, Eddleston AL, Williams R. Enhanced tumour necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1988;2:72-74
55. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U et al. Tumor necrosis factor α in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 2000;119:446-60

56. Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kappaB activation prevents cell death. *Cell* 1996;87:565-76
57. Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF-kappaB in preventing TNFalpha-induced cell death. *Science* 1996;274:782-84
58. Doi TS, Marino MW, Takahashi T, Yoshida T, Sakakura T, Old LJ et al. Absence of tumor necrosis factor rescues RelA-deficient mice from embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2994-99
59. Referans: Glowick SP, Kaplan SD. *Methods in Enzymology*. New York, NY, Academic Press. 1955, pp769-782
60. Yi-Sun, S., Oberley, L.W. Li, Y. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin. Chem.*, 34 13, 497-500 . 1988
61. Referans: Witko-Sarsat, V., Friedlander M., Capeille`re-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen A. T., Zingraff J., Jungers P., and Descamps-Latscha B.. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996; 49:1304
62. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Biochem* 193: 145-157
63. Taylan E. Resmi H. The Analytical Performance of a Microplate Method for Total Sulfhydryl Measurement in Biological Samples. *Turk J Biochem* 2010; 35 3 ; 275–278.
64. Fishback F. A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Arch Pathol* 1929;7:956-77
65. Kogure K, Zhang YQ, Shibata H, Kojima I. Immediate onset of DNA synthesis in remnant rat liver after 90% hepatectomy by an administration of follistatin. *J Hepatol.* 1998;29:977-84
66. Selzner M, Clavien PA. Failure of regeneration of the steatotic rat liver: disruption at two different levels in the regeneration pathway. *Hepatology* 2000;31:35-42
67. Waseem NH, Lane DP. Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen PCNA. Structural conservation and the detection of a nucleolar form. *J. Cell Sci.* 1990;96 Pt 1:121-29

68. Hall PA, McKee PH, Menage HD, Dover R, Lane DP. High levels of p53 protein in UV-irradiated normal human skin. *Oncogene* 1993;8:203-07
69. Hall PA, McKee PH, Menage HD, Dover R, Lane DP. High levels of p53 protein in UV-irradiated normal human skin. *Oncogene* 1993;8:203-07
70. Selzer M, Clavien PA. Failure of regeneration of the steatotic rat liver: disruption at two different levels in the regeneration pathway. *Hepatology* 2000;31:35-42
71. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T. Human liver regeneration after major hepatic resection. A study of normal liver and livers with chronic hepatitis and cirrhosis. *Ann Surg* 1987;206:30-39
72. Michalopoulos GK, Khan Z. Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin. *Gastroenterology* 2005;128:503-06
73. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2001;48:556-62.
74. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol.* 2000;32:19-31.
75. HBF, TGF, Khan AZ, Mudan SS. Liver regeneration: mechanisms, mysteries and more. *ANZ J Surg.* 2007;77:9-14.
76. Zimmermann A. Liver regeneration: the emergence of new pathways. *Med Sci Monit.* 2002;8:RA53-RA63.
77. Köksal Hakan M., Erdem Levent, Yıldırım Sadık, İpek Turgut, Pakiş Işıl Parsiyel hepatektomi uygulanan sıçanlarda 5-Fluorourasil'in karaciğer rejenerasyonu ve metabolizmasına etkisi 2001, Volume 12, No 1, Pages 6-12 *The Turkish Journal of Gastroenterology*
78. Carmen Berasain, Elena r. garcía-trevijano, Josefa castillo, Elena Erroba, David c. lee, † Jesús Prieto, and Matías a. Avila Amphiregulin: Farelde Karaciğer Rejenerasyonunun Erken Tetikleyicisi Division of Hepatology and Gene Therapy, Centro de Investigación Médica Aplicada, Facultad de Medicina, Universidad de Navarra, Pamplona, Spain; and ‡Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, North Carolina
79. Üzeyir T, Rıza K, Servet K, Canan G, Gülay A Haseki Hastanesi II. Cerrahi Kliniği, Patoloji Kliniği, İstanbul *TKlin Gastroenterohepatoloji* 1993, 4:183-185

- 80.Omote Y, Deguchi K, Kono S, Liu N, Liu W, Kurata T, T Yamashita, Ikeda Y, Abe K. *J Neurosci Res.* 2014 Mar ; 92 3 :369-74 . doi: 10.1002/jnr.23327 . Epub 2013 21 Aralık .
- 81.Youn YJ1, Lee JW2, Ahn SG2, Lee SH2, Choi H3, Yu CW4, Hong YJ5, Kwon HM6, Hong MK7, Jang Y7, Yoon J2 . Çok Merkezli uzun veya çok damar koroner arter hastalığı için biolimus salınımlı stent implantasyonu sonrası ikili antiplatelet tedaviye ek olarak 3 aylık cilostazol kullanımını *Am Heart J.* 2014 Şubat; . 167 2:241 - 248 e1 . doi:10.0.1016/j.ahj.2013.08.028 . Epub 2013 22 Ekim.
- 82.Taiyeb AM1, Ridha MT2, Sayes CM3, Dees WL4, Kraemer DC4 . *Life Sci.* 2014 Şubat 6, 96 1-2 :46 -52 . doi: 10.1016/j.lfs.2013.12.022. Epub 2013 29 Aralık.
- 83.Alizade E, ŞahinM, Şimşek Z, Açar G, Bulut M, Güler A, Avcı A, Kalkan M, Pala S, Akçakoyun M, Esen A.Perfüzyon. 2013 26Kasım.
- 84.Lavie CJ, DiNicolantonio JJ . *JACC Cardiovasc Interv.* 2013 Eylül ; 6 (9) :943-4. doi: 10.1016/j.jcin.2013.06.006
- 85.Takeshita T1, Nakagawa S2, Tatsumi R3, Yani G1, Hayashi K1, K3 Tanaka, Deli MA4, Nagata I1, Niwa M5. *Mol Celi Neurosci.* 2014 25 Ocak. PII: S1044 - 7431 14 00007-4. doi: 10.1016/j.mcn.2014.01.006
- 86.K Tanaka, Gotoh F, Fukuuchi Y, Amano T, D Uematsu, J Kawamura, Yamawaki T, Itoh, N, Obara K, Muramatsu K.İnme . 1989 Mayıs; 20 (5) :668 -73 .
- 87.Yanai S, Semba Y, Ito, H, Endo S. *Psychopharmacology (Beri)* . 2014 25 Ocak .
88. Jung ya1, Kim HK1, Bae KH2, Seo HY1, Kim HS1, Jang BK1, Jung GS2, Lee IK2, Kim MK1, Park kg2 . *Exp Mol Med.* 2014 24 Ocak,46 : e73 . doi: 10.1038/emm.2013.143
89. Lee C, Nelson PR . *Vasc Endovasküler Surg* . 2014 6 Ocak.
90. Qian Y, Bi S. *Eur J Med Res.* 6 Aralık 2013 ; 18:53 . doi: 10.1186/2047-783X-18-
91. Kim SM, Cho KI . *Cardiovasc Ther.* 2013 Aralık ; 31 (6) : E94 - e101 . doi: 10.1111/1755-5922.12042
92. Biscetti F, G Pecorini, Arena V, Stigliano E, Angelini F, G Ghirlanda, Ferraccioli G, *FlexMol Celi Endocrinol.* 5 Aralık 2013; 381 1-2 :80-7 doi: 10.1016/j.mce.2013.07.011 . Epub 2013 23 Temmuz .

93. Sugiura Y, Morikawa T, Takenouchi T, Suematsu M, Kajimura M. *Phlebologie* . 2013 15 Temmuz
94. Franciscis S, Gallelli L, Battaglia L, Molinari V, Montemurro R, Stillitano DM, Buffone G, Serra R. *Int J* 2013 15 Mayıs Yara . doi: 10.1111/iwj.12085 .
95. Saito S, Hata K, Iwaisako K, Yanagida A, Takeiri M, Tanaka H, Kageyama S, Hirao H, Ikeda K, Asagiri M, S. Uemoto *Hepatol Res* . 2013 19 Nisan . doi.10.1111/hepr.12140.
96. Pahlavan PS, Feldmann RE, Jr., Zavos C, Kountouras J. Prometheus' challenge:molecular, cellular and systemic aspects of liver regeneration. *J Surg Res* 2006;134:238-51.
97. Kar151. Moser MJ, Gong Y, Zhang MN, Johnston J, Lipschitz J, MinukGY. Immediate-early protooncogene expression and liver function following various extents of partial hepatectomy in the rat. *Dig Dis Sci* 2001;46:907-14.
98. Bozhkov AI, Maleev VA. [Does the liver ability to regeneration decrease withage? The dynamics of functional activity of mitochondria in process of the liverregeneration. *Adv Gerontol*. 2004;13:58-65.
99. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol*. 2000;32:19-31. Michalopoulos GK, Khan Z. Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin. *Gastroenterology* 2005;128:503-06.58

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



20

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



TOPLANTI TARİHİ : 10/10/2012
TOPLANTI NO : 2012/08

- 1- B.E.Ü. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2010-37-23/12 Protokol no'lu "Tıkanma Sarılıklı Ratlarda Fosfodiesteraz III İnhibitorünün Karaciğer Hasarına Etkisi" konulu çalışma başlığının "Parsiyel Hepatektomili Ratlarda Fosfodiesteraz III İnhibitorünün Karaciğer Hasarına Etkisi" olarak değiştirilmesi talebinin BEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı