



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL BAğCILAR

SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİğİ

TIKANMA SARILIğI MODELİ OLUşTURULMUş RATLARDA
SİSTEMİK PRP (TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA) TEDAVİSİNİN
KARACİğER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEğERLENDİRİLMESİ

Dr. Ahmet Güray Durmaz

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2024



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL BAĞCILAR

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ

GENEL CERRAHİ KLİNİĞİ

**TIKANMA SARILIĞI MODELİ OLUşTURULMUş RATLARDA
SİSTEMİK PRP (TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA) TEDAVİSİNİN
KARACİĞER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KLİNİK VE HİSTOPATOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ahmet Güray Durmaz

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Osman Bilgin Gülçiçek

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2024

TEŞEKKÜR

Henüz öğrencilik yıllarımda iken Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde cerrahi nosyon kazanmamda büyük emekleri olan Prof. Dr. Nihat Zafer UTKAN, Prof. Dr. Nuh Zafer CANTÜRK ve Doç. Dr. Tonguç Utku YILMAZ' a,

Asistanlık eğitim sürecim boyunca gerek mesleki gerekse hayat tecrübeleri, bilgi ve birikimleri ile gelişimime katkı sağlamış olan değerli hocalarım Op. Dr. Fatih ÇELEBİ, Doç. Dr. Rıza KUTANİŞ, Doç. Dr. Atilla ÇELİK' e;

Bu zorlu süreçte desteklerini her daim hissettiğim İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Genel Cerrahi Kliniği başasistanları en başta Doç. Dr. Osman Bilgin GÜLÇİÇEK olmak üzere, Doç. Dr. Erkan YAVUZ, Doç. Dr. Hakan YİĞİTBAŞ ve Doç. Dr. Candaş ERÇETİN' e; kliniğimizde çalışmış ve çalışmakta olan tüm uzman abi ve ablalarıma;

Karşıma çıkan engelleri aşmama her zaman yardım etmiş başta Op. Dr. Yunus Emre AKTİMUR ve Op. Dr. Haşim Furkan GÜLLÜ olmak üzere bütün kıdemlilerime;

Zorlu asistanlık süreci boyunca kardeşliğini her daim hissettiğim Dr. Ahmet SALHAT, Dr. Farid Mohammad HAMAD, Dr. Kylie Sim KARADAĞ, Dr. İbrahim ÇAKIR, Dr. Ahmet BARCIN, Dr. Abdulaziz ALEİSSA, Dr. Alperen İbrahim SAYAR, Dr. Ayşe Hicret YILMAZ, Dr. Gökhan ALICI, Dr. Mustafa Can ALIKLI, Dr. Fırat EREN, Dr. Bülent TOKSÖZ, Dr. Onur ÇAKIR, Dr. Ali NASSAN, Dr. Onur Mert, Dr. Merve ÖZTÜRK, Dr. Bilal ÖZTAŞ, Dr. Ahmet Sadi DİZLEK, Dr. Javidan İBRAHİMOV' a;

Tez çalışmamda emeği geçen Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Dr. Özgür Doğa ÖZSOY, hastanemiz Patoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Tevhide Bilgen ÖZCAN, hastanemiz BADABEM sorumlu veteriner hekimi Dr. Duygu Sultan ORHAN ve veteriner teknisyeni Fatih GENÇ' e;

Emeklerini yadsıyamayacağım hemşire ve personel arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemde haklarını asla ödeyemeyeceğim amcam Ercan DURMAZ, yengem Sevim DURMAZ ve bana kardeş yokluğunu hiçbir zaman hissettirmeyen kuzenlerim Sinan ve Oğuz DURMAZ' a;

Hayata gözlerimi açtığım andan itibaren her anımda yanımda olmuş, benim için kendilerinden ödün vermiş biricik annem Ayla DURMAZ ve babam Gürcan DURMAZ' a;

Hayatıma değer katan sevgili eşim Sevgi BÜBER DURMAZ' a

Sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karaciğer Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi.....	3
2.2. Safra Kesesi, Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi.....	12
2.2.1. Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi.....	13
2.2.2. Safra Kesesi Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi.....	16
2.3. Ratlarda Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi	19
2.4. Safra Fizyolojisi	19
2.4.1. Safra Salgısında Bulunan Maddeler.....	23
2.5. Sarılığın Sınıflandırılması	27
2.5.1. Tıkanma Sarılığı.....	28
2.6. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres	32
2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri.....	33
2.8. İyileşme Kaskadı.....	35
2.9. Trombositten Zengin Plazma (TZP)	36
2.9.1. Trombositten Zengin Plazma Hazırlanması.....	39
2.9.2. Trombositten Zengin Plazma Uygulama Alanları	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar	42
3.2. TZP üretimi	43
3.3. Anestezi ve Cerrahi İşlem	44
3.4. Cerrahi Sonrası Bakım, Tedavi ve Deneyin Sonlandırılması	46
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme.....	48
3.1 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme	48
3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	50
4. BULGULAR	51
4.1. Biyokimyasal Bulgular	51
4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular	58
5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ	73
7. KAYNAKLAR.....	74

KISALTMALAR

5'NT: 5' Nükleotidaz

ACD-A: Asit Sitrat Dekstroz

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

ASK: Ana Safra Kanalı

AST: Aspartat Aminotransferaz

BC: Buffy Coat

CCK: Kolesistokinin

CCl₄: Karbon Tetraklorür

CK-19: Sitokeratin-19

CK-7: Sitokeratin-7

EGF: Epidermal Growth Factor

FGF: Fibroblast Growth Factor

GGT: Gama Glutamil Transpeptidaz

GPx: Glutatyon Peroksidaz

HGF: Hepatocyte Growth Factor

HV: Hepatik Ven

IGF-I: Insulin Like Growth Factor-I

i.p.: intraperitoneal

LDH: Laktat Dehidrojenaz

MDA: Malondialdehit

PBS: Phosphate Buffered Saline

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PRP: Platelet-rich Plasma (Trombositten Zengin Plazma)

PT: Portal Trakt

PV: Portal Ven

SOD1: Süperoksit Dismutaz

SV: Santral Ven

TGF- β : Transforming Growth Factor- β

THV: Terminal Hepatik Venül

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α

TS: Tıkanma Sarılığı

TZP: Trombositten Zengin Plazma

VCI: Vena Cava Inferior

VIP: Vazoaktif İntestinal Peptid



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Safra kesesi ve karaciğer safralarının bileşimi	21
Tablo 2.2: Sarılığın Sınıflandırılması.....	27
Tablo 2.3: Tıkanma Sarılığının Vücut Üzerindeki Etkileri.....	31
Tablo 2.4: TZP içerisindeki büyüme faktörleri ve özellikleri	37
Tablo 4.1: Total protein ve albümin değerlerinin karşılaştırması	51
Tablo 4.2: AST ve ALT değerlerinin karşılaştırılması	52
Tablo 4.3: Serum TB ve DB değerlerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 4.4: ALP ve GGT değerlerinin karşılaştırılması	53
Tablo 4.5: LDH değerlerinin karşılaştırılması	54
Tablo 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılması.....	55
Tablo 4.7: TNF- α değerlerinin karşılaştırılması.....	55
Tablo 4.8: MDA değerlerinin karşılaştırılması	56
Tablo 4.9: SOD1 değerlerinin karşılaştırılması.....	57
Tablo 4.10: GPx değerlerinin karşılaştırılması	57

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Yaklaşık 36 günlük bir embriyonun şematik görüntüsü	3
Şekil 2.2: Karaciğerin segmental anatomik görüntüsü	5
Şekil 2.3: Çölyak trunkus ve ana hepatik arterin anatomik görüntüsü	6
Şekil 2.4: Hepatik arterin varyasyonları	6
Şekil 2.5: Portal Triad' ın görüntüsü	8
Şekil 2.6: Karaciğer parankim yapısının şematik çizimi	10
Şekil 2.7: Asinüs modelinin 3 bölgesindeki karaciğer kan akışını Matsumoto' nun karaciğer mimarisi konseptiyle karşılaştıran çizim.....	11
Şekil 2.8: Safra kesesi, ekstra hepatik safra yolu ve koledokoduodenal kavşağın şematik gösterimi	12
Şekil 2.9: Safra kesesi ve sistik kanal anatomisindeki varyasyonlar.	14
Şekil 2.10: Sistik arterin anatomisindeki farklılıklar	17
Şekil 2.11: Ratlarda hepatobiliyer sistem anatomisinin görüntüsü.....	19
Şekil 2.12: Karaciğerden safra üretimini, safra kesesi kasılmasını ve Oddi sfinkterinin gevşemesini tetikleyen faktörler	21
Şekil 2.13: Bilirübin metabolizması	26
Şekil 3.1: TZP'nin üretilmesi için gerekli malzeme ve ekipmanlar	44
Şekil 3.2: TZP üretimindeki basamaklar.....	44
Şekil 3.3: Cerrahi işlem sürecine hazırlık.	45
Şekil 3.4: Cerrahi işlemin uygulanması.	45
Şekil 3.5: Fasyal ve kas planlarının kapatılması sonrası cilt süturasyonu ve antisepsinin sağlanması.....	46
Şekil 3.6: Kontrol ve tedavi grubundaki sıçanlarda vücut yüzeyi ve intraabdominal organlardaki renk değişikliği.....	47
Şekil 3.7: Sakrifikasyon işleminde karaciğerin örneklenmesi ve intrakardiyak ponksiyon ile kan alınması.....	47
Şekil 4.1: Total protein ve albümin değerlerine ait grafikler.	51
Şekil 4.2: AST ve ALT değerlerine ait grafikler.....	52
Şekil 4.3: Serum TB ve DB değerlerine ait grafikler.....	53

Şekil 4.4: ALP ve GGT değerlerine ait grafikler.....	54
Şekil 4.5: LDH değerlerine ait grafik.....	54
Şekil 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerine ait grafikler.....	55
Şekil 4.7: TNF- α değerlerine ait grafik.....	56
Şekil 4.8: MDA değerlerine ait grafik.....	56
Şekil 4.9: SOD1 değerlerine ait grafik.....	57
Şekil 4.10: GPx değerlerine ait grafik.....	57
Şekil 4.11: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi.....	58
Şekil 4.12: Kontrol grubunda hasarlı portal alan ve belirgin duktüler proliferasyonun görüntüsü	58
Şekil 4.13: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi.....	59
Şekil 4.14: Kontrol grubunda hasarlı portal alanda artmış duktüler proliferasyon ve çevresindeki fibrozisin görüntüsü	59
Şekil 4.15: Kontrol grubunda hasarlı portal alanlar arasındaki köprüleşme fibrozisinin görüntüsü	60
Şekil 4.16: Tedavi grubunda portal alanda saptanmış en yoğun fibrozisin görüntüsü	60
Şekil 4.17: Sham grubunda normal izlenen portal alanda safra duktusunun görüntüsü.....	61
Şekil 4.18: Kontrol grubunda belirgin olarak görülen safra duktus hasarı	61
Şekil 4.19: Kontrol grubunda duktulit görüntüsü; hasarlı safra duktuslarında lenfosit ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu.....	62
Şekil 4.20: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-7 (+)liği	62
Şekil 4.21: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-19 (+) liği	63
Şekil 4.22: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon	63
Şekil 4.23: Kanaliküler safra tıkaçlarının görüntüsü	64
Şekil 4.24: Sham grubunda HGF ekspresyonu	64
Şekil 4.25: Kontrol grubunda HGF ekspresyonu.....	65
Şekil 4.26: Tedavi grubunda HGF ekspresyonu	65
Şekil 4.27: Tedavi grubunda TGF- β ekspresyonu.....	66

Şekil 4.28: Tedavi grubunda duktuler proliferasyon alanında artmış TGF- β ekspresyonu..... 66



ÖZET

Giriş ve Amaç: Çalışmamızda, tıkanma sarılığı oluşturulan deney hayvanlarında trombositten zengin plazmanın (TZP) sistemik uygulanmasındaki etkilerin, klinik ve histopatolojik bulgular eşliğinde değerlendirilmesini amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Dişi cinsiyet, Wistar Hannover cinsi, 250-300 gr ağırlığında, yaşları 10-12 hafta aralığında, 24 adet rat: Sham, Kontrol (Tıkanma sarılığı (TS) oluşturulması sonrası intraperitoneal serum fizyolojik), Tedavi (TS oluşturulması sonrası intraperitoneal TZP) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Cerrahi işlem sonrası 1. 4. ve 7. günlerde tedavi uygulandıktan sonra 14. günde sakrifiye edildi.

Bulgular: Biyokimyasal parametrelerden ALT ($p=0,04$), LDH ($p=0,001$), lipaz ($p=0,003$), TNF- α ($p=0,025$) ve MDA ($p=0,001$) değerlerinde tedavi ve kontrol grupları arasında anlamlı fark saptandı. Histopatolojik incelemede tedavi grubunda kontrol grubuna göre karaciğerde portal inflamasyon, fibrozis, safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon ve kolestaz bulgularının anlamlı derecede gerilediği bulundu. İmmünohistokimyasal incelemede TZP içerisinde bulunan, HGF' nin ekspresyonunun kontrol grubunda tedavi grubuna göre, TGF- β ekspresyonunun tedavi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Tıkanma sarılığına karşı TZP tedavisinin klinik bulgularda iyileşme sağlaması dolayısıyla iyi bir tedavi seçeneği olacağını öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Tıkanma sarılığı, trombositten zengin plazma, rat, karaciğer

ABSTRACT

Introduction and Aim: In our study, we aimed to evaluate the effects of systemic administration of platelet-rich plasma (PRP) in experimental animals with obstructive jaundice, accompanied by clinical and histopathological findings.

Material and Method: Twenty-four female Wistar Hannover rats weighing 250-300 g, aged between 10-12 weeks, were divided into 3 groups: Sham, Control (intraperitoneal saline after creating obstructive jaundice (OJ)), Treatment (intraperitoneal PRP after creating OJ). Treatment was administered on days 1, 4, and 7 after surgery, and the rats were sacrificed on day 14.

Results: Significant differences were observed between the treatment and control groups in biochemical parameters including ALT ($p=0.04$), LDH ($p=0.001$), lipase ($p=0.003$), TNF- α ($p=0.025$), and MDA ($p=0.001$). Histopathological examination revealed a significant reduction in portal inflammation, fibrosis, bile duct damage, ductular proliferation, and cholestasis in the liver of the treatment group compared to the control group. Immunohistochemical examination showed that the expression of HGF was higher in the control group compared to the treatment group, while the expression of TGF- β was significantly higher in the treatment group compared to the control group.

Conclusion: We anticipate that PRP therapy against obstructive jaundice will be a good treatment option due to its improvement in clinical findings.

Keywords: Obstructive jaundice, platelet-rich plasma, rat, liver

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıkanma sarılığı (TS) safra yollarının herhangi bir nedenle tıkanması sonrası ortaya çıkan geniş spektrumlu bir hastalık tablosudur. Bu tabloya safra taşı gibi benign bir durum sebep olabileceği gibi, inflamasyon ya da safra yolları ile ilişkili tümörler de sebep olabilmektedir (1). TS' de yara iyileşmesinin gecikmesi gibi komplikasyonların yanında uzamış sarılık durumunda periferik vazokonstrüksiyon, kardiyovasküler sistem bozuklukları, gastrointestinal hemoraji, pıhtılaşma bozukluğu, karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu, sepsis ve çoklu organ yetersizliği gibi majör komplikasyonlar da gelişebilmektedir. Bu klinik seyirde ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri hastanın genel durumunun bozulmasını hızlandırmakta ve mortaliteyi artırmaktadır.

Literatür incelendiğinde, farklı bitkisel ekstraktların ve kimyasal maddelerin TS oluşturulmuş ratlarda karaciğer ve diğer organlar üzerinde antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu görülmektedir. Solmaz ve ark. çalışmasında Nesfatin-1 molekülünün TS' de karaciğer üzerine koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (2). Altuğ ve ark. gerçekleştirmiş olduğu deneysel modelde zencefil ekstraktının, Erkol ve ark. çalışmasında beta-glukanın TS' de karaciğer hasarına karşı etkili olduğu gösterilmiştir (3,4). Çalışmamızdaki amaç canlının kendi dokusundan üretilmesi mümkün ve ulaşılabilir olan trombosit zengin plazmanın (PRP-TZP) TS' de karaciğer üzerine etkilerinin incelenmesidir.

TZP: Doku yenilenmesi; hemostazın aşamalarında da dahil olmak üzere enflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme ile birlikte birçok hücre ve biyokimyasal yolları içeren bir süreçtir. Bu süreçte transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor (EGF), insuline like growth factor (IGF-I), fibroblast growth factor (FGF) gibi büyüme faktörleri hücrelerin büyüme farklılaşma ve doku yenilenmesi sürecinde rol oynar. TZP içeriğinde yoğun şekilde bulundurduğu platelet-derived growth factor (PDGF), IGF-I, TGF- β , EGF, hepatocyte growth factor (HGF) gibi sitokinlerle yara iyileşmesinin her safhasında, mezankimal ve epitelyal

hücre migrasyonunda, kollajen matriks üretiminde ve yeni damar oluşumunda önemli rol oynar (5).

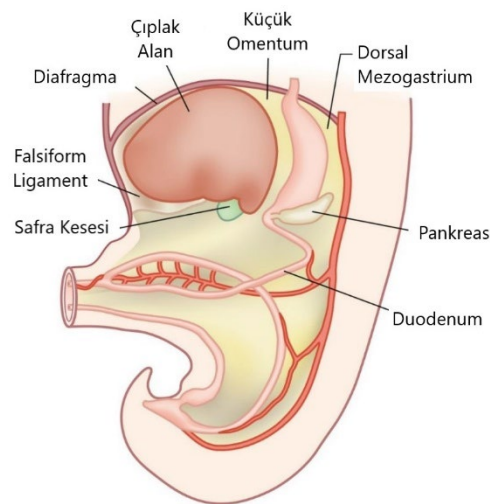
TZP' nin yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş olan TS modelinde, sarılığa bağlı klinik ve histopatolojik bulguların iyileşmesi üzerinde, TZP' nin etkisinin incelenmesi bu çalışmada hedeflenmektedir.

TZP' nin daha önceden farklı sistemler üzerinde antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiş ancak TS üzerine etkisi henüz araştırılmamıştır. Bu çalışmamızda TZP' nin sıçanlarda TS üzerine olumlu etkilerinin olacağını düşünmekle birlikte, olumlu etki saptandığı takdirde bunun hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğini de ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

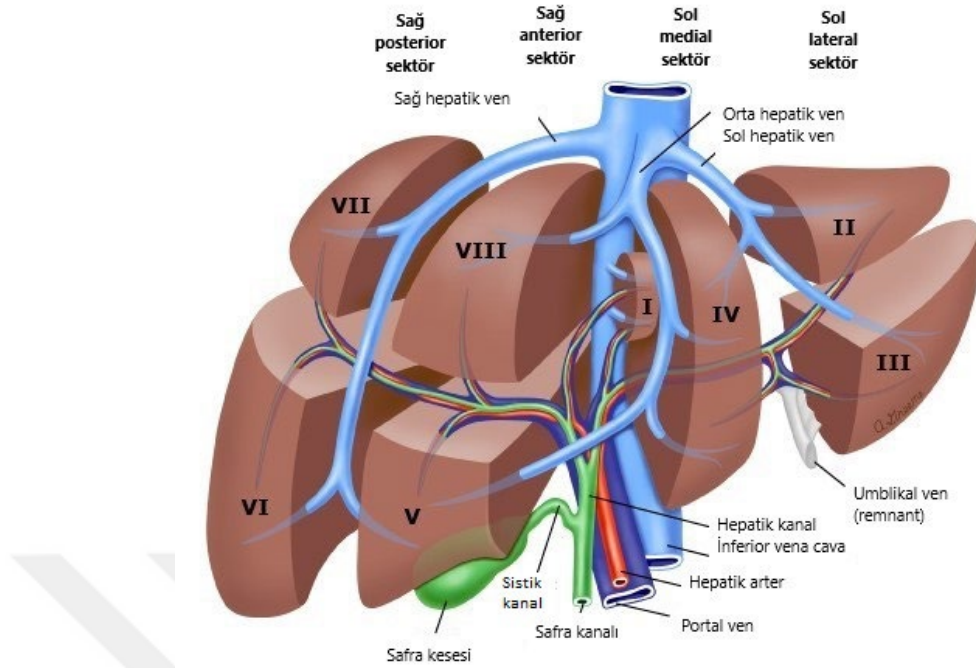
Gelişmekte olan karaciğer, safra yolları ve pankreas ile ortak bir progenitörü paylaşır. Embriyonik gelişim sırasındaki sinyaller, kardiyak mezenşim ve septum transversumdan iletilir. Karaciğer öncülü, endodermal epitel hücrelerinin bir tomurcuğu olarak bilinen hepatik divertikül veya karaciğer tomurcuğu olarak gebeliğin üçüncü haftasında oluşmaya başlar. Hepatik divertikül ile gelecekteki duodenum arasındaki bağlantı, safra kanalını oluşturmak için daralır ve safra kanalının bir çıkıntısı safra kesesini ve sistik kanalı oluşturur. Karaciğer hücreleri kordonlar oluşturur ve vitellin ve umbilikal damarlarla karışarak karaciğer sinüzoidlerini oluştururlar. Aynı zamanda, hematopoetik hücreler, Kupffer hücreleri ve bağ doku septum transversum mezoderminden oluşur. Septum transversum' un mezodermi, karaciğeri karın duvarının ön yüzüne ve ön bağırsağa bağlar. Karaciğer karın boşluğuna doğru çıktıkça, bu yapılar ince zarlar halinde gerilir ve sonunda falsiform ligaman ve küçük omentumu oluştururlar. Gelişmekte olan karaciğerin yüzeyindeki mezoderm, visseral peritonu oluşturur, sadece üst kısımda (gelecekteki diyafragma) karaciğer ile mezoderm arasındaki temasın sürdüğü ve visseral peritondan yoksun kalan çıplak bir alan oluşur. (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Yaklaşık 36 günlük bir embriyonun şematik görüntüsü (6).

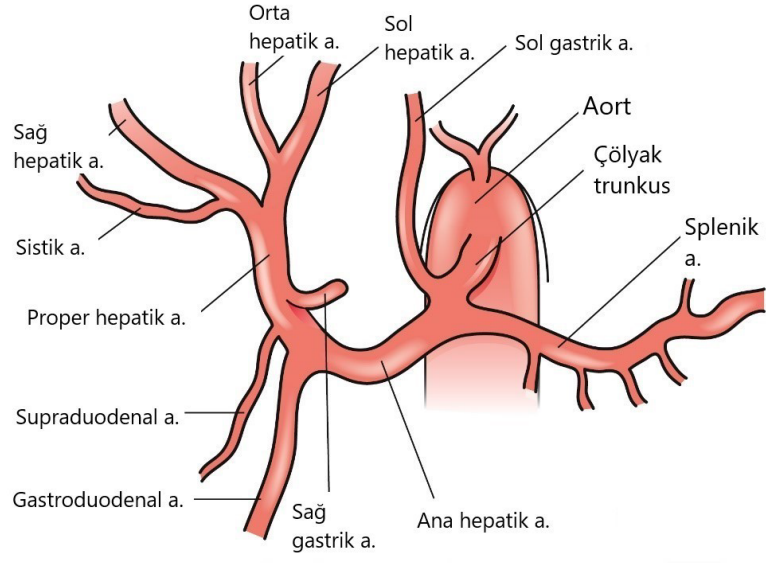
İnsan vücudunun en büyük organı olan karaciğer, ağırlığı 1200-1600 gram arasında değişen bir organdır ve vücut ağırlığının %2 kadarını oluşturur. Vücuttaki en büyük bez olarak görev yapan karaciğer, karın boşluğunun üst kısmında sağ hipokondrium' dan epigastrium' a kadar uzanmakta olup, peritonla örtülüdür ve bu örtü “Glisson Kapsülü” olarak adlandırılır. Peritonla örtülmemiş olan ve vena cava inferior (VCI) ve hepatik venlere (HV) yakın olan bölge, karaciğerin arka-alt kısmında bulunur ve çıplak alan (bare area) olarak adlandırılır. Karaciğerin iki farklı yüzü vardır: visseral yüz ve diyafragmatik yüz. Üstte diyafragmayla komşu olan yüze diyafragmatik yüz denir. Özofagus, mide, duodenum, hepatik fleksura, transvers kolon ve safra kesesi gibi organlarla komşu olan ise visseral yüzdür. (7). Sağ ve sol koroner ligamanlar Glisson Kapsülü' nün diyafragma yapışması ile oluşur. Sağ ve solda birleşen koroner ligamanlar, sağ ve sol triangüler ligamanları meydana getirir. Falsiform ligaman, önde birleşen koroner ligamanların oluşturduğu bir yapıdır. Ligamentum teres hepatis ise falsiform ligaman içinde yer alır ve genellikle embriyolojik dönemden kalan sol umblikal venin kalıntısından oluşan bir bağıdır (8).

1957' de Fransız cerrah Couinaud tarafından geliştirilen fonksiyonel anatomi tanımı, karaciğerin segmental anatomisi konusunda en uygun yaklaşımdır. Bu tanım, portal ven (PV) ve major HV' lerin dağılımını temel alır. Cantlie çizgisi, orta HV' nin bulunduğu çizgi olarak belirlenmiş olup, bu çizgi karaciğeri ana fissürle iki ana loba böler. Sağ karaciğer lobu, sağ HV' nin yer aldığı portal fissürle anterior (anteromedial) ve posterior (posterolateral) sektörlere ayrılır. Hepatik fissürler, sağ karaciğerdeki sektörleri inferior ve süperior segmentlere böler. Sol karaciğer ise sol portal fissürle medial ve lateral sektörlere ayrılır. Bu düzenlemeye göre, sol medial sektör segment 4'den, sol lateral sektör segment 2 ve 3' ten, sağ anterior sektör segment 5 ve 8' den, sağ posterior sektör ise segment 6 ve 7' den oluşur (9) (**Şekil 2.2**).

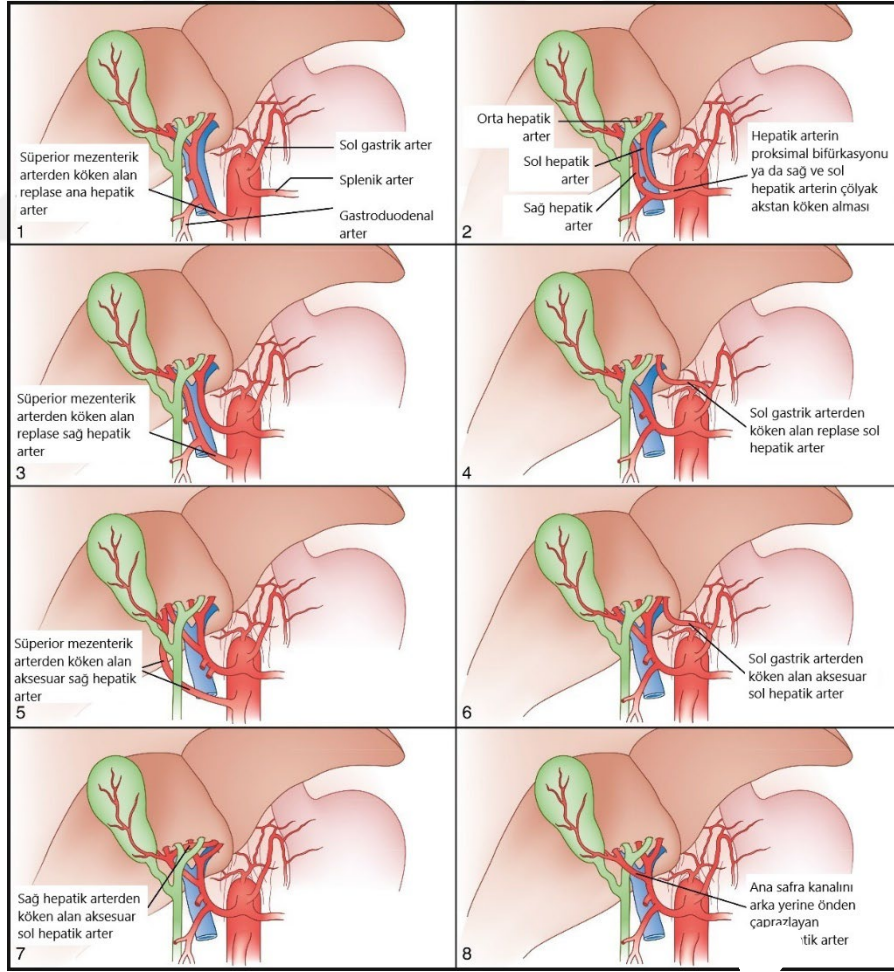


Şekil 2.2: Karaciğerin segmental anatomik görüntüsü (10).

Karaciğerin kan akımının yaklaşık olarak %70' i ve oksijenin %40' ı PV' den gelirken, kanlanmanın ve oksijenin geri kalan kısmı hepatic arterden sağlanır (11). Superior mezenterik ven ile dalak veninin birleşiminden PV oluşur. Karaciğerin hilus' unda PV, sağ ve sol dallara ayrılır ve karaciğerin sağ ve sol loblarının temelini oluşturur (12). Couinaud' un şemasına göre sağ ve sol PV' lerin 8 venöz bölgeyi beslemek için dallandığı kabul edilse de sağ ve sol PV' lerin ikinci dereceden dallarının sayısında geniş bir varyasyon bulunmaktadır (13). Ana hepatic arter genellikle truncus coeliacus' tan çıkar (**Şekil-2.3**), ancak bazen superior mezenterik arterden de çıkabilir. Yaygın bir varyasyon ise, sol hepatic arterin sol mide arterinden ve sağ hepatic arterin superior mezenterik arterden çıkmasıdır (12) (**Şekil-2.4**). Karaciğer içinde, arterler, PV' ler ve safra kanalları, Glisson kılıfı adı verilen bir fibröz kılıf ile çevrilidir, ancak HV' lerde bu yapı bulunmaz (14). Üç büyük HV, VCI' ye dökülür, ancak %60 ila %85'lik bir oranda, sol ve orta venlerin birleşerek VCI' ye tek bir ven olarak girdiği görülür (12,14).



Şekil 2.3: Çölyak trunkus ve ana hepatik arterin anatomik görüntüsü (15).



Şekil 2.4: Hepatik arterin varyasyonları (16).

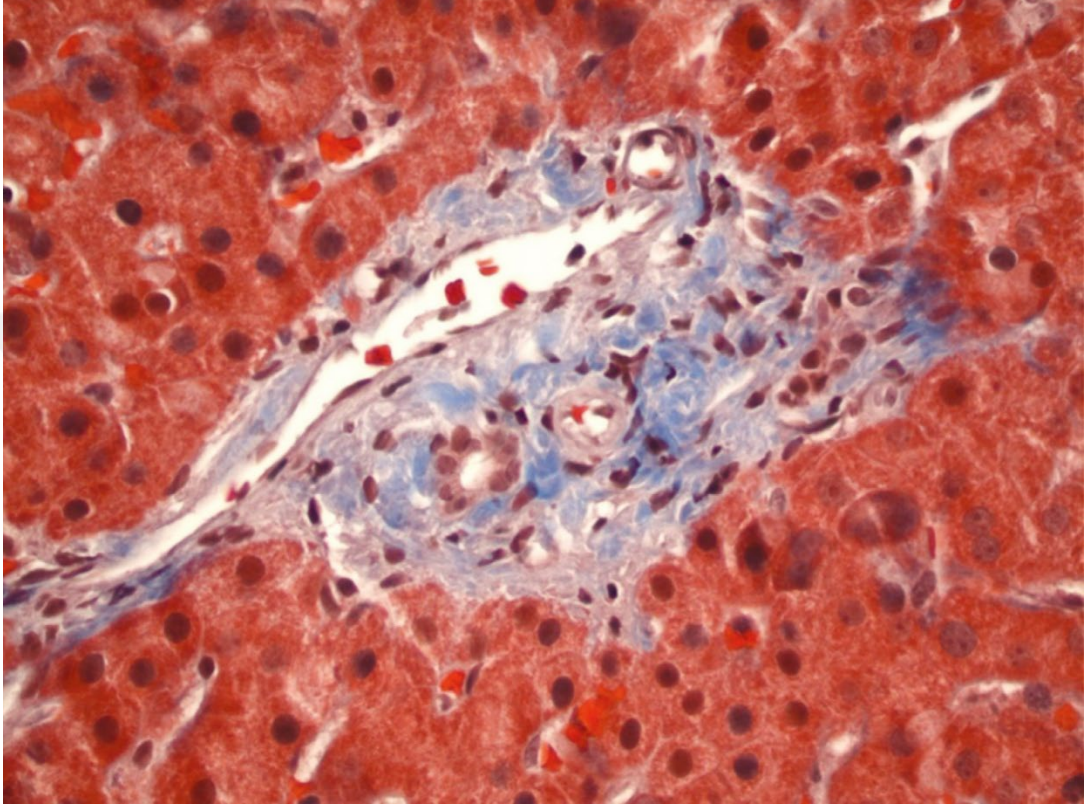
Karaciğerin konveks yüzeyinden gelen yüzeysel lenfatikler, sağ veya sol triangüler ligaman ve falsiform ligaman boyunca ilerlerler. Diafragmayı geçerek prekardiyak, superior frenik ve juxtaoesofageal lenf nodlarına giriş yaparlar veya sağ veya sol inferior frenik arter boyunca çölyak lenf nodlarına doğru ilerlerler (17). Karaciğerin visseral yüzeyinden gelen yüzeysel lenfatikler çoğunlukla hepatik lenf nodlarına doğru ilerler. Kaudat lobtan lenf damarları prekaval nodlara dökülür. Derin lenfatik damarlar, karaciğerden porta hepatis'te ayrılarak epiploik foramen ve superior pankreatik nodlara dökülürler. Karaciğerden çıkan lenfatik damarlar, HV'lerle birlikte VCI duvarında devam ederler (17).

Karaciğerin sinirsel kontrolü, sempatik liflerin medulla spinalis' in T9 ve L1 seviyesinden gelmesinin yanı sıra parasempatik liflerin vagus sinirinden gelmesiyle sağlanmaktadır. Sempatik veya adrenerjik sinir lifleri, kan damarları etrafında yoğun bir pleksus oluşturur ve daha az ölçüde safra kanallarını çevreler. Pleksustan gelen lifler, çoğunlukla periportal bölgede sinüzoidal duvarlar boyunca seyir gösterdikleri lobülleri uyarır (18). Parasempatik (kolinerjik) lifler, PV, hepatik arter ve venin intrahepatik ve ekstrahepatik dallarını innerve eder, ancak sadece çok az lif hepatositlere ulaşır (18). İntrinsik sinirler, karaciğer kanlanması, glukoz ve lipid metabolizmasını, besin alımını ve karaciğer rejenerasyonunu düzenler (19).

Karaciğerin çoğunluğu, sinüzoidlerle ayrılmış, plakalar halinde düzenlenmiş veya muralium olarak adlandırılan 1 veya 2 hücre kalınlığında hepatositlerden oluşur. Hepatositler, sıkça çift çekirdekli olarak, değişen boyutlarda yuvarlak çekirdeğe sahip çokgen hücreler olarak görünür. Parankim içindeki portal yollar, bir triad oluşturan hepatik arteriyol, PV ve safra kanalının bir dalını içerir; bu triada sinir lifleri ve lenfatik damarlar eşlik eder (**Şekil 2.5**). Terminal hepatik arteriyoller ve terminal portal venüller portal yollardan kaynaklanır ve kanı sinüzoidlere ulaştırır. Sinüzoidler, karışık portal ve arteriyel kanı terminal hepatik venüllere (THV) (aynı zamanda santral venler (SV) olarak bilinir) yönlendirir. Bu THV'ler, sublobüler venlere, ardından HV'lere ve sonunda VCI'ye dökülür.

Terminal portal venüller, kas tabakasına sahip olmadığı için sinüzoidlerle kesişim yerlerinde giriş sfinkterine sahip değildir; ancak bu kesişimdeki büyük endotel hücreleri çekirdeklerini lümen içine iterek ve kasılma yoluyla sinüzoidlere kan

akışını kontrol eder. Benzer bir sfinkter benzeri aktivite, sinüzoidin terminal HV' ye bağlandığı yerde meydana gelir. Terminal portal venüllerin aksine, terminal hepatik arteriyoller düz kas tarafından sarılıdır ve presinüzoidal sfinkterler oluşturabilme kapasitesine sahiptir (20).



Şekil 2.5: Portal Triad' ın görüntüsü (21).

Portal ven (sol üst) ve eşleştirilmiş arteriyol ve safra kanalı (ortada) içeren normal portal triad; safra kanalı portal sistemdeki arteriyolün solundadır. (Masson's Trichrome, $\times 200$.)

Sinüzoidal endotel hücreleri, kan ile hepatositler arasında bir bariyer oluşturan özelleşmiş endotel hücreleridir. Fenestraya sahip ve bir bazal membranı olmayan bu hücreler, nispeten "sızdıran" bir bariyer oluşturur (22). Fenestra boyutları lobül boyunca değişir (daha büyük fenestralar merkezi lobüler bölgeye doğru görülür) ve fizyolojik durumlara göre dinamik olarak değişir. Endotel hücreleri ayrıca stellat hücre kontraktilitesinin parakrin düzenlemesi aracılığıyla sinüzoidal vasküler tonusu düzenler (22). Sinüzoidleri kaplayan Kupffer hücreleri, periportal bölgede daha çok sayıda bulunur, daha büyüktür ve daha fazla fagositik olarak aktiftir (11). Temel rolü, kandaki yaşlanmış kırmızı kan hücreleri ve toksik endojen ve eksojen maddeleri

temizlemektir (23). Kupffer hücreleri ayrıca LDL' i işler ve hepatosit protein sentezini, inflamatuvar mediatörleri ve hepatosit koruyucu prostaglandinleri yönlendiren lenfokin mediatörleri üretir (20).

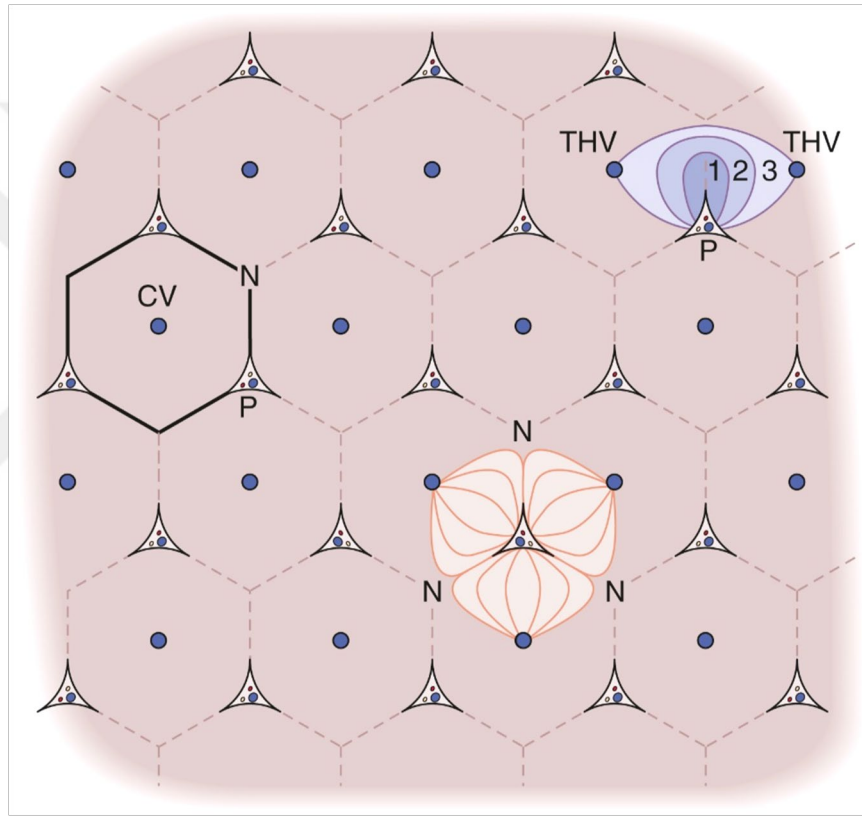
Hepatik stellat hücreleri, eski adıyla "Ito hücreleri" veya yağ depolayan hücreler olarak bilinen, istirahat halindeyken A vitamini depolamanın ana merkezi olan perisinüzoidal hücrelerdir (20). Sinüzoidal duvarı çevreler ve lümenin genişliğini düzenleyebilirler. Karaciğer iltihabı ve hasarında hepatik stellat hücreleri aktive olduğunda, desmin ve düz kas aktinini temsil eden ve ekstrasellüler matriksi sentezleyen miyofibroblastlara dönüşürler (11). Aktive olmuş hepatik stellat hücreleri, kronik karaciğer hastalıklarında karaciğer fibrozisinin ana etkenleridir.

Disse boşluğu olarak da bilinen perisinüzoidal boşluk, sinüzoidal zar ile hepatositlerin vasküler kutbunun arasında yer alır ve çok sayıda fenestrasyon aracılığıyla sinüzoidal alanla bağlantı kurar. Karaciğer iskeletini oluşturan tip I, III, IV ve V kollajenleri ve plazma içerir (20). Mall alanı, periportal hepatositler ile portal bağ dokusu arasındaki bir alandır. Lenfatik sıvı, Disse boşluğunda birikir ve ardından lenfatik damarlara dökülmek üzere Mall alanına geçer (24) Lenfatik damarlar, portal alanlarda hepatik arter dalları ile ilişkili olarak bir ağ oluşturur (20).

Hepatositlerin bazolateral membranı sinüzoidde doğru iken, apikal membran ise safra kanaliküllerine doğru yer alır. Kanaliküller, safrayı Hering' in terminal kanallarına yönlendirir ve bu kanallar kısmen hepatositler ve kısmen kolanjiositler tarafından çevrilidir (25). Hering kanalları, portal traktın (PT) sınırlayıcı plağında son bulmayıp lobülün periportal bölgesine kadar uzanır. Hering kanalları, safra kanallarına bağlanır ve bu kanallar tamamen kolanjiositler tarafından kaplıdır (25). Kanallar daha sonra en küçük interlobüler safra kanallarına ulaşır. İnterlobüler safra kanalları ise septal safra kanallarına ve ardından hepatik safra kanallarına bağlanır. Histolojik incelemelerde küçük kanallar küboidal hücrelerle kaplı iken, daha büyük kanallar silindirik epitelyal hücrelerle kaplanmıştır.

Karaciğerin klasik lobülü, 1833' te Kiernan tarafından, merkezinde bir SV ve üç köşede PT' ler olan bir altıgen olarak tanımlanmıştır. Birçok bezin işlevsel biriminin merkezinde bir kanal bulunduğundan, Mall karaciğerin temel biriminin merkezinde

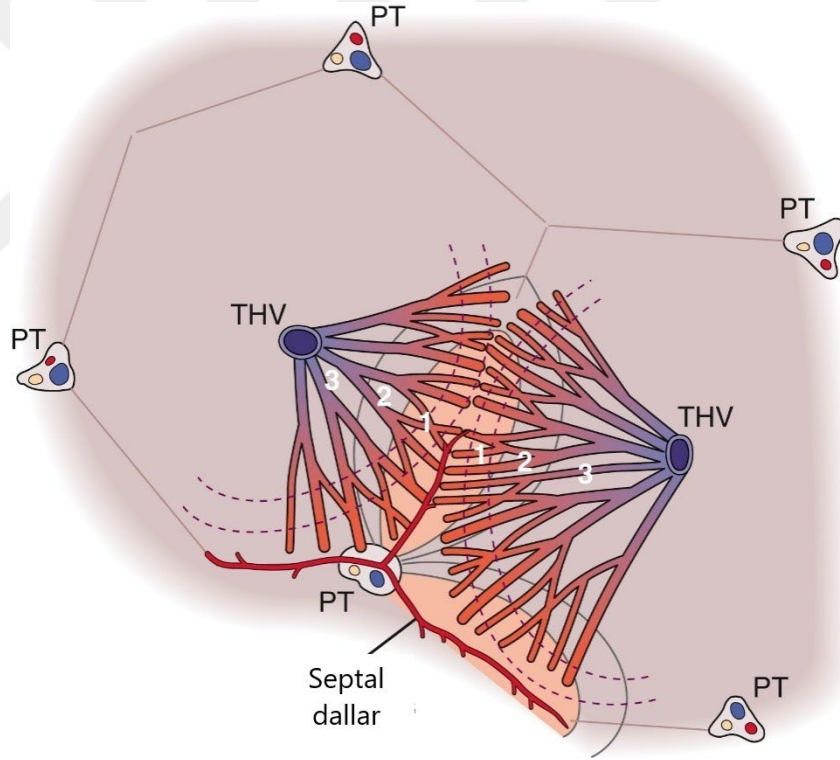
bir PT ve çevresinde SV' lerle tanımlandığı portal üniteyi tanımlamıştır. Karaciğer asinüsü ise, bu grup hepatositlere kan sağlayan terminal afferent portal ve arteriyel damarlar etrafındaki parankim olarak 1954' te Rappaport tarafından tanımlanmıştır. Asinüsün çevresinde, birkaç asinüsü boşaltan THV (SV) bulunur. Bu modelde, şu 3 zon bulunmaktadır: (1) yüksek oksijen içeriğine sahip kanla beslenen periportal bölge (zon 1); (2) ara bölge (zon 2); ve (3) oksijen içeriği nispeten düşük olan kan alan perivenüler bölge (zon 3) (17). Asinüs, köprü nekrozu ve fibrozis gibi lezyonların tanımını kolaylaştıran işlevsel ve yapısal birimdir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Karaciğer parankim yapısının şematik çizimi (21).

Solda, merkezinde santral ven ve 3 köşesinde portal trakt bulunan klasik hepatik lobül gösterilmiştir. Ortada, merkezinde portal trakt ve çevresinde santral venler ve düğüm noktaları bulunan portal ünite gösterilmektedir. Sağda, merkezi terminal afferent damar (portal traktta) olan ve çevresi terminal hepatik venül veya santral ven tarafından boşaltılan karaciğer asinüsü bulunmaktadır. Portal trakttan terminal hepatik venüllere uzanan 1, 2 ve 3. zonlar gösterilmektedir. CV, Santral ven; N, düğüm noktası; THV, terminal hepatik venül; P, portal trakt.

1982 yılında, Matsumoto ve Kawakami, karaciğer parankim yapısını damarsal yapılanma temelinde tanımlayan bir görüş sunmuştur (26). Bu görüşe göre, hepatik ve portal venöz sistemler, kanı parankimden taşıyan ve oradan dönen bir iletim kısmı ile parankimal kısım olarak bölünmüştür. Portal ve hepatik venöz sistemlerin parankimal kısmı, iletim kısmının terminal dalları boyunca düzenli sıralar halinde ortaya çıkan küçük yan dallardan oluşur. Portal venöz dallar, hepatik venöz dallardan daha sık bölünerek, her bir hepatik venöz kanal için daha fazla sayıda portal venöz kanal oluşturur. Portal venöz sisteminin nihai dalları septal dallar olarak bilinir. Bu arada santral ven, aslında tek tek birbirine karşılık gelen bir giriş ünitesine bakan 6 ila 8 drenaj venülüdür. Bir septal dal tarafından beslenen ve bir HV dalı tarafından drene edilen konik hepatosit kümesi, bir "birincil lobül" oluşturur. Birkaç birincil lobül, klasik bir lobül oluşturur.

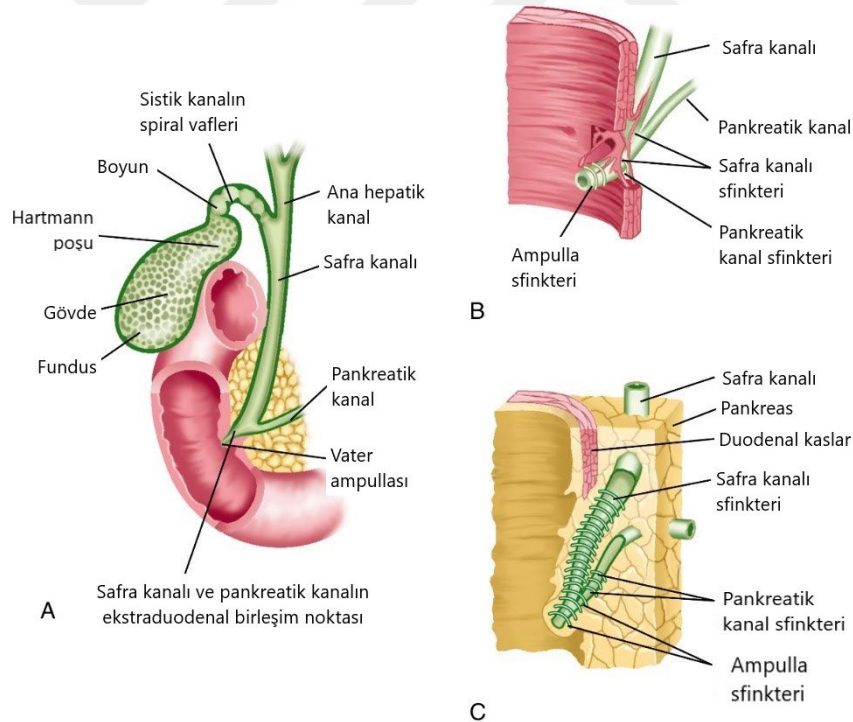


Şekil 2.7: Asinüs modelinin 3 bölgesindeki karaciğer kan akışını Matsumoto' nun karaciğer mimarisi konseptiyle karşılaştıran çizim (21).

Matsumoto' nun modeline göre, portal traktlara ve terminal afferent damarlara (septal dallar) bitişik olan sinüzoidler, hemodinamik olarak eş potansiyel olarak şekline bir perfüzyon cephesi (noktalı çizgiler) oluşturur. Bu model asinüsten ziyade klasik lobül kavramına uygundur. Hepatik asinüsün 1, 2 ve 3. zonları etiketlenmiştir. PT, Portal trakt; THV, terminal hepatik venül.

Matsumoto ve Kawakami ayrıca, septal dallardan kaynaklanan sinüzoidlerin PT yakınında yatay bir yöne sahip olduğunu, ardından santral vene doğru radial döndüğünü ve bu yatay sinüzoid yatağının, asinüs modeli tarafından belirtilen lineer beslemeden farklı olan bir orak şeklinde "ön giriş" kısmı oluşturduğunu belirtmiştir (26) (**Şekil 2.7**). Orağın konveks yüzü bir PT' ye dayanırken, kolları septal dallar boyunca uzanır ve içbükey yüzü santral vene bakar. Bu düzenleme, klasik lobülün periferik bölümünü, birbirine bitişik orak şeklindeki alanlardan oluşan ve bu orak şeklindeki alanlar tarafından sınırlanan merkez lobüler kısmı içeren iki bölgeyi tanımlar. Karaciğer enzimlerinin immünohistokimyasal çalışmaları, PT' ler ile terminal afferent damarlar etrafında devamlı bir periportal ağın varlığını ve merkezi ven etrafında belirgin bir konsantrik perivenöz alanı destekleyerek, karaciğer mimarisinin asinüs modelinden ziyade klasik lobülü daha çok andırdığını göstermektedir.

2.2. Safra Kesesi, Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi



Şekil 2.8: Safra kesesi, ekstra hepatic safra yolu ve koledokoduodenal kavşağın şematik gösterimi (27).

A: Genel görünüm; B: Ana safra kanalı ve pankreatik kanal; C: Oddi sfinkterinin birleşim yeri.

2.2.1. Safra Yolları Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

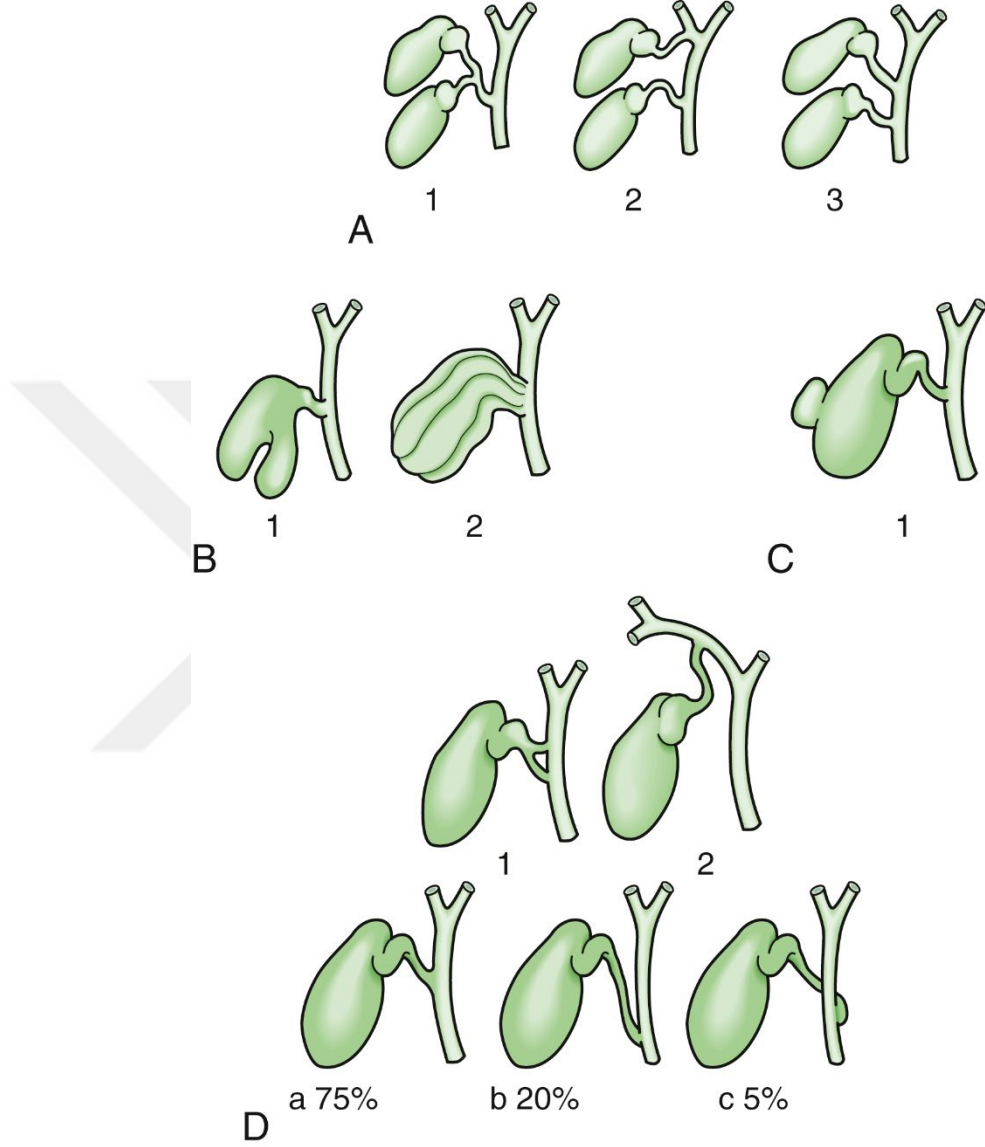
Safra yolları intrahepatik ve ekstrahepatik olarak ikiye ayrılır.

İntrahepatik safra yolları PV dalları etrafındaki ilkel hepatositlerden gelişir (28). Süreç, karaciğerin hilusuna yakın başlatılır ve ardından bir dizi yeniden şekillendirme aşamasıyla perifere doğru asimetrik olarak ilerler (29). Safra kanalı gelişimi sürecinde kolanjiyositler, bazal membranla ilişkilidir, bu durum sonucunda kolanjiyositlerin laminin ve tip IV kollajen gibi hücre dışı matriks bileşenlerinden morfojenik sinyaller aldığını öne sürülmektedir (30,31). PV dallarına yakın bir hepatosit halkası önce safra kanalı tipi hücrelere dönüşür. Benzer şekilde ikinci bir primitif hepasit tabakası dönüşüme uğrar ve PV etrafında her iki tarafı da safra kanalı epitelyal hücreleriyle kaplanmış bir dairesel oyuk oluşturur (32). Bu yarık lümenli çift cidarlı silindirik yapı, 9.gebelik haftasında tespit edilebilir. Böylece interlobüler ve intralobüler safra kanallarının tüm ağı, sınırlayıcı plakadan gelişir.

Ekstrahepatik safra yolları, safra kanalı (ortak safra kanalı), sistik kanal karaciğere ve ventral pankreasa yakın ventral özofagus bölgesinden köken alır ve ventral pankreas ile ortak bir köken paylaşır ancak karaciğerle ortak bir köken paylaşmaz. Ekstrahepatik safra yollarının gelişimi, intrahepatik safra kanallarının gelişiminden önce gerçekleşir.

Ortak safra kanalı 0,5 ila 2,5 cm uzunluğa sahip olan sol ve sağ hepatic kanalların birleşimi sonrası porta hepatis' ten ortaya çıkar (33) (**Şekil 2.8**). Vakaların yaklaşık %95' inde sağ ve sol hepatic kanalların birleştiği yer karaciğer dışındadır. Nadiren karaciğer içinde birleşirler veya sistik kanal sağ hepatic kanal ile birleşene kadar sağ ve sol hepatic kanallar birleşmez (33). Hepatic kanallar porta hepatis' ten ayrıldıkları için hepatoduodenal ligamanın iki seröz tabakası içinde yer alırlar. Hepatic kanallar komşu kan damarlarına bağlayan bu fibröz doku kılıfıyla çevrilidir. Yetişkinlerde, genellikle sağ tarafta bulunan sistik kanalla birleşerek, ana safra kanalını (ASK) (veya sadece safra kanalını) oluşturan hepatic kanal yaklaşık 3 cm uzunluğundadır. Sistik kanalın ortak hepatic kanalla birleşim açısı ve uzunluğu değişkendir. Sistik kanalın ASK' ye doğrudan girişi hastaların %70' inde gözlemlenir; alternatif olarak, sistik kanal safra kanalının önünden veya arkasından geçebilir ve

safra kanalının medial tarafında birleşmeden önce safra kanalının etrafında spiral çizilebilir (30). Sistik kanal aynı zamanda ASK'ye 5-6 cm kadar paralel seyredebilir ve duodenumun birinci bölümünün arkasından geçerek buraya girebilir (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Safra kesesi ve sistik kanal anatomisindeki varyasyonlar (15).

A: Bilobar safra kesesi. B: Safra kesesi septasyonları. C: Safra kesesinin divertikülü. D: Sistik kanal anatomisindeki değişiklikler. Sistik kanal ve ortak hepatik kanalın üç tip birleşmesi gösterilmektedir.

Sistik, ortak hepatik kanal ve ASK, bağırsağa benzer şekilde, mukoza, submukoza ve musküler tabakalara sahiptir (34). Bu kanalların duvarları tek katlı kolumnar epitelle kaplıdır. Mukus salgılayan tübüler bezler, mukoza yüzeyine açılan açıklıklarla submukozada düzenli aralıklarla bulunabilir. ASK, uzunluğu 6,0 ila 8,0 cm

olan, küçük omentum katmanları arasında uzanan bir yapıdır ve konumu itibariyle PV' nin önünde ve hepatic arterin sağında yer almaktadır (33). Genel olarak ASK' nin normal çapı 0,5-1,5 cm' dir (35). Ekstrahepatik safra kanalının duvarı, ara sıra düz kas liflerinin de katıldığı bir bağ dokusu tabakası tarafından desteklenir. Düz kas bileşeni yalnızca safra kesesinin boynunda ve safra kanalının alt ucunda belirgindir. Safra kanalı, pankreas başının arkasındaki bir çentikte duodenumun ilk kısmının arkasından retroperitoneal olarak geçerek duodenumun ikinci kısmına girer. Kanal daha sonra duodenal duvarın posterior medial yönünden eğik bir şekilde geçer ve Vater ampullasını oluşturmak için ana pankreas kanalına katılır (**Şekil 2.8**). Ampulla tarafından oluşturulan mukozal membran çıkıntısı, duodenal papilla adı verilen bir çıkıntı oluşturur. Hastaların %10 ila %15' inde safra ve pankreas kanalları duodenuma ayrı ayrı açılır. Safra kanalı, pankreas kanalıyla birleşmeden önce 0,6 cm veya daha az bir çapa kadar incelik (33).

Duodenum duvarında yol aldıkça, safra ve pankreas kanalları, Oddi sfinkterinin uzunlaşmasına ve dairesel düz kas tabakalarının kalınlaşması ile çevrelenir (34) (**Şekil 2.8**). Bu yapıda önemli bir değişkenlik olmakla beraber, genellikle birkaç bölümden oluşur:

1) Koledok sfinkteri, safra kanalının intramural kısmını, pankreas kanalına olan bağlantısından hemen önce çevreleyen dairesel kas liflerini içerir.

2) Pankreatik sfinkter, genellikle kişilerin üçte birinde bulunan ve pankreas kanalının ampulla ile birleşmeden önceki intraduodenal kısmını çevreleyen bir yapıdır.

3) Longitudinal fasiküller, safra ve pankreas kanalları arasındaki aralıkları geçen uzunlaşmasına kas demetlerini ifade eder.

4) Ampulla sfinkteri, ampulla Vater çevresindeki seyrek dairesel liflerin etrafını saran uzunlaşmasına kas liflerinden oluşur (35).

Koledok sfinkteri, safra kanalının lümenini daraltır ve bu şekilde safra akışını önler. Longitudinal fasiküllerin kasılması safra kanalının uzunluğunu kısaltır ve bu sayede duodenuma doğru safra akışını sağlar. Ampulla sfinkterinin kasılması ampullayı kısaltır ve ampullar katlantıları, bağırsak içeriğinin safra ve pankreas kanallarına geri akışını önlemek için yakınlaştırır. Ancak her iki kanal da ampullada

sona erdiğinden, sfinkterin kasılması safra kanalında safra reflüsüne neden olabilir (34).

İntrahepatik ve ekstrahepatik safra kanalları, oksijenlenme için arteriyel kan kaynağına oldukça bağımlıdır. Hepatik ve gastroduodenal arter dallarından gelen bir dizi vasküler ağ, safra kanalını besler (35). Kanalın duodenum üzerindeki bölümü, duvarı boyunca uzanan damarlar tarafından beslenir; bu damarlar retroduodenal arterden aşağıya ve sağ hepatic arterden yukarıya doğru gelir. Bu kan damarlarına zarar vermek, safra kanalında iskemi ve daralma ile sonuçlanabilir.

İntrahepatik ve ekstrahepatik safra kanallarının yüzeyi, birbirleriyle iletişim kuran ince venöz pleksuslar tarafından drene edilir. İnce bir retiküler epikoledokal venöz pleksus, safra kanallarının yüzeyinde bulunurken, bir parakoledokal venöz pleksus, safra kanallarının dışında ve kanallara paralel bir seyir izler (36).

Hepatic kanallar, sistik kanal ve ASK' nin proksimal kısımlarının lenf damarları, karaciğer hilusunda bulunan lenf bezlerine boşalır (35). Safra kanalının alt kısmından gelen lenfatikler ise pankreasın başı etrafındaki lenf bezlerine dökülür.

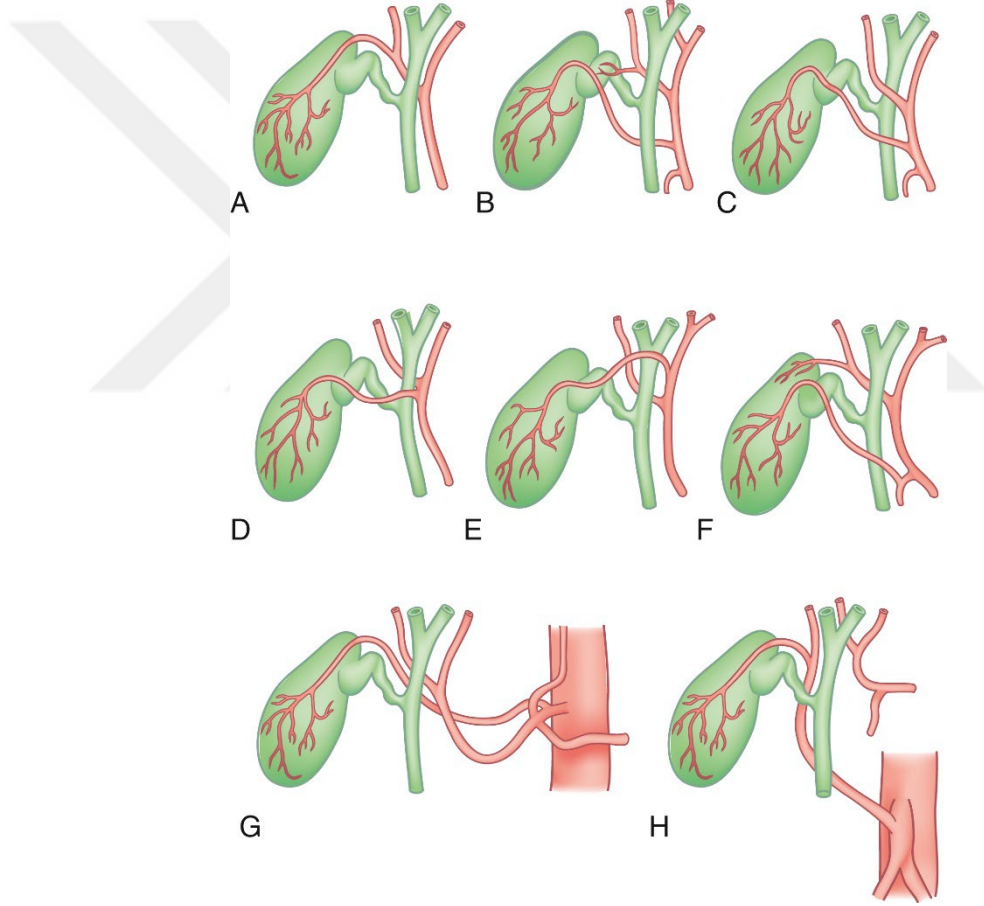
2.2.2. Safra Kesesi Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

Safra kesesi (**Şekil 2.8**) embriyolojik olarak ekstrahepatik safra yolları ve ortak safra kanalı gibi ventral özofagus bölgesinden köken alır ve ventral pankreas ile ortak bir kökenden gelir.

Safra kesesi, diyetteki lipidin çözünmesi için safra asitlerinin yüksek yoğunlukla ve kontrollü olarak duodenuma iletilmesini sağlayan bir depolama rezervuarıdır (35). Karaciğerin sağ lobunun alt yüzeyindeki bir fossada bulunur. Bu esneyebilen armut şeklindeki yapı yetişkinde 3 cm eninde ve 7 cm uzunlukta olup 30 ila 50 ml kapasiteye sahiptir (37). Safra kesesi ince bir kas tabakasına sahiptir ve düz kas hücreleri büyük ölçüde safra kesesinin çevresine yerleşmiştir. Safra kesesinin emici yüzeyi çok sayıda belirgin kıvrımla güçlendirilmiştir. Safra kesesinin ön kısmı, karaciğer kapsülü ile birleşen bir adventisya tabakası ile kaplıdır. Arka tarafında ve

apeksinde visseral periton ile kaplıdır. Safra kesesinin bölümleri fundus, gövde, infundibulum ve boyundur (37). İfundibulum, safra kesesi gövdesi ile boynu arasındaki daralan bir alandır. Hartmann poşu ise infundibulumun alt yüzeyinde, safra kesesinin boynuna yakın bir konumda oluşan bir çıkıntıdır.

Safra kesesi, boynundan sistik kanala bağlıdır ve bu kanal, ASK' ya boşalır (37) (**Şekil 2.8**) Yaklaşık 4 cm uzunluğa sahip olan sistik kanal, safra kesesinin yüzeydeki kolumnar epitel, lamina propria, musküler tabaka ve serozayla devamlılığını sürdürür. Safra kesesi boyununun mukoz membranı, Heister' in spiral valfini oluşturur ve bu valf, safra kesesine giriş ve çıkışı düzenlemede rol oynar.



Şekil 2.10: Sistik arterin anatomisindeki farklılıklar (15).

A: En yaygın anatomi. B: Çift sistik arter, biri arteria hepatica propria'dan kaynaklanmakta. C: Arteria hepatica propria'dan köken almakta ve ana safra kanalının önünden geçmekte. D: Sağ hepatic arterden çıkan ve ana safra kanalının önünden geçmekte. E: Sol hepatic arterden çıkmakta ve ana safra kanalının önünden geçmekte. F: Gastroduodenal arterden çıkan. G: Çölyak trunkustan kaynaklanmakta. H: Aberran sağ hepatic arterden kaynaklanmakta.

Safra kesesi, genel olarak sağ hepatik arter kaynaklı olan sistik arter tarafından beslenir (37). Arter, safra kesesinin boynu çevresinde seroza beslenmesini sağlayan yüzeyel bir dal ve kese duvarının iç katmanlarının beslenmesini sağlayan iki dal halinde bölünür. Sistik arterin kökeni ve seyirindeki değişiklikler yaygındır (**Şekil 2.10**).

Sistik ven, safra kesesi ve sistik kanallardan venöz drenaj sağlar ve genellikle PV ve nadiren doğrudan hepatik sinüzoidlere boşalır (35,37). Safra kesesinin lenfatikleri, Glisson kapsülünün lenf damarları ile ilişkilidir. Submukozal ve subserozal lenf damarları, kesesinin boyun kısmına yakın bir lenf bezi içine drene olur (35).

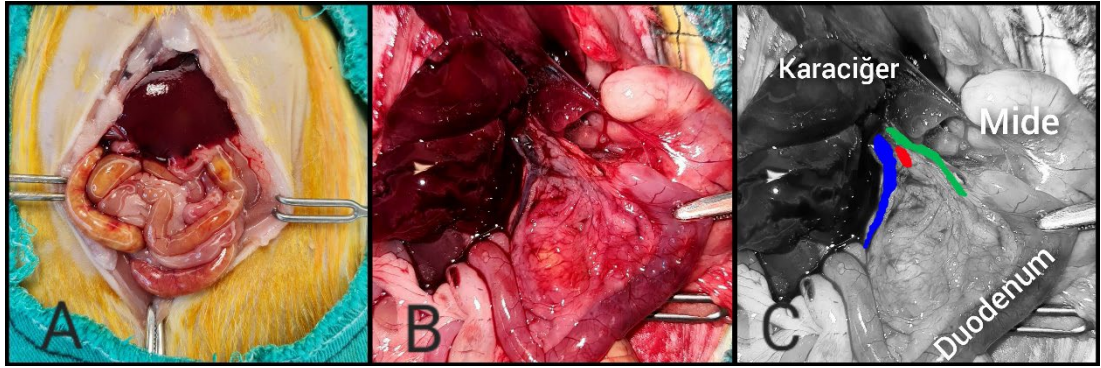
Safra kesesinin sempatik uyarımı çölyak akstan gelir ve sinir lifleri hepatik arter ve PV dallarıyla beraber seyrederek. Visseral ağrı, sempatik lifler aracılığıyla iletilir ve genellikle epigastrik, sağ subkostal ve sağ skapüler bölgelere yönlendirilir. Her iki vagus sinirinin dalları, muhtemelen safra kesesi motilitesinin düzenlenmesine katkıda bulunan parasempatik uyarımı gerçekleştirir (35).

Safra kesesi mukozası, çok sayıda çıkıntı ve katlantıya sahip ve bir kolumnar epitelyal hücre tabakası içeren bir yapıya sahiptir. Safra kesesi duvarı, mukozadan, lamina propriadan, musküler tabakadan ve serozadan oluşur (38). Musküler tabaka, uzunlamasına ve spiral düz kas liflerinin kilitli bir dizisi ile kaplı kalın bir tabakadır. Tubuloalveolar bezler, safra kesesinin boyun bölgesinde bulunur ve mukus üretimine katılır (37,38) Rokitansky-Aschoff sinüsleri, yüzey epitelinin iç katlanmaları olup, kas tabakası boyunca uzanabilir. Bu yapılar, büyük olasılıkla iç katlantılar içinde bakteri stazı ve çoğalmasına neden olarak enflamasyon kaynağı olabilir. Safra kesesinin karaciğer ile komşu yüzeyinde gözlemlenen ve doğrudan intrahepatik safra kanallarına açılan yapılara Luschka kanalları denir. Bu yapıların, bir gelişimsel anomaliyi temsil ettiği düşünülmekte olup, safra kesesi yatağında bulunduğu kolesistektomi sonrası safra sızıntısı kaynağı olabilir (37).

2.3. Ratlarda Karaciğer ve Safra Yolları Anatomisi

Ratlarda karın boşluğunda geniş yer kaplayan karaciğerde loblanma belirgin olarak görülür. Karaciğer median, sağ, sol ve kaudat olarak isimlendirilen dört ana loba ayrılır. Sağ lob diğer loblara göre daha büyüktür, iki loba ayrılır. Median lob teres hepatis'in geçtiği bir yarıkla ikiye ayrılır. Sağ lob böbrek üzerindedir. VCI, diafragmayı geçerek karaciğerin içerisinde ilerler ve toraksa girer.

Ratlarda safra kesesi bulunmamaktadır. Bu sebeple insana oranla yoğunluğu az, miktarı daha fazla safra oluştururlar. Safra kanalının insanlara oranla daha geniş olması nedeni ile az miktarda safra depolanabilmektedir. Üretilen safra, safra kanalcıkları yoluyla ortak safra kanalı ile pilorik sfinkterin yaklaşık 25 mm distalinden duodenuma akar. Ortak safra kanalının genişleyen son kısmına koledok kanalı da denmektedir. Kanal sonunda sfinkter bulunmadığından safranın duodenuma sürekli bir akışı mevcuttur. Pankreatik kanal direkt olarak koledok kanalına açılır. Böylece pankreas ve safra salgısı birbiriyle karışmış halde aynı yerden duodenuma dökülür (39). (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: Ratlarda hepatobiliyer sistem anatomisinin görüntüsü.

A: Abdominal boşluk genel görünüm. B-C: Batın açıldıktan sonra karaciğer üstte, ince bağırsaklar sağ lateral bölgeye alındıktan sonra, mavi renkle işaretli portal ven, kırmızı renkle işaretli hepatik arter, yeşil renkle işaretli ortak safra kanalının görüntüsü.

2.4. Safra Fizyolojisi

Günlük olarak 600-1000 ml kadar karaciğerden salgılanan safra, sindirim salgısı olmakla beraber aynı zamanda metabolik son ürünlerin atıldığı, kolesterol,

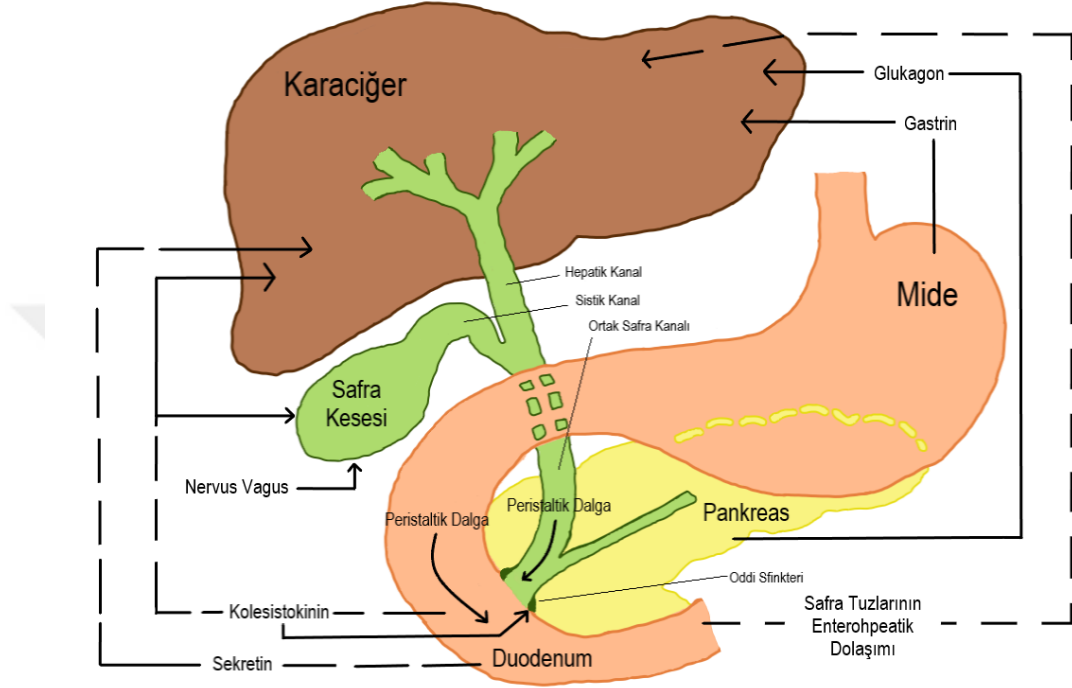
fosfolipid (lesitin), safra pigmentleri (bilirubin, biliverdin), safra tuzları ve plazma elektrolitlerini içeren bir sıvıdır (40,41). Hepatositlerde üretiminin ardından küçük safra kanaliküllerine salgılanarak buradan da interlobüler septumda yer alan terminal safra kanallarına ulaşır. Safra giderek genişleyen kanallardan geçer ve sonrasında hepatic kanala ve ortak safra kanalına ulaşır. Safra kanalı boyunca salgılanan aköz bir salgı, epitel hücreleri tarafından üretilir ve daha sonra safra ile birleştirilir. Bu salgı, sekretin uyarımıyla %100' e kadar artabilir ve içinde bikarbonat ile sodyum iyonları bulunur; bu, mide asidinin nötralizasyonunu sağlar (40).

Duodenum ve jejunum mukozasından salgılanan sekretinin yanı sıra, glukagon, kolesistokinin (CCK), vazoaaktif intestinal peptid (VIP) ve mide mukozasından kana salgılanan gastrin gibi daha az etkili hormonlar da safra kanalı epitelinde su ve sodyum bikarbonatın salgılanmasını tetikler (**Şekil 2.12**). Yağda çözünen vitaminler, adrenal korteks hormonları, diğer steroid hormonlar, prostaglandinler, bakır ve çinko gibi metaller, penisilin, sülfat, glukuronid ve glutatyon bileşikleri gibi ilaçlar ve toksinler de safra ile elimine edilir. (41,42).

Safra kesesinin ana görevi, ihtiyaç duyulduğunda kullanılmak üzere safrayı yoğunlaştırmak ve depolamaktır (43). Oddi sfinkteri kapalı olduğunda, karaciğerde sürekli olarak üretilen safrayı, ASK' den sistik kanal aracılığıyla safra kesesine yönlendirir (44). ASK' deki ortalama normal basınç 10-15 cmH₂O arasındadır. Sindirimin gerçekleşmediği ve Oddi sfinkterinin kapalı olduğu durumlarda bu basınç 30 cm H₂O'ya yükselebilir. Safra kesesi lümenindeki basınç ise 0 ile 16 cmH₂O arasında değişir (43).

Safra kesesi, öğün aralarında ve gece açlık durumunda safra asitlerini depolar. Maksimum hacmi 30-60 ml olmasına rağmen, yoğunlaştırarak 450 ml safrayı depo edebilir. Safra tuzları, bilirubin, kolesterol ve lesitin, safra kesesinde 5-20 kat daha yoğun bir şekilde bulunur (40). Elektrolitler arasında kalsiyum haricinde bikarbonat, klor ve sodyum devamlı şekilde safra kesesi mukozasından emilir, bu nedenle safra kesesi içerisindeki safrada yoğunlaşmazlar. Su ve iyonlar, epitel hücreleri aracılığıyla, hücreler arası kanallar ve bazal membran vasıtasıyla kapillerlere taşınır. Sodyum, aktif bir taşıma olan sodyum-potasyum pompası ile safra kesesi tarafından emilir. Bikarbonat ve klor, sodyumun aktif transportu tarafından açığa çıkan elektriksel

potansiyel sayesinde taşınır. Hücrelerarası alandaki artmış iyon konsantrasyonu osmotik basıncı artırarak suyun kese lümeninden absorbe edilmesini sağlar (43). Karaciğer safrasının pH değeri 8,0- 8,6 arasında iken, safra kesesi safrasının pH değeri 7,0- 7,4' e düşer, böylece safra asidik bir hal alır (Tablo 2.1).



Şekil 2.12: Karaciğerden safra üretimini, safra kesesi kasılmasını ve Oddi sfinkterinin gevşemesini tetikleyen faktörler.

Tablo 2.1: Safra kesesi ve karaciğer safralarının bileşimi (40).

	Safra Kesesi Safrası	Karaciğer Safrası
Su	92 g/dl	97,5 g/dl
Katı madde	%11	%3
Safra tuzları	6 g/dl	1,1 g/dl
Bilirubin	0,3 g/dl	0,04 g/dl
Kolesterol	0,6 g/dl	0,1 g/dl
Lesitin	0,3 g/dl	0,04 g/dl

Yağ asitleri	0,8 g/dl	0,12 g/dl
Ca⁺²	23 mmol/L	5 mmol/L
Na⁺	130 mmol/L	145 mmol/L
K⁻	12 mmol/L	5 mmol/L
HCO₃⁻	10 mmol/L	28 mmol/L
Cl⁻	25 mmol/L	100 mmol/L

Yemek alımını takiben (birkaç dakika içinde) vagus siniri, asetil kolin üreten enterik sinir sistemi lifleri ve gastrin sayesinde safra kesesinin aralıklı ve daha hafif kasılması, ayrıca Oddi sfinkterinin bir miktar gevşemesi sağlanır (45). Özellikle yağlı gıdaların duodenuma girişiyle safra kesesinin boşalması, yemekten yaklaşık 30 dakika sonra hızlanır (46). Bu boşalma esnasında safra kesesinin ritmik kasılmaları ve Oddi sfinkterinin gevşemesi önemli bir role sahiptir. Duodenuma amino asitler ve yağ asitlerinin girişi, duodenum mukozasından kana salgılanan CCK hormonunu tetikler. Bu hormon, safra kesesi kontraksiyonlarını başlatan en etkili uyarıcıdır. Sekretin ve vagal uyarı, CCK etkisini güçlendirebilirler (**Şekil 2.12**). Duodenum duvarındaki peristaltik kasılmaların ilerlemesi sırasında Oddi sfinkterinde güçlü bir gevşeme meydana gelir. CCK ve safra kesesi kontraksiyonlarıyla meydana gelen peristaltizmin Oddi sfinkterine iletilmesi de gevşemeye katkıda bulunur (**Şekil 2.12**). Sindirimin ilk saatinde safra kesesi, içerisindeki safranın büyük bir kısmını boşaltır ve sindirim süreci boyunca kasılı kalmaya devam eder. Bu sayede karaciğer safrası, sindirim süresince safra kesesine ulaşmadığı için depolanmaz. Kesenin epitelinden salgılanan müsin, kese içerisindeki safrasının viskozitesini artırır (47).

Normal bir safra akışının gerçekleşebilmesi için ekstrahepatik safra yolu basıncı 10-15 cmH₂O arasında olmalıdır. Basınç 30 cmH₂O'nun üstüne çıktığı zaman karaciğerden safra salgılanması engellenir. Basınç yükseldikçe, özellikle kolesterol olmak üzere safra tuzları ve fosfolipitlerin karaciğerden salınımında azalma olur (48).

2.4.1. Safra Salgısında Bulunan Maddeler

1) Safra Tuzları:

Safra tuzları, kuru safra ağırlığının yarısını meydana getirir. Hepatositler safra asitlerini kolesterolden kolik asit ve kenodeoksikolik asit olarak iki formda üretir. Karaciğerde üretilen kolik asit ve kenodoksikolik asit, primer safra asidi olarak bilinir ve bağırsakta bakteriler tarafından deoksikolik aside ve litokolik aside (sekonder safra asitleri) dönüştürülür (49)

Safra asitleri, glisin ve taurin ile birleşerek konjuge safra asitlerini meydana getirir. Bağırsak bakterileri safra asitlerinin bazılarını dekonjuge eder, bu nedenle bağırsaklarda konjuge ve dekonjuge safra asitleri bulunur. Sindirim kanalında safra asitlerinin çoğu sodyum ve kalsiyum katyonlarıyla birleşerek safra tuzlarını oluşturur (50).

Safra tuzlarının bağırsakta önemli iki etkisi bulunmaktadır (40). İlk olarak, yağ partiküllerinin emülsifiye edici etkisidir. Bu etki aynı zamanda yüzey gerilimini düşürerek yağ globüllerinin küçük parçalara ayrılmasına neden olan deterjan etkisi olarak da bilinir. Safra tuzları ile fosfolipitlerin nonpolar bölgeleri, yağ damlacığının nonpolar iç kısmıyla birleşirken, polar uçları ise suyla temas halindedir. Bu şekilde, lipid damlacıkları emülsifiye edici bu maddelerle kaplanarak birbirlerini itmeleri sağlanır ve birleşmeleri engellenir. İkincisi miçel adındaki küçük kompleksler oluşturarak lipidlerle etkileşir. Safra tuzları, belirli bir konsantrasyonun (kritik miçel konsantrasyonu) üstüne çıkmasıyla, miçelleşme eğiliminde olup moleküler yapılarını miçellerin içine entegre ederler (51). Safrada genellikle safra asitleri, kritik miçel konsantrasyonunun üzerinde bulunmaktadır. Miçellerin çapı yaklaşık 3-6 nanometre arasında değişir ve her bir miçel içinde yaklaşık 30 adet kadar safra tuzu bulunmaktadır (52). Miçellerin çözünürlükleri, safra tuzlarının taşıdığı elektriksel yük nedeniyle artar; polar gruplar negatif yüklüdür ve dışarı yönde uzanım gösterirler.

Silindirik disk şeklindeki miçellerin dış yüzeyi suyu seven (hidrofilik), iç çekirdek kısmı suyu iten (hidrofobik) özellik gösterir. Çekirdek kısımda, kolesterol, serbest yağ asitleri, monogliserit bulunurken, fosfolipitlerin hidrofilik baş kısımları dışta, hidrofobik kuyruk kısımlarıysa merkeze doğru olacak şekilde düzenlenir.

Miçeller aynı zamanda safradaki kalsiyum iyonlarını da bağlar. Lipidler, miçellerden ince bağırsak mukoza hücrelerinin fırçamsı kenarına pasif difüzyon yoluyla kolayca geçip emilirler. Bu sayede safra tuzları, yağların taşınmasına katkıda bulduktan sonra bağırsak içeriğine geri dönerler. Safra tuzlarının yağ emilimindeki etkileri nedeniyle yağda çözünen vitaminlerin absorbe edilmesinde önemli bir rol oynar. Safra tuzları olmadığı takdirde, lipidlerin %40' ı dışkı yoluyla atılır.

Safra tuzlarının büyük bir kısmı, %90- 95' i, ince bağırsaklardan difüzyon ve genellikle terminal ileumda aktif taşıma ile emilir. Ardından, portal sistemdeki kana geçer ve neredeyse tamamı venöz sinüsler aracılığıyla hepatositlere ulaşarak safrayla salgılanır. Bu sürece safra tuzlarının enterohepatik dolaşımı adı verilir (50). Hem primer hem de sekonder safra asitleri, konjuge veya dekonjuge formlarıyla hepatositler tarafından alınır ve yeni sentezlenen safra asitleriyle birlikte safra kanaliküllerine iletilir. Günlük toplam 2-4 gram civarındaki safra asidi havuzu, genellikle günde ortalama 6-8 kez dolaşıma girer. Bu dolaşım miktarı, yemek büyüklüğü ve sıklığına bağlı olarak değişir. Bir günde kaybedilen safra asidinin yaklaşık %20' si dışkıyla atılır ve kaybedilen bu miktar karaciğer hücreleri tarafından yeniden üretilir. Her gün yaklaşık 1-2 gram safra asidi üretilir (53). Enterohepatik dolaşımdaki safra asitleri, karaciğerden günlük safra asidi salgılanmasının artmasını sağlar (**Şekil 2.12**). Bununla birlikte, safra asitleri ile karaciğerden safra asidi ve kolesterol sentezi arasında negatif geribildirim etkisi bulunmaktadır. Ayrıca, sekretin, glukagon, CCK ve gastrin hormonları da safra asidi salgılanmasını artırır. Koleretik etki, safra salgılanmasını artıran etkiyi ifade eder ve bu etkiye sahip maddeler koleretikler olarak adlandırılır.

Duodenum mukozasından kana salgılanan CCK ile safra asitleri arasında negatif geri bildirim mekanizması bulunmaktadır. Bu durum, safra ve pankreas salgılarının kontrolüne katkı sağlar. Aynı şekilde, safra asitleri ile bağırsak mukoza hücrelerindeki kolesterol üretimi arasında da negatif geri bildirim mekanizması bulunmaktadır. Safra asitleri, kolonda suyun ve elektrolitlerin geri emilimini engellerken motiliteyi de artırır (53).

2) Kolesterol:

Safra tuzu oluşumunda bir yan ürün olarak bulunan kolesterol günlük olarak 1-2 gram safra ile salgılanmaktadır. Genellikle lesitin ve kolesterol suda çözünmez, ancak safra tuzları ile oluşturulan miçeller içerisinde çözünebilirler. Lesitin, kolesterolün miçellerde çözünen miktarının artmasını sağlar. Normal şartlarda, kolesterol, safra asidi ve fosfolipit konsantrasyonu belirli bir seviyede oldukça miçeller stabil bir yapı sergiler. Ancak bu maddelerden herhangi birinin konsantrasyon oranında değişim olursa kolesterol çökebilir.

Safradaki kolesterol miktarı, yağ metabolizmasının bir ürünü olduğu için diyetteki yağ miktarıyla doğrudan bağlantılıdır. Uzun dönem yüksek yağ içeriğine sahip besinleri tüketen bireylerde safra kesesi taşı oluşma riski artabilir (54).

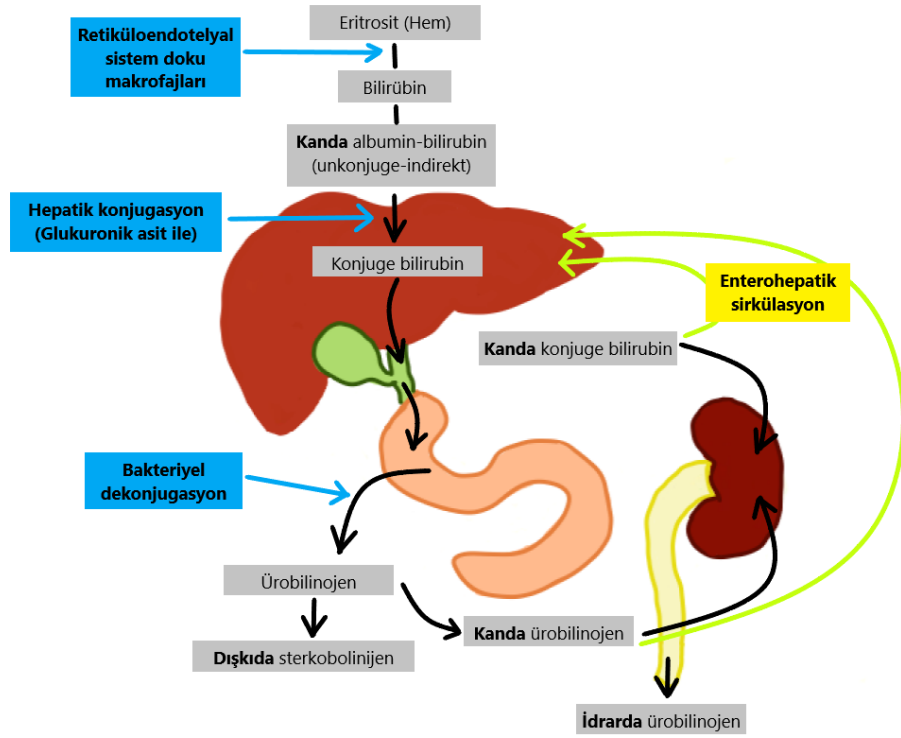
3) Bilirübin:

Yetişkinlerde normal serum bilirübin konsantrasyonu 1 ila 1,5 mg/dl' nin altındadır (55). Bilirübin, hem' in parçalanmasıyla üretilen bir tetrapirrol bileşiğidir. Sağlıklı bir yetişkinde her gün ortalama 4 mg/kg bilirübin üretilir. Bilirübünün çoğu (%70-80) yaşlanmış eritrositlerden salınan hemoglobinin katabolizmasından kaynaklanır. Bilirübünün geri kalan %20 ila %30'u esas olarak hepatositlerde hem içeren diğer proteinlerin (örn. katalaz, sitokrom oksidazlar) parçalanmasından kaynaklanır. Karaciğer dışı dokularda diğer hemoproteinler de (örneğin miyogloblin) bulunmasına rağmen bunların dönüşüm hızı düşüktür (56).

Eritrositlerin 4 ay kadar süren ömrü sona erdiğinde, hücre membranları parçalanır ardından ortaya çıkan hemoglobin, doku makrofajlarınca fagosite edilir. Hemoglobin, başlangıçta globin ve hem olmak üzere iki bölüme ayrılır. Hem halkası daha sonra açılarak serbest demir, transferin ve biliverdin oluşur ve bu bileşenler kan içinde taşınır. Biliverdin, kısa sürede serbest bilirübine indirgenir ve makrofajlar tarafından plazmaya atılır. Serbest bilirübin, albüminle hızlı ve sıkı bir şekilde bağ oluşturur ve bu şekilde kanda taşınır. Bu, konjuge bilirübünden ayırmak amacıyla plazma proteinine bağlı olmasına rağmen serbest bilirübin olarak adlandırılır. Birkaç saat içerisinde, serbest bilirübin hepatosit membranları tarafından emilir. Karaciğer hücrelerinin içerisinde, plazma albümininden ayrılarak ve hızla konjuge hale gelir. Bilirubinun glikuronik asitle birleşmesi, glikuronil transferaz enzimi tarafından

sağlanır ve suda çözünen bilirubin glukuronatı oluşturur. Bilirubinün %10' u çeşitli maddelerle birleşirken, %80' i bilirubin glikuronatı, %10' u bilirubin sülfatı oluşturur. Bilirubin glikuronat, hepatositlerden aktif taşıma yoluyla safra kanalcıklarına salgılanırken, bir kısmı da kana geçerek albümine bağlanır. Plazma bilirubinün büyük bir kısmı genellikle serbest bilirubin ve daha az miktarda konjuge bilirubinden oluşur.

Bağırsaklardan dolaşıma geçen konjuge bilirubinün yaklaşık %50' si bakterilerce ürobilinojene dönüştürülür. Bağırsak mukozası, konjuge bilirubine göre nispeten geçirimsiz olsa da ürobilinojene de geçirgen özelliktedir. Ürobilinojenin bir bölümü bağırsak mukozasından kana geri emilirken, büyük bir çoğunluğu ise karaciğerden tekrar bağırsağa salınır. %5 kadarı ise böbrek yoluyla idrara atılır ve hava ile temas ettiğinde ürobiline oksitlenir. Dışkıdaki sterkobilinojen de oksijenle etkileşime girerek sterkobiline dönüşür (57) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13: Bilirubin metabolizması

2.5. Sarılığın Sınıflandırılması

Serum bilirubin seviyeleri, bilirubin üretimi ile hepatobiliyer klirensi arasındaki dengeyi yansıtır. Bu süreçler arasındaki dengesizlik sarılığa yol açabilir. Pratik açıdan bakıldığında, hiperbilirubinemi ve sarılık ile ilişkili durumlar, bilirubin metabolizması bozuklukları, karaciğer hastalığı ve safra kanalı tıkanıklığı gibi geniş kategoriler altında sınıflandırılabilir (**Tablo 2.2**).

Tablo 2.2: Sarılığın Sınıflandırılması

Bilirubin Metabolizması Bozuklukları	
İzole Non-konjuge Hiperbilirubinemi	
Artmış üretim	Hemoliz, inefektif eritropoez, kan transfüzyonu, hematom rezorpsiyonu
Hepatoselüler alımın azalması	İlaçlar (örneğin rifampin, siklosporin)
Azalmış konjugasyon	Gilbert sendromu, Crigler-Najjar sendromu, yenidoğanın fizyolojik sarılığı, ilaçlar (örn. indinavir, atazanavir)
İzole Konjuge veya Karışık Hiperbilirubinemi	
Dubin-Johnson sendromu	—
Rotor sendromu	—
Karaciğer Hastalıkları	
Hepatoselüler Disfonksiyon	
Akut veya subakut hepatoselüler hasar	Viral hepatit, hepatotoksinler (örneğin, etanol, asetaminofen, Amanita phalloides); ilaçlar (örneğin izoniazid, fenitoin); iskemik hepatit; vasküler tıkanıklıklar; metabolik bozukluklar (örn. Wilson hastalığı); Gebeliğe bağlı hastalıklar (örneğin, gebeliğin akut karaciğer yağlanması, preeklampsi)
Kronik hepatoselüler hastalık	Viral hepatit; hepatotoksinler (örneğin etanol, vinil klorür, A vitamini); otoimmün hepatit; Çölyak hastalığı; metabolik bozukluklar (örn. Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, hemokromatoz, Wilson hastalığı, α 1 - antitripsin eksikliği)
Kolestazın Belirgin Olduğu Karaciğer Bozuklukları	
İnfiltratif hastalıklar	Mikobakteriyel enfeksiyonlar, sarkoidoz, lenfoma, granülomatöz polianjit gibi granülomatöz hastalıklar; amiloidoz, malign hastalıklar
Kolanjiyosit hasarı	Primer biliyer siroz; graft-versus-host hastalığı; ilaçlar (örn. eritromisin, trimetoprim/sülfametoksazol); kistik fibrozis

Çeşitli koşullar	İyi huylu tekrarlayıcı intrahepatik kolestaz; ilaçlar (örneğin östrojenler, anabolik steroidler); Total parenteral nütrisyon; Bakteriyel enfeksiyonlar; paraneoplastik sendromlar; gebelikte intrahepatik kolestaz
Safra Kanalı Tıkanıklığı	
Koledokolitiazis	—
Safra Kanalı Hastalıkları	
Enflamasyon, enfeksiyon	Primer sklerozan kolanjit, AIDS kolanjiyopatisi, hepatik arteriyel kemoterapi veya kemoembolizasyonun neden olduğu yaralanmalar, ameliyat sonrası darlıklar
Neoplazmalar	Kolanjiyokarsinom
Dıştan Bası	
Neoplazmalar	Pankreas karsinomu, metastatik lenfadenopati, Hepatoselüler karsinom, ampuller adenom veya karsinom, lenfoma
Pankreatit	—
Damarsal genişlemeler	Anevrizma, portal venin kavernöz dönüşümü (portal kavernoma)

2.5.1. Tıkanma Sarılığı

TS, karaciğer, bağırsak, böbrek, kardiyovasküler ve bağışıklık sistemini etkileyerek ciddi sorunlara yol açabilir. TS' nin neden olduğu histopatolojik değişimler, organizmada çoklu sistem disfonksiyonuna ve hayati tehlike arz eden bir takım komplikasyona neden olabilir.

Uzun süreli safra yolu tıkanıklıklarında, safra bağırsağa geçemeyince safra tuzları ve bilirübin birikir. Bu maddelerin sistemik ve hepatik fonksiyonlarda toksik etkileri vardır (58). Safra yollarının tıkanıldığı durumlarda safra basıncı artar ve karaciğerde çeşitli histopatolojik değişiklikler ortaya çıkar. Çocuk ve erişkinlerde bu durum uzun sürerse, siroz gelişimine neden olabilir. Safra yolunun akut olarak tıkanıldığı durumlarda en erken belirti kanaliküler kolestazdır ve bunu safra duktus hücrelerinin proliferatif yanıtı izler. Bu olay kronikleştikçe periduktal bağ dokusu artar ve fibröz tabakalar görülmeye başlar (59). Bu durum periportal ve periseptal bölgelerde değişikliklerle kendini gösterir, kolestazın devam etmesiyle karaciğerde yapısal anomaliler ve nodüler parankimal hiperplazi gelişir. Bu süreç, obstrüktif biliyer

sirozun tipik görüntüsünü oluşturur (59). Siroz patogenezinde temel patoloji olan karaciğer fibrozu, hücre dışı matriks proteinlerinin birikimiyle karakterizedir (60). Hasarlı karaciğerdeki Disse aralığındaki satellit hücreler tarafından üretilen hücre dışı matriks proteinleri, karaciğer fibrozuna neden olur. Üretilen hücre dışı matriks proteinleri arasında kollajen tip I, tip III, tip IV, fibronektin, laminin ve proteoglikanlar bulunur. Bu proteinler arasında en çok üretilenler kollajen tip I ve tip III' tür (61).

TS, bilirubin, safra tuzlarının metabolizması ve enterohepatik dolaşımdaki değişikliklerin yanı sıra, karaciğerin diğer fonksiyonlarında da önemli değişikliklere neden olmaktadır. Safra yolu tıkanıklığında, faktör 5, 7, 9, 10 gibi pıhtılaşma faktörlerinin, albümin, fibrinojen, protrombin, haptoglobülin, transferrin, seruloplazmin gibi yapıların sentezi azalır (62,63). Bağırsakta safra eksikliğine bağlı olarak lipidlerin %40' ı dışkıyla atılır ve lipid kaybı nedeniyle metabolik bozukluklar oluşmaya başlar (64). Yağların yeterince emilememesi nedeniyle yağda çözünen A, D, E, K vitaminlerinin metabolizması da etkilenir. A, D, E vitaminleri vücutta depo edilebilirken, K vitamini depo edilemez. Bu durum, K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerinin (faktör 2, 7, 9, 10) yetersiz sentezlenmesine ve ciddi pıhtılaşma bozukluklarına yol açar (65). Sitokrom P-450, granülsüz endoplazmik retikulumda bulunur. Karaciğerdeki işlevi son derece yüksektir ve detoksifikasyon işleminde önemli bir rol oynar. TS oluşturulmuş farelerde, hepatosit mikrozomlarından izole edilen sitokrom P-450 mikrozomal aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir (66).

Karbonhidrat metabolizmasında galaktoz ve fruktozun glukoza dönüşümü, glikojenin depolanması, glikoneogenezis ve birçok önemli kimyasal maddenin oluşum mekanizmasında bozulma meydana gelir.

Safra kesesi ve koledok normalde sterildir. Koledokolitiazis durumunda kültür pozitifliği %75-90 arasındadır. TS' ye sahip hastalarda bakteriyel çoğalmanın ardından süpüratif kolanjit gelişebilir. Süpüratif kolanjitte bakteriyeminin sık görülmesi nedeniyle yüksek bir mortalite oranı vardır. Süpüratif kolanjitte en çok rastlanan etken *Escherichia coli*' dir (67).

Portal kan akımındaki artışa rağmen, karaciğerin toplam kan akımı azalır. Safra yollarındaki basınç artışı, lenfatik ve venöz sistemde reflüye neden olabilir. Bu duruma

"kolanjiyenöz reflü" denir. Yapılan bazı çalışmalarda, safra yolu basıncındaki artış ile kolanjitin şiddeti ve mortalitesi arasında önemli ölçüde pozitif bağlantı olduğu bulunmuştur. (68).

Karaciğerin primer hastalıkları ve TS tablolarında konak savunmasının non-spesifik mekanizmalarına ilave olarak immün sistemin de baskılandığı gözlenir. Fakat bu baskılanmanın nasıl gerçekleştiği tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalarda sistemik endotokseminin doğrudan etkisiyle hücresel bağışıklıkta; bakteriyel translokasyonun sekonder etkisiyle T hücre yanıtında baskılanma olduğu bildirilmiştir (69).

Mukozal immüitenin temel bileşeni olan salgısal immünglobülin A (IgA)'nın önemli kaynaklarından biri de safra salgısıdır. IgA, bakterilerin enterositlere yapışmasını engeller ve endotoksinlerin parçalanmasına yardımcı olur. TS' de, safranın ve IgA' nın bağırsak boşluğuna geçememesi, bakteriyel translokasyonu ve endotoksemi riskini artırır. Genel olarak, bakteriyel translokasyonun gelişiminde üç temel mekanizmadan bahsedilmektedir: Baskılanmış immünite, bağırsak boşluğundaki bakterilerin aşırı üremesi ve bağırsağın mukozal bariyer fonksiyonunun bozulması (70). TS' de, bu üç mekanizmanın da etkin olduğu gözlemlenir. Bazı deneysel çalışmalarda, TS oluşturulan ratlarda ince bağırsak epitel hücrelerinde subendotelyal ödem gelişimi, villuslarda tahribat ve villus atrofisi meydana geldiği gösterilmiştir. Subendotelyal ödemin hücreler arası lenfatik boşlukta genişlemeye neden olduğu ve bu boşluktan bakteri ve endotoksin geçişinin arttığı düşünülmektedir (71).

Yapılan deneysel çalışmalarda, TS oluşturulan ratlarda tumor necrosis factor- α (TNF- α) ve çözünebilir TNF- α reseptörlerinin arttığı gösterilmiştir (72). TNF- α , aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilir ve salınımı endotoksinler, immün kompleksler, toksinler ve diğer inflamasyon mediatörleri tarafından tetiklenir. Özellikle endotel hücreleri üzerinde, endotel aktivasyonu olarak adlandırılabilir bir dizi değişiklik ortaya çıkar:

- Endotel adezyon moleküllerinin sentezini artırarak yeni sitokinlerin salgılanmasını sağlar.

- Nitrik oksit ve prostaglandin sentezini uyarır ve sistemik akut faz reaksiyonunu oluşturur.
- Nötrofil aktivasyonu ve agregasyonuna, mezenkimal hücrelerden proteolitik enzimlerin açığa çıkmasına ve böylece doku hasarına sebep olur.

TS' de Norepinefrin ve Angiotensin-II' ye cevap azalır, bu da sistemik vazodilatasyona yol açar. Bunun sonucunda şoka eğilimde artış görülür (73). Deney hayvanlarında yapılan modellerde, safra asitlerinin miyokardiyal kasılmayı azalttığı bulunmuştur. Uzun süreli TS görülen hastalarda hematokrit ve albümin düzeylerinin azalması gözlemlenen önemli belirtiler arasındadır. Aneminin nedeni olarak bilirubinün tetiklediği hemoliz düşünülmektedir (74).

TS' de ortaya çıkan hemodinamik değişiklikler, akut tübüler nekrozu (ATN) başlatabilir. Bilirubin ve diğer safra pigmentlerinin, böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini artırarak, doğrudan toksik etkiler yoluyla veya hipoksi ve hipotansiyon aracılığıyla etkili olabileceği düşünülmektedir (75) (**Tablo 2.3**).

Tablo 2.3: Tıkanma Sarılığının Vücut Üzerindeki Etkileri

Karaciğer	Protein sentezinde azalma Koagülasyon faktörlerinin sentezinde azalma Hepatosit mikrozomal P450' de azalma Karbonhidrat metabolizması bozuklukları Portal venöz basınç artışı Karaciğerin toplam kan akımında azalma Kolanjiovenöz ve kolanjiolenfatik reflü oluşumu Kolanjit oluşumu
Bağırsak	Lümen içi safra tuzlarının azalması Lümen içi IG-A azalması Bakteriyel translokasyonda artma Vitamin K' nın emiliminde azalma
Kardiyovasküler Sistem	Hiperdinamik sirkülasyon Kan volümünde azalma Norepinefrin ve Anjiotensin II' ye yanıtın azalması Miyokardial kontraktilitede azalma Sistemik vazodilatasyon

Renal	Glomerül bazal membranında immün kompleks ve depozit birikimi İskemiye olan duyarlılıkta artış Sistemik kan bilirubininde artış Safra tuzlarının artışı Koagülasyon faktörlerinde azalma Kolesterol, trigliserit, lipoprotein-X artışı Hiperfibrinolizis Endotoksemi
--------------	---

2.6. Tıkanma Sarılığı ve Oksidatif Stres

Oksidatif stres ile birlikte satellit hücrelerin aktive olması nedeniyle kollajen sentezinin artması karaciğerde fibrozis oluşmasında etkili faktördür. Oksidatif stresin meydana gelebilmesi için serbest radikal miktarında artış olmalı veya antioksidan savunma mekanizmalarında zayıflama meydana gelmelidir (76).

Serbest radikallerin en dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron bulunur ve bu nedenle oldukça reaktif kimyasal yapılardır. Solunum yoluyla alınan oksijenin %5 kadarı vücutta serbest oksijen radikallerine dönüşmektedir. Antioksidan savunma mekanizmalarında zayıflama meydana gelirse bu radikaller organizmaya zararlı olabilmektedirler. Bir elektronun oksijene eklenmesiyle süperoksit anyon radikali oluşur. Oluşan bu anyon süperoksit dismutaz (SOD1) enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülür. Hidrojen peroksit, serbest radikal olmamasına rağmen vücutta yüksek konsantrasyonda bulunduğu toksik etkiye sahip olabilir ve bilinen en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikale dönüşebilir (76).

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri nedeniyle başlayan ve hücre zarı yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu barındıran kimyasal bir reaksiyondur. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalin zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirindeki alfa-metilen gruplarındaki hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (77).

Biyolojik sistemlerde bu serbest radikallerin süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu ve lipidlerin peroksidasyon reaksiyonunun uyarımında asıl etkinin

hidroksil radikali tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Yağ asidi zincirinden serbest radikallerin etkisi ile hidrojen atomu uzaklaştırıldığı takdirde yağ asidi zinciri radikal özelliği kazanmış olur (76,77).

Lipid peroksidasyonunun; zar lipid yapısında meydana getirdiği değişimler nedeni ile hücre zarı işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine olan etkisi, reaksiyonun son ürünü olan aldehitlerin sitotoksik etkisi gibi farklı yollarla hücre hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonu nedeniyle oluşan hasarın son ürünü olması nedeni ile lipid hasarı belirteci; luminal ise oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyi belirteci olarak kabul edilir. Lusigenin ise mitokondriyal düzeyde hasarın belirteci olarak kullanılmaktadır (77,78).

2.7. Karaciğer Fonksiyon Testleri

Karaciğer hastalıklarında fonksiyon testleri iki gruba ayrılır:

- Hepatoselüler hasar testleri (Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT))
- Biliyer obstrüksiyon testleri (Bilirubin, alkalen fosfataz (ALP), 5'-nükleotidaz (5'NT), gama glutamil transpeptidaz (GGT), laktat dehidrojenaz (LDH))

Akut hepatoselüler hasarın en hassas belirteçleri olan serum aminotransferazları (aynı zamanda transaminazlar olarak da adlandırılır), 1950'lerden beri karaciğer hastalığını tanımlamak için kullanılmaktadır (79). ALT (eski adıyla serum glutamik piruvik transaminaz veya SGPT) ve AST (eski adıyla serum glutamik oksaloasetik transaminaz veya SGOT), sırasıyla alanin ve l-aspartik asidin a-amino gruplarının ketoglutarik asitin α -keto grubuna transferini katalize eder. Sitoplazmada ve mitokondride bulunan AST, vücutta geniş çapta dağılmıştır; azalan konsantrasyon sırasına göre karaciğer, kalp kası, iskelet kası, böbrek, beyin, pankreas, akciğer, lökosit ve eritrositlerde bulunur. Birçok organda da bulunan sitoplazmik bir enzim olan ALT ise, karaciğerde açık ara en yüksek konsantrasyonda bulunur ve bu nedenle karaciğer hasarının AST' den daha spesifik bir göstergesidir. Aminotransferazların serum

değerlerindeki artışlar ya bu enzimler açısından zengin dokulardaki hasarı ya da ALT ve AST' nin seruma sızmasına izin veren hücre zarı geçirgenliğindeki değişiklikleri yansıtır.

Bilirubin düzeyi, bilirubinün üretilmesi, hepatoselüler alımının, konjugasyonunun veya atılımının sonucunu gösterir. Serum bilirubinün ölçümü spesifik bir test olmamakla birlikte karaciğer fonksiyon testi olarak orta derecede duyarlılığa sahiptir.

ALP terimi genel olarak vücutta geniş çapta dağılmış bir grup izoenzim için geçerlidir (80). Erişkinlerde klinik açıdan en büyük öneme sahip izoenzimler karaciğer ve kemiktedir çünkü bu organlar serum ALP' nin ana kaynaklarıdır. Diğer izoenzimler plasenta, ince bağırsak ve böbreklerden kaynaklanır. Karaciğerde ALP, hepatositlerin kanaliküler membranında bulunur; kesin işlevi tanımsızdır. ALP' nin serum yarı ömrü yaklaşık 7 gündür ve bozunma yerleri bilinmemekle birlikte, ALP' nin serumdan temizlenmesi safra yollarının açıklığından veya karaciğerin fonksiyonel kapasitesinden bağımsızdır. Hepatobiliyer hastalık, safra asitlerinin aracılık ettiği bir süreç olan enzimin indüklenen sentezi ve seruma sızması yoluyla serum ALP düzeylerinin artmasına yol açar (81).

GGT hücre zarında bulunan bir enzimdir. Karaciğer (hem hepatositler hem de kolanjiyositler), böbrek, pankreas, dalak, kalp, beyin ve seminal vezikül gibi geniş bir doku dağılımında bulunur. Yüksek serum GGT seviyesi hepatobiliyer hastalıklar için yüksek duyarlılığa sahip olsa da spesifik olmaması klinik kullanımını sınırlar. Serum GGT seviyesinin başlıca kullanımı, serum ALP seviyesinde izole bir yükselmenin kaynağını belirlemektir; GGT kemik hastalıklarında yükselmez (82).

5'NT, kanaliküler ve sinüzoidal plazma membranlarıyla ilişkili olmakla birlikte işlevi tanımlanmamıştır. 5'NT ayrıca bağırsakta, beyinde, kalpte, kan damarlarında ve endokrin pankreasta da bulunur. GGT' de olduğu gibi serum 5'NT seviyesinin birincil rolü, izole edilmiş serum ALP yükselmesinin organ kaynağını tanımlamaktır. 5'NT düzeyi kemik hastalıklarında artmazken özellikle hepatobiliyer hastalıklarda artar.

LDH, vücudun neredeyse tüm dokularında bulunan bir izoenzim grubunu temsil eder. LDH' nin temel olarak glikoliz reaksiyonunda görev alır. Pek çok hastalıkta arttığı gözlenmektedir. LDH' nin yüksekliği doku hasarına işaret eder. Bu durumun nedeni hasar sonucu hücrelerden açığa çıkan LDH' nin kana karışmasıdır. LDH' nin 5 izoenzimi tanımlanmıştır. LDH-1 böbrek ve kalpte, LDH-2 eritrositlerde, LDH-3 akciğerde LDH-4 lökositlerde, lenf düğümlerinde ve böbreklerde, LDH-5 ise karaciğer ve kas dokularında yüksek miktarda bulunmaktadır.

2.8. İyileşme Kaskadı

Genel olarak iyileşme kaskadı birbiri ile örtüşen dört aşamayı içermektedir:

- 1) Hemostaz
- 2) İnflamatuar faz
- 3) Proliferasyon fazı (Yaralanmadan günler sonra başlar ve iyileşme kaskadının en önemli aşamasını oluşturur.)
- 4) Yeniden şekillenme- remodeling (en uzun faz olup skar dokusu oluşumunu içerir)

Yaralanmanın hemen ardından, kapiller sızıntı, hemostatik faktörlerin ve inflammatuar mediatörlerin bölgede toplanmasına olanak tanır. Pıhtılaşma kaskadının aktivasyonu trombosit agregasyonuna, pıhtı oluşumuna ve geçici bir ekstrasellüler matriks yapısının oluşumuna yol açar. Trombositler, açığa çıkan kollajen ve dolaşan ekstrasellüler matriks proteinlerine yapışır, bu da trombosit alfa granüllerinden biyoaktif faktörlerin salınmasını tetikler. Bu biyoaktif faktörler, büyüme faktörleri, kemokinler ve sitokinlerin yanı sıra proinflammatuar mediatörleri içerir.

İnflamatuar faz, hemostazdan sonraki süreci takip eder, Kemoatraktan ajanlar, erken inflammatuar fazın ilk 1-2 saati içinde yaralanmış bölgeye nötrofilleri çekmeye başlar. Daha sonra, makrofajlar yarada görünmeye başlar ve yara debridmanı ile inflamasyonun düzenlenmesinde öncü rol oynar. Ayrıca, fibroblastları ve endotel hücrelerinin bölgeye gelmesinde de rol oynarlar.

Hücrel ve matris proliferasyon fazı, yara iyileşmesinin belki de en önemli aşamasıdır çünkü bu aşamada yer alan hücreler, doku onarımını sağlayan bir metabolik motor gibi görev yaparlar. Yara iyileşmesinin 2-3 gün sonrasında, makrofajlar ve kemotaktik, mitojenik ve anjiyojenik büyüme faktörleri, fibroblastları ve epitel hücrelerini yaralanma bölgesine çekerek infiltrasyon sağlarlar. Yarada bulunduktan sonra, fibroblastlar kollajen sentezler ve yaranın kasılmasını kolaylaştırır. Anjiyogenez ve granülasyon dokusunun oluşumu da iyileşme sürecinin proliferatif fazındaki önemli unsurlardır.

İyileşme sürecinin son aşaması, yara olgunlaşması ve yeniden şekillenmeyi içerir. Bu aşamada, PDGF' ler ve TGF- β , fibronektin gibi büyüme faktörleri, fibroblast proliferasyonunu, göçünü ve ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sentezini uyarır. Yeniden şekillenme aşaması, bozunma ve sentez arasındaki dengeyi korumak için sıkı bir şekilde düzenlenir. Tip I kollajen, tip III kollajen, proteoglikan ve fibronektinin yerini alarak daha sağlam bir matriks oluşumunu ve gerim kuvvetinin artmasını sağlar.

Olgunlaşma aşamasının süresi, yaranın patolojisinin, bireysel özelliklerin yanı sıra ilgili dokunun özel iyileşme yeteneklerine bağlı olarak değişir. Ayrıca, patofizyolojik ve metabolik faktörler yara iyileşmesini etkileyebilir. Lokal nedenler arasında iskemi, doku hipoksisitesi, enfeksiyon ve büyüme faktörü dengesizliği bulunurken, sistemik nedenler arasında metabolik hastalık ve beslenme durumu bulunmaktadır. Bu tür olumsuz ortamlarda, büyüme faktörleri bakımından zengin TZP ve diğer ortamların, akut ve kronik yaralar için etkili bir tedavi yardımcısı olduğu gösterilmiştir (83).

2.9. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

TZP klasik olarak trombosit sayısının tam kandan daha fazla olduğu plazma hacmi olarak tanımlanır. Klinik kullanımda trombosit konsantrasyonu başlangıç seviyelerinin 4 ila 10 katı kadar artırılmaktadır.

Trombositler, megakaryosit öncüllerinin parçalanmasından türetilen, düzensiz şekilli, çekirdeksiz sitoplazmik cisimlerdir. Trombositler, büyüme faktörlerinin doğal bir rezervuarı olarak görev yapar ve bu faktörler aktive edilmiş trombositlerin alfa

granüllerinden salınır. Bu nedenle TZP oluşturmanın ve kullanmanın mantığı, yaralı dokudaki trombosit konsantrasyonunu arttırmak, bunun sonucunda birden fazla biyoaktif faktörün daha fazla salınmasını sağlamak ve ardından doğal iyileşme sürecini uyarmaktır (83,84).

TZP ve diğer otolog kan ürünleri öncelikle PDGF' ler, EGF' ler, TGF- β , vascular endothelial growth factor (VEGF), FGF, HGF ve IGF-I gibi büyüme faktörlerinin salınması yoluyla işlev görür. Bu büyüme faktörleri, aktive edilmiş trombositlerin alfa granüllerinden salınır ve mitogenez, kemotaksis, farklılaşma ve metabolizma gibi önemli hücresel süreçlerde rol oynar (85) (**Tablo 2.4**).

Tablo 2.4: TZP içerisindeki büyüme faktörleri ve özellikleri

BÜYÜME FAKTÖRLERİ	ÖZELLİKLERİ
Platelet-derived Growth Factor (PDGF)	Makrofaj aktivasyonu ve anjiyogenez, Fibroblast kemotaksisi ve çoğalması, Kollajen sentezini artırma, Kemik hücresi çoğalmasını artırma
İnsuline like Growth Factor-I (IGF-I)	Myoblast ve fibroblastlar için kemotaktik etki ve protein sentezini uyarım İskelet kaslarının büyüme ve onarımı
Transforming Growth Factor-β (TGF-β)	Fibroblastların çoğalma aktivitesini artırma Tip I kollajen ve fibronektin biyosentezini uyarım Kemik matrisi birikmesini indükleme Osteoklast oluşumu ve kemik rezorpsiyonunu inhibisyon Fibrozis ve miyosit rejenerasyonu arasındaki dengeyi düzenleme

Platelet-derived Endotelial Growth Factor (PDEGF)	Yara iyileşmesini teşvik ederek keratinosit ve dermal fibroblastların çoğalmasını uyarım
Platelet-derived Angiogenic Factor (PDAF)	Vaskülarizasyonu indükleyerek vasküler endotelial hücreleri uyarım
Epidermal Growth Factor (EGF)	Hücrel çoğalma Epitelial hücrelerin diferansiyasyonu
Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)	Anjiyogenez Endotelial hücrelerin migrasyonu ve mitozu Kan damarı lümeni oluşturulması Fenestrasyon oluşturulması Makrofajlar ve granülositler için kemotaktik etki Vazodilatasyon (doğrudan nitrik oksit salınımı yoluyla dolaylı olarak)
Hepatosit Growth Factor (HGF)	Hepatosit çoğalmasını ve karaciğer dokusu rejenerasyonunu uyarım Anjiyogenez Endotelial hücreler için mitojen etki Antifibrotik etki

TZP ile ilgili yapılan tüm çalışmalarda; otolog kan ürünü olması nedeniyle sistemik yan etki, immün reaksiyon ya da hastalık bulaştırma gibi risklerin olmadığı gösterilmiştir. Yalnızca lokal anestezi ile uygulanması durumunda alerjik reaksiyon oluşabileceği bildirilmiştir. TZP tedavisinin rölatif kontrendikasyonları; aktif enfeksiyon, tam kanda trombosit sayısının <10000 hücre/ μ lt, hemoglobinin <10g/dl

düzeyinde olması, kesin kontrendikasyonları ise gebelik ve laktasyon dönemleridir (86).

2.9.1. Trombositten Zengin Plazma Hazırlanması

TZP' nin elde edilmesi için birkaç yöntem bulunsa da manuel sistemler ve ticari kitlerle elde edilen yöntemler en yaygın kullanılanlardır. Ticari kitlerle elde edilen TZP örnekleri kullanıma hazır ve steril solüsyonlardır ancak yüksek maliyetleri nedeniyle sınırlı miktarda tercih edilmektedir. Santrifüj yöntemlerinin farklı olması, kitler arasında trombosit miktarı ve dolayısıyla büyüme faktörleri açısından farklılıklara yol açmaktadır. Bu durum, hangi kitin TZP elde etmek için seçileceğini belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Manuel olarak, düşük maliyetli ve standart TZP çözeltisi hazırlamak mümkündür. Bunun için sterilite kurallarına uyulmalı ve her klinik, kendi çalışması için uygun koşullarda belirlenmiş yöntemleri kullanarak TZP hazırlamalıdır (87).

Manuel yöntemlerle TZP elde etmek için hem tek hem de çift santrifüj yöntemleri kullanılmaktadır. Tek santrifüj yönteminde, tüp içindeki kan bileşenleri üç farklı tabakaya ayrılır. Üst tabakanın yarısı atılarak, çalışmanın lökosit ihtiyacına bağlı olarak, buffy coat'ın (BC) tamamı veya yüzeysel BC ile birlikte üzerindeki 1 cc'lik plazma kısmı aspire edilerek kullanılır. Çift santrifüj yöntemi uygulandığında ise, birinci santrifüj sonrasında tüp içinde plazma üç ayrı tabakaya ayrılır. En üstte sarı renkli bir tabaka oluşur ki bu beyaz küre ve trombositlerden meydana gelir. Orta tabaka büyük oranda beyaz küre ve trombositler içerir ve ince beyaz bir yapıya sahiptir (BC). En alt tabaka ise kırmızı kan hücrelerinden oluşur. Birinci santrifüj sonrasında oluşan bu tabakalardan, üst tabaka ve BC yüzeyi başka bir tüpe aktarılarak trombositler parçalanmadan daha güçlü bir santrifüj işlemi uygulanır. İkinci santrifüj sonrasında ise, tüpün dibinde yumuşak hücre birikintileri gözlemlenir. Üst $\frac{2}{3}$ kısmı atılarak, hücrelerle birlikte alt $\frac{1}{3}$ plazma kısmı aspire edilir. Hücrelerin homojen olarak dağılması amacıyla birkaç kez enjektöre verilip aspire edilmesinin ardından, çözelti kullanıma hazır hale gelir. Eğer dağılmayan hücre birikintileri oluşursa, bu durumun trombositlerin aktive olarak fibrin oluşturduğunu ve TZP' nin kullanıma uygun olmadığını gösterir (87–89).

Trombositlerin düşük sıcaklıkta aktive olma potansiyeli nedeniyle, santrifüj işlemi oda sıcaklığında gerçekleştirilmelidir. TZP hazırlığı öncesinde geniş çaplı bir iğne ile hızlı bir şekilde kan alınmalı ve antikoagülan eklenerek trombosit aktivasyonu ve kanın pıhtılaşması önlenmelidir. Antikoagülan olarak genellikle sodyum sitrat veya asit sitrat dekstroz-A(ACD-A) tercih edilmektedir. Aferez için ACD-A kullanılırken, sodyum sitrat ise trombositlerin tanısai değerlendirilmelerinde kullanılır. ACD-A, TZP hazırlanmasında daha yaygın olarak tercih edilmekte olup, ACD-A/kan oranı genellikle 2/8'dir. Sodyum sitrat için ise kullanılan oran 1/9'dur (87,90).

2.9.2. Trombositten Zengin Plazma Uygulama Alanları

TZP ilk olarak 1970'lerde hematologlar tarafından trombositopeni tedavisi için kan transfüzyonu ürünü olarak geliştirildi (91). 1980'li yıllarda TZP, antiinflamatuvar ve hücre çoğalması üzerindeki olumlu avantajlarından dolayı maksillofasiyal cerrahide kullanılmaya başlandı (92). Daha sonra TZP öncelikle spor yaralanmalarında kas-iskelet bölgesine uygulandı. TZP' nin sporcular arasında rehabilitasyonda kullanıldığı rapor edilmiştir (93). Ayrıca TZP kalp, pediatrik, jinekoloji, üroloji, ortopedik cerrahi, oftalmoloji ve diğer alanlarda da kullanılmaktadır (94). Son on yıldan bu yana TZP dermatolojide, özellikle doku çoğaltma, yara iyileşmesi, cilt yenilenmesi ve saç dökülmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (95–98). Son yıllarda TZP, artrit gibi ortopedik hastalıkları tedavi etmek ve kemik füzyonunu desteklemek için de kullanılmaktadır (99).

Crovetti ve ark.'nın kronik yaraya sahip 24 hasta üzerinde gerçekleştirdiği çalışma, TZP kullanımının yara iyileşmesine olumlu katkılar sağladığını göstermiş ve özellikle diyabetik kronik yaraların tedavisinde tercih edilmesinin önemini vurgulamıştır (100). Kimura ve ark., deneysel insizyonel yara modelinde TZP uygulamasının, yara iyileşmesinde ve yüzey gerilim gücündeki önemli artışta dikkat çekici sonuçlar ortaya koyan bir çalışma gerçekleştirmişlerdir (101).

TZP, adheziv ve hemostatik özellikleri nedeniyle blefaroplasti, yüz germe, kemik ve cilt greftlerinin donör yerlerinin iyileşmesi, insizyonların sütursuz kapatılması, kemik rekonstrüksiyonu gibi çeşitli plastik ve kozmetik alanlarda

kullanılmaktadır. TZP' nin lazer ile yüz gençleştirme sonrasında pansuman olarak kullanılması, eritemde azalma ve hızlı iyileşmeye neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, yağ greftlerine TZP karıştırıldığında emilme süresinin uzadığı ve kontur revizyonuna katkı sağladığı belirlenmiştir (102).

Robiony ve ark., atrofik mandibula üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada kemik greft ile birlikte TZP kullanmışlardır. TZP içinde bulunan büyüme faktörleri, özellikle PDGF ve TGF- β aracılığıyla kemik biçimlenme hızının arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca, diş çekimi sonrası antikoagülan kullanan hastalarda TZP kullanımının hemostazın sağlanmasında etkili olduğu gözlemlenmiştir (103,104).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

İlgili çalışmamız; T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Eğitim Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nca onaylandı (HADYEK/2021-21 nolu proje, Sayı: 2022-05, Tarih: 04.02.2022) (Bkz: EK-2). T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi Dekanlığı, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nca tez konusu olarak onaylanmıştır (Sayı: E-48865165-302.14.01--112310., Akademik kurul karar tarihi: 14.03.2022, Karar no: 21) (Bkz: EK-3). T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıpta Uzmanlık Eğitim Komisyonu (TUEK) 02.05.2023 tarihli, 2023/03 toplantısında araştırma giderlerinin döner sermayeden karşılanması için onay alınmıştır (Bkz: EK-4).

Çalışmada kullanılacak deney hayvanları; İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi (BADABEM) tarafından temin edildi, deney süresince günlük bakım ve takipleri, ameliyathane kullanımı aynı birimde gerçekleştirildi. Deney sonucunda alınan kan ve doku örneklerinin biyokimyasal incelemesi Özge Vetlab Veteriner Laboratuvarı ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda; doku örneklerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri İstanbul Bağcılar Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Patoloji Kliniği'nde gerçekleştirildi.

Çalışma boyunca Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS 123) uyulmuştur.

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar

Bu çalışmaya; dişi cinsiyet, aynı cins, 250-300 gr. ağırlığında, yaşları 10-12 hafta aralığında, standart yemlerle (İçeriği: %88 kuru madde, %20 ham protein, %6 ham selüloz, %5,2 ham kül, %2,7 ham yağ, %0,9 kalsiyum, %0,6 fosfor, %0,95 lysine, %0,40 methionin, %0,66 meth+cys, %0,14 sodyum, 2600 Kcal/kg, en az 24000 IU/kg

vitamin A, 3000 IU/kg vitamin D3, 300 mg/kg vitamin E, 30 mg/kg vitamin K3, 20 mg/kg vitamin B1, 20 mg/kg vitamin B2, 12 mg/kg vitamin B6, 100 mcg/kg vitamin B12, 100 mg/kg nikotinik asit, 41 mg/kg pantotenik asit, 6,3 mg/kg biotin, 1000 mg/kg kolin, Üretici: MBD Yem Ticareti, Gebze, Türkiye) beslenen, her gün taze içme suyu verilen 32 adet sıçan (Wistar Hannover cinsi) alındı. Tüm hayvanlar, 12 saat karanlık/aydınlık siklusunda, özel iklimlendirme sistemi ile 22 °C oda ısısında tutuldu. Deney hayvanları; dış ölçüleri 590x380x200 mm. olan, yaklaşık ağırlığı 2170 gr., taban alanı 1815 cm², polikarbondan üretilmiş, alt zemin malzemesi olarak mısır koçanı ve talaş karışımı kullanılan kafeslerde 8 erli gruplar halinde takip edildi ve sıçanlar toplam 4 gruba ayrıldı.

Deney hayvanları rastlantısal olarak 4 gruba ayrıldı:

Sham grubu (Grup 1): 8 adet deney hayvanı

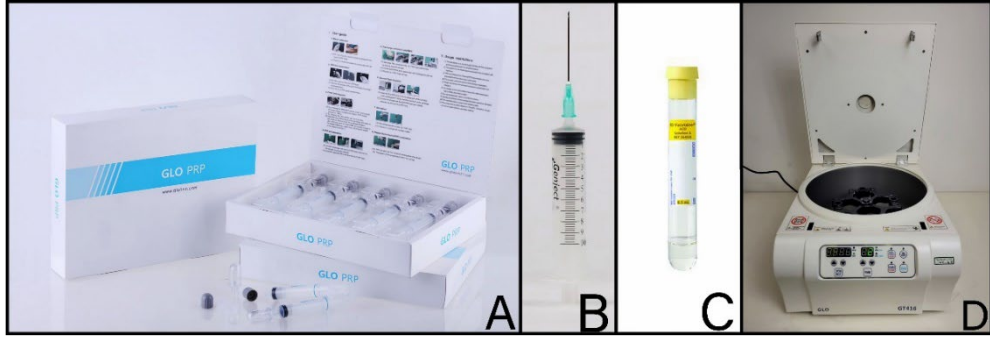
Kontrol grubu (Grup 2): 8 adet deney hayvanı (TS oluşturulup devamında 1. 4. ve 7. günlerde 1 ml/kg hacminde intraperitoneal (i.p.) olarak serum fizyolojik uygulanacak grup).

Tedavi grubu (Grup 3): 8 adet deney hayvanı (TS oluşturulup devamında 1. 4. ve 7. günlerde 1 ml/kg hacminde i.p. olarak TZP uygulanacak grup).

TZP üretimi için kullanılacak grup (Grup 4): 8 adet deney hayvanı (1. 4. ve 7. tedavi günlerinde TZP üretimi için).

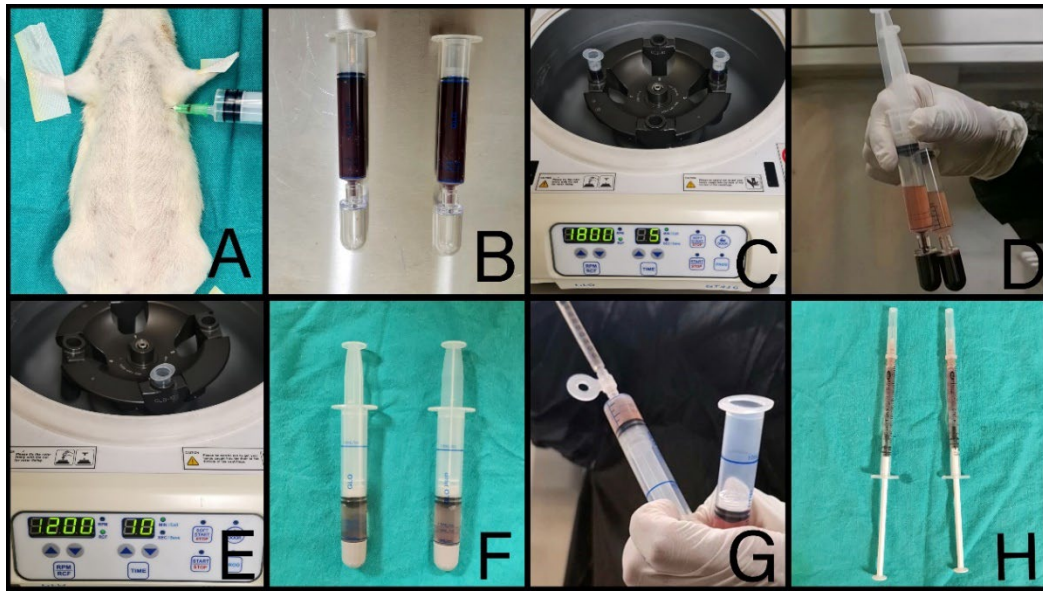
3.2. TZP üretimi

Grup 4'te bulunan 8 adet sıçandan (3 siklus TZP kullanımı planlanmış olup), her siklusta sakrifiye edilen sıçanların tüm kanı intrakardiyak ponksiyon yapılarak TZP hazırlanması amacı ile alındı ve sıçanlar yüksek doz anestezik madde ile sakrifiye edildi. Her bir sıçandan 8-12 ml kadar kan alındı. GLO PRP[®] kiti (Biotrend, New Trends in Biotechnology, Cleveland, Ohio, ABD) kullanılarak, çift santrifüj yöntemi sayesinde ortalama 2.5 ml TZP elde edildi (**Şekil 3.1, 3.2**).



Şekil 3.1: TZP'nin üretilmesi için gerekli malzeme ve ekipmanlar

A: GLO PRP® kiti, B: Enjektör, C: Sodyum sitrat, D: Santrifüj cihazı



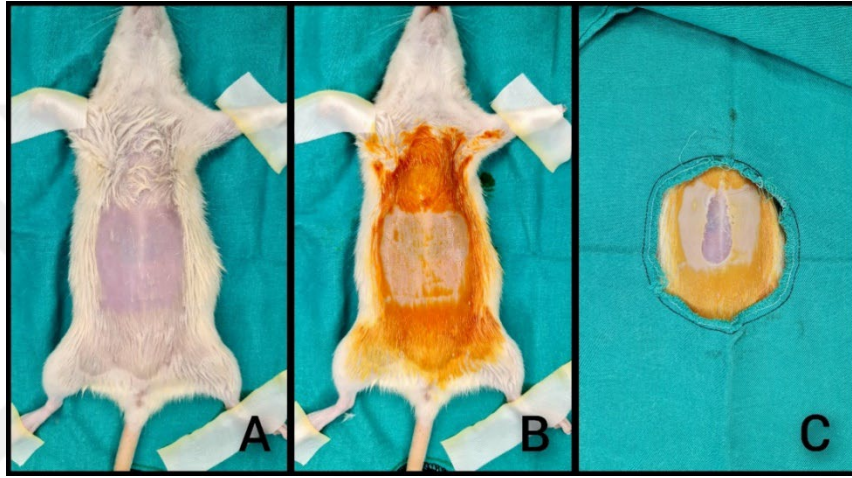
Şekil 3.2: TZP üretimindeki basamaklar

A: İntrakardiyak ponksiyon ile kan alımı, B: Santrifüj öncesi hazır kit, C: İlk santrifüj aşaması, D: İlk santrifüj sonrası katmanların oluşumu, E: İkinci santrifüj aşaması, F: İkinci santrifüj sonrası kit içerisinde TZP, G: Elde edilen TZP'nin uygulamaya uygun enjektöre alınması, H: Uygulama için hazır TZP

3.3. Anestezi ve Cerrahi İşlem

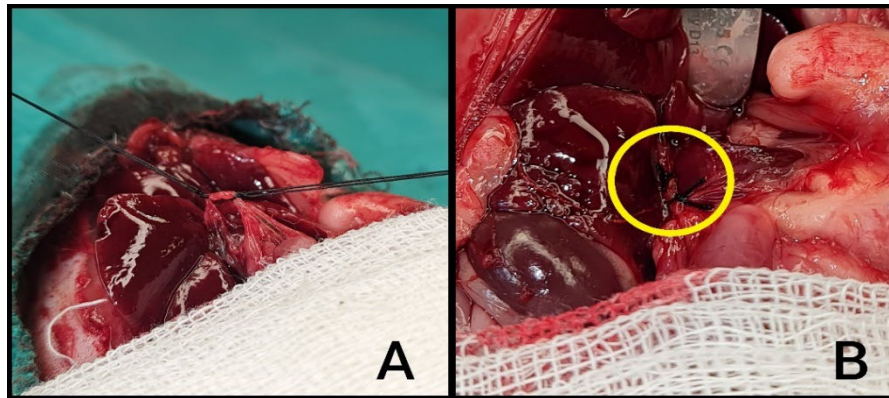
Grup 2 ve grup 3' teki sıçanlara genel anestezi amacıyla 70 mg/kg dozunda Ketamin HCl (Ketalar®) ve 5 mg/kg dozunda Ksilazin HCl (Rompun®) uygulandı. Genel anestezinin sağlanmasının ardından tüm sıçanların karın bölgesi tıraşlanarak işlem masasına supin pozisyonunda 4 ekstremitele tespit edildi. Karın duvarı %10 povidon iyodin çözeltisi ile silinerek steril hale getirildikten sonra cerrahi örtüsü ile örtüldü.

Karnın orta hattından ksifoid çıkıntının inferiorundan kaudale doğru ortalama yaklaşık 3 cm'lik kesi ile cilt geçilip linea alba üzerinden kas ve fasyal planlar geçilerek karın boşluğu içerisine girildi (**Şekil 3.3**). Mide ve pilor ortaya konarak ardından duodenuma ulaşıldı. Karaciğer lobları ve duodenum arasında ASK bulundu. ASK etraf dokudan diseke edilerek askıya alındı daha sonra proksimal ve distalinden 4/0 ipek ile transekte edilmeden bağlandı (105) (**Şekil 3.4**). Daha sonra karın kesisi 3/0 ipek suture kullanılarak anatomik planda kapatıldı. Kesi hattı %10 povidon iyodin ile temizlendi (**Şekil 3.5**).



Şekil 3.3: Cerrahi işlem sürecine hazırlık.

A: Deney hayvanının traşlanması, B: Karın duvarının %10 povidon iyodin ile silinerek antisepsinin sağlanması C: Cilt insizyonu



Şekil 3.4: Cerrahi işlemin uygulanması.

A: Ana safra kanalının ortaya konarak askıya alınması, B: Ana safra kanalının proksimal ve distalinden bağlanması



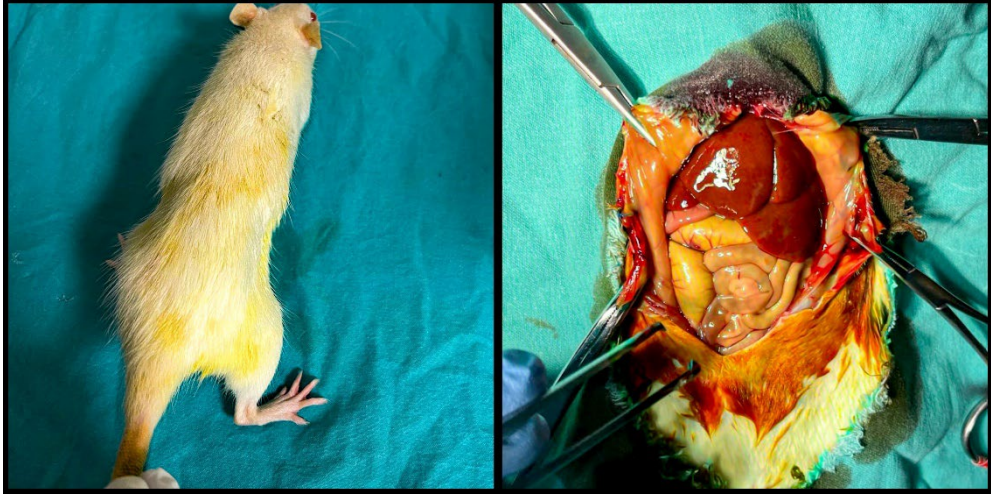
Şekil 3.5: Fasyal ve kas planlarının kapatılması sonrası cilt sutureasyonu ve antisepsinin sağlanması.

3.4. Cerrahi Sonrası Bakım, Tedavi ve Deneyin Sonlandırılması

Sıçanlar derlenme sonrası her grup için ayrılan bakım kafeslerine alındı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların su ve yeme erişmesinde herhangi bir kısıtlama uygulanmadı.

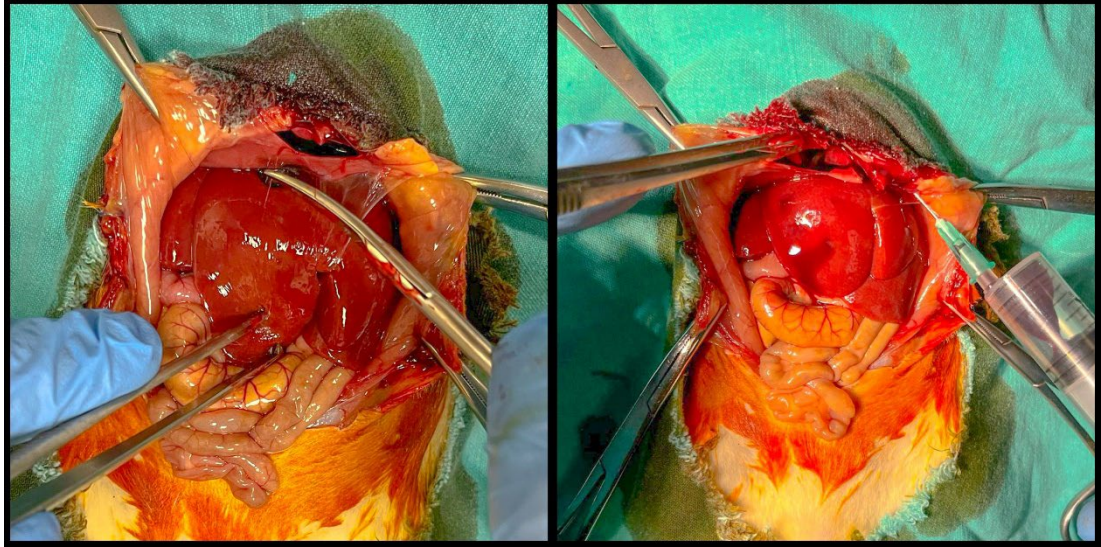
Grup 2' deki sıçanlara cerrahi işlem sonrası 1. gün, 4. gün ve 7. günlerde 1 ml/kg i.p. serum fizyolojik uygulandı. Grup 3' teki sıçanlara ise cerrahi işlem sonrası 1. gün, 4. gün ve 7. günlerde 1 ml/kg i.p. TZP uygulandı. 14 gün boyunca bütün sıçanlar sarılık açısından gözlemlendi, Grup 2 ve grup 3' teki sıçanların tamamında idrar renginde ve vücut yüzeyinde sararma olduğu gözlemlendi (Şekil 3.6).

Cerrahi sonrası 14. günde anestezi uygulaması sonrası eski insizyon hattı kullanılarak karın boşluğuna girildi. Grup 2 ve Grup 3' teki tüm sıçanların ASK' deki tıkanıklığa bağlı olarak genişleme ve karın içi organlarında sarılığa bağlı olarak renk değişimi olduğu görüldü (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Kontrol ve tedavi grubundaki sıçanlarda vücut yüzeyi ve intraabdominal organlardaki renk değişikliği

Grup 1, grup 2 ve grup 3' teki tüm sıçanların karaciğer dokuları eksize edildi ve kardiyak ponksiyon ile 8-10 ml kan alınarak sakrifikasyonları sağlandı (**Şekil 3.7**).



Şekil 3.7: Sakrifikasyon işleminde karaciğerin örneklenmesi ve intrakardiyak ponksiyon ile kan alınması

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Grup 1, grup 2 ve grup 3' teki sıçanlardan kardiyak ponksiyon ile 8-10 ml kan alındı. Alınan tüm kanlar içerisinde antikoagulan bulunmayan tüplere konuldu, kan örnekleri oda sıcaklığında pıhtılaştıktan sonra santrifüj edilerek elde edilen serum örnekleri Özge Vetlab Veteriner Laboratuvarı bünyesinde bulunan Prestige 24i (Tokyo Boeki Medisys Inc., Tokyo Japonya) otoanalizör cihazında spektrofotometrik yöntem ile çalışılarak total protein, albümin, total bilirübin, direkt bilirübin, AST, ALT, ALP, GGT, LDH, amilaz ve lipaz sonuçları elde edildi.

Tüm sıçanlarda karaciğerin sağ lob haricindeki dokusu sıvı nitrojene daldırılarak şoklama yöntemi ile donduruldu ve çalışmaya alınana dek -40 °C' de bekletildi. Doku homojenizasyonu için dokular tartılarak üzerine 1/10 (w/v) oranında phosphate buffered saline eklenip doku homojenizatörü ile homojenize edildi (106). Homojenatlar 15 dk boyunca 3500 rpm' de santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve eppenderof tüplere alınarak -80 °C' de analiz edilecek zamana kadar saklandı. Doku protein tayini Lowry modifiye metoduyla yapıldı (107). Analiz edilecek parametrelerin doku sonuçları doku protein miktarına oranlanarak tayin edildi. Örneklerin çözdürülmesinin ardından oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla SOD1 için Elabscience® Rat SOD1 ELISA kiti (E-EL-R1424) (Houston, Teksas, ABD) ile kompetitive ELISA prensibi kullanılarak, MDA için Elabscience® Rat MDA ELISA kiti (E-EL-0060) (Houston, Teksas, ABD) ile kompetitive ELISA prensibi kullanılarak, glutatyon peroksidaz (GPx) için Elabscience® Rat GPX1 ELISA kiti (E-EL-R2491) (Houston, Teksas, ABD) ile sandviç ELISA prensibi kullanılarak parametre sonuçlarına ulaşıldı. İnflamatuar cevabı göstermek adına TNF- α için Elabscience® Rat TNF- α ELISA kiti (E-EL-R1424) (Houston, Teksas, ABD) ile sandviç ELISA prensibi kullanılarak parametre sonuçlarına ulaşıldı.

3.1 Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Karaciğer sağ lobu disseke edildi. Histokimyasal değerlendirme için %10 nötr tamponize formalin ile dokuların tespit edilmesi sonrası parafin içerisinde gömüldü. Her parafin bloktan 3 μ m' lik kesitler elde edilmesinin ardından kesitler histomorfolojik

bulguların gösterilmesi amacıyla hematoksilen ve eozin ile fibrozisin gösterilmesi amacıyla Masson's Trichrome ile, kolestaza bağlı bakır birikiminin gösterilmesi amacıyla rodamin ve orcein ile boyandı. Kesitler ışık mikroskobu (Eclipse Ni-U, Nikon Corp., Tokyo, Japonya) ile kör şekilde aynı patolog tarafından iki kez incelendi.

Fibrozis, Ishak fibrozis evrelemesi sistemi ile kategorik olarak skorlandı:

0: Fibrozis yok.

1: Bazı portal alanlarda fibröz genişleme (fibröz septa +)

2: Portal alanların çoğunda fibröz genişleme (fibröz septa +)

3: Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve porto-portal köprüleşme

4: Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme (porto-portal ve porto-santral)

5: Belirgin köprüleşme (porto-portal ve porto-santral) ve yer yer nodüller (inkomplet siroz)

6: Siroz

Portal inflamasyon "0: normal, 1: hafif, 2: orta 3: şiddetli" olarak kategorik şekilde değerlendirildi.

Safra duktus hasarı ve düktüler proliferasyon, portal alan parankim kesişiminde ödemli fibrokonnektif doku zemininde safra duktüllerinin varlığı, proliferatif safra duktüllerinde nötrofil ve eozinofil lökosit varlığı (duktulit) incelenerek; kolestaz ise genişlemiş periportal kolanjiollerin lümenlerinde safra birikimi, akut kolanjit bulguları, duktal kolestaz, safra enfarktı ve safra gölcüğü varlığı incelenerek "0: normal, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli" olarak kategorik şekilde değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme amacı ile Streptavidin- Biotin- Peroksidaz yöntemi ile boyama yapıldı. Bu amaçla ışık mikroskopik incelemede kullanılması için hazırlanan parafin bloklardan 3 µm kalınlıkta kesitler poli-L-lizin kaplı lamalar üzerine alındı. Kesitler 1 gece boyunca 58 °C etüvde deparafinize edilmesinin ardından derecesi azalan alkollerle rehidrate edildi. Isı ve/veya mikrodalga ışınım yoluyla antijenin ortaya çıkarılmasından (antigen retrieval) sonra kesitler endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi amacıyla % 0,03 yoğunluktaki H₂O₂ çözeltisinde bekletildi. Ardından parafin kesitlerin tamamı hidrofobik bir kalem ile

sınırlandı ve her kesit immün boyama için kullanılacak kitin prosedürüne göre bloklama solüsyonunda bekletildi. Daha sonra bloklama solüsyonu ortamdaki uzaklaştırıldı ve dokular bir gece boyunca primer antikorlar kullanılarak +4 °C'de nemli ortamda inkübe edildi. Bu işlemin ardından 0.01 M PBS ile yıkanarak 15 dakika HRP streptavidin kompleks ile muamele edildi. Dokular peroksidaz aktivitesi için AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) kromojen kiti ile işaretlendi. PBS ile yıkanma sonrası Mayers hematoksilen ile çekirdek zemin boyaması yapıldı ve rehidrate edilen kesitler aköz kapama solüsyonu ile kapatıldı. Spesifik immün işaretleme varlığı negatif ve pozitif kontrol boyamaları ile karşılaştırmalı olarak mikroskopta saptandı. Negatif kontrol için seçilmiş doku örneklerinde prosedür aynen uygulandı fakat primer antikor yerine antikor dilüent kullanıldı. Kesitlerin antijenlerle boyanması "0: boyanma yok, 1: hafif yoğunlukta boyanma, 2: orta yoğunlukta boyanma 3: şiddetli boyanma" şeklinde kategorik olarak derecelendirildi.

İnflamasyonun gösterilmesi için TNF- α , duktüler proliferasyonun ortaya konması amacıyla sitokeratin-7 (CK-7), sitokeratin-19 (CK-19), TSP etkinliğinin gösterilmesi için içerisinde bulunan HGF ve TGF- β proteinlerine karşı antikorlar kullanılarak immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal görüntüler Olympus BX51 (Olympus Corp., Tokyo, Japonya) ile dijital ortama aktarıldı.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 27.0 paket programı kullanıldı.

Sürekli ölçümlerde gruplar arasında normal dağılım gösteren parametreler için ikiden fazla gruplarda tek yönlü ANOVA, normal dağılım göstermeyen parametreler için ikiden fazla gruplarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik ölçümlerde Fischer'in Kesinlik testi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığın kaynağını saptanmasında Tukey HSD ve Games Howell testlerine başvuruldu. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık seviyesi (p değeri) 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

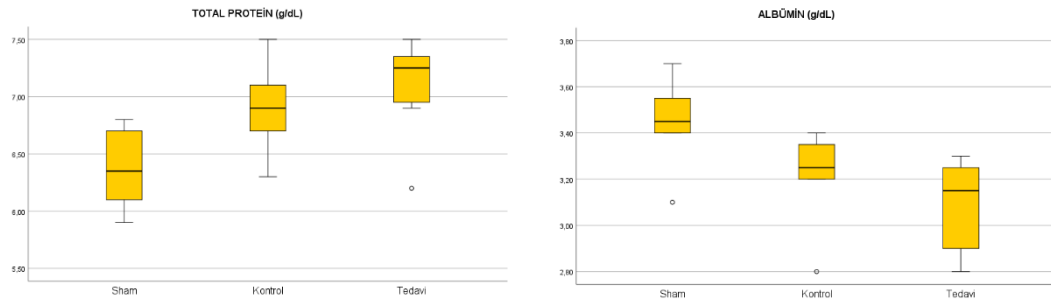
Biyokimyasal ölçüm değerleri her parametre için “ortalama değer± standart sapma” olarak belirtilmiştir.

Biyokimyasal analizlerin değerlendirilmesi sonucu serum total protein (TP) düzeyleri sham grubunda $6,37\pm 0,34$, kontrol grubunda $6,90\pm 0,35$, tedavi grubunda $7,10\pm 0,41$ olarak ölçüldü. Total protein düzeyi sham grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olup ($p=0,023$, $p=0,001$) kontrol ve tedavi grupları arasında tedavi grubunda serum total protein düzeyi artmış olmasına rağmen anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,321$). Serum albümin düzeyi ise sham grubunda $3,45\pm 0,17$, kontrol grubunda $3,22\pm 0,19$, tedavi grubunda $3,08\pm 0,19$ olarak ölçülmüş olup, sham grubu ile kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunmuş ($p=0,038$, $p=0,001$); kontrol ve tedavi grupları arasındaki karşılaştırmada fark saptanmamıştır ($p=0,245$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.1).

Tablo 4.1: Total protein ve albümin değerlerinin karşılaştırması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p [†]	p ^Δ
TP	$6,37\pm 0,34$	$6,90\pm 0,35$	$7,10\pm 0,41$	0,023	0,001	0,321
Albümin	$3,45\pm 0,17$	$3,22\pm 0,19$	$3,08\pm 0,19$	0,038	0,001	0,245

TP: Total protein, p*: Sham-Kontrol, p[†]: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



Şekil 4.1: Total protein ve albümin değerlerine ait grafikler.

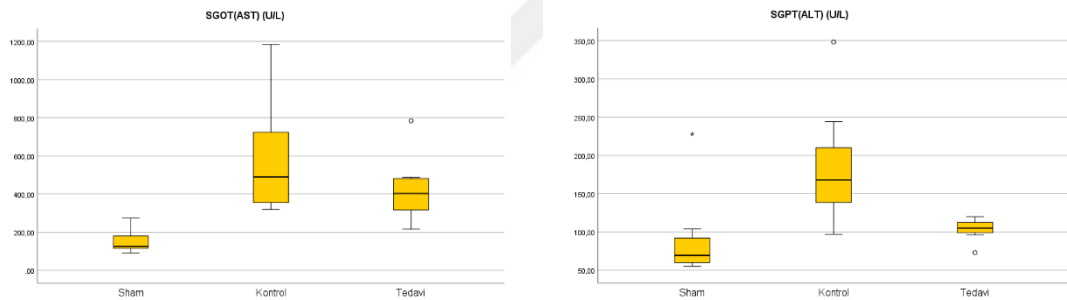
Hepatoselüler hasar testlerinde serum AST düzeyleri sham grubunda $151,37\pm 61,49$, kontrol grubunda $580,25\pm 296,03$ tedavi grubunda $425,12\pm 174,59$

olarak ölçüldü. AST seviyeleri sham grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olup ($p<0,001$, $p=0,004$) kontrol ve tedavi grupları arasında tedavi grubunda serum AST düzeyi daha düşük bulunmasına rağmen anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,437$). Serum ALT düzeyi ise sham grubunda $90,75\pm57,57$, kontrol grubunda $184,75\pm78,75$, tedavi grubunda $103,25\pm14,32$ olarak bulunmuş olup, sham grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı saptanmış, sham ve tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,001$, $p=0,191$). Kontrol ve tedavi grupları arasındaki değerlendirmede tedavi grubu ALT değerleri daha düşük bulunmuş olup bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,04$). (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

Tablo 4.2: AST ve ALT değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p^*	p^\dagger	p^Δ
AST	151,37±61,49	580,25±296,03	425,12±174,59	<0,001	0,004	0,437
ALT	90,75±57,57	184,75±78,75	103,25±14,32	0,001	0,191	0,04

AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin transaminaz p^* : Sham-Kontrol, p^\dagger : Sham-Tedavi, p^Δ : Kontrol-Tedavi, $p<0,05$



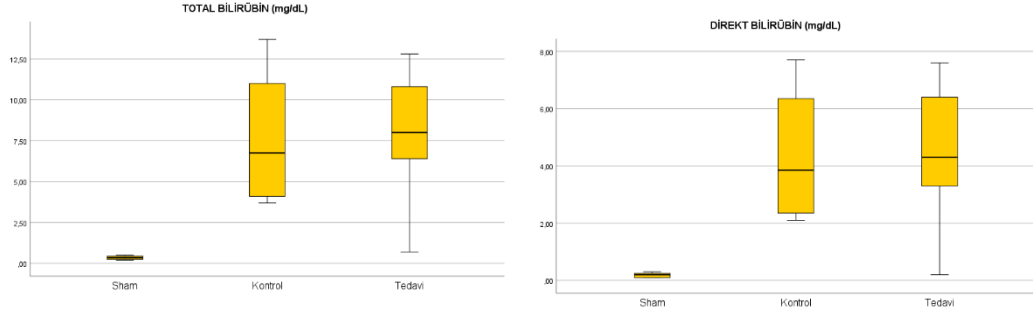
Şekil 4.2: AST ve ALT değerlerine ait grafikler.

Total bilirübin (TB) ve direkt bilirübin (DB) seviyelerinin karşılaştırılmasında TB düzeyleri sham grubunda $0,35\pm0,11$, kontrol grubunda $7,63\pm4,06$ tedavi grubunda $7,98\pm3,77$ olarak ölçüldü. TB seviyeleri sham grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olup ($p=0,001$, $p<0,001$) kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı değişiklik saptanmadı ($p=0,832$). DB düzeyleri de TB düzeylerine paralel olacak şekilde sham grubunda $0,18\pm0,08$, kontrol grubunda $4,36\pm2,30$, tedavi grubunda $4,47\pm2,36$ olarak bulunmuş olup, sham grubu ile kontrol ve tedavi grubu arasındaki fark anlamlı saptanmış ($p=0,02$, $p=0,001$) kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,929$) (Tablo 4.3) (Şekil 4.3).

Tablo 4.3: Serum TB ve DB değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	p ^Δ
TB	0,35±0,11	7,63±4,06	7,98±3,77	0,001	<0,001	0,832
DB	0,18±0,08	4,36±2,30	4,47±2,36	0,02	0,001	0,929

TB: Total bilirübin, DB: Direkt bilirübin p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, p<0,05

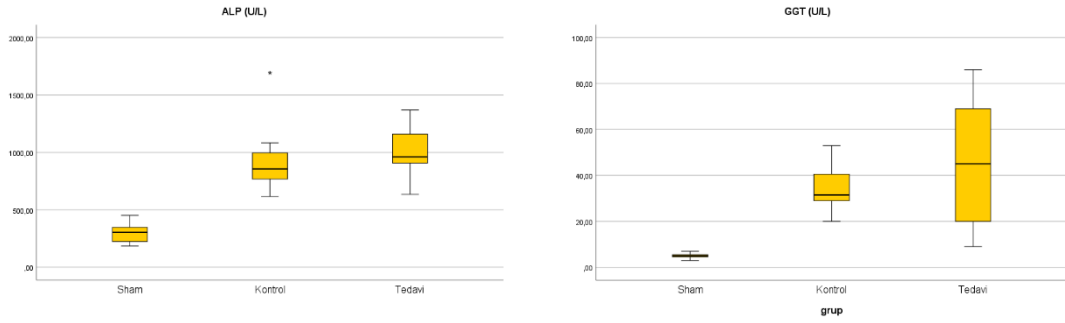
**Şekil 4.3:** Serum TB ve DB değerlerine ait grafikler.

Biliyer obstrüksiyon testlerinde serum ALP ölçümleri sham grubunda 298,37±89,92, kontrol grubunda 943,50±332,16 tedavi grubunda 1007,37±235,55 olarak bulundu. ALP seviyeleri sham grubunda kontrol ve tedavi grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olup (p=0,003, p<0,001) kontrol ve tedavi grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,437). GGT düzeylerinin değerlendirilmesinde ise sham grubunda 5,0±1,19, kontrol grubunda 34,37±10,16 tedavi grubunda 45,37±27,85 değerlerinde saptanmış olup, sham grubu ile kontrol ve tedavi grupları arasındaki fark anlamlı saptanmıştır (p=0,002, p<0,001). Kontrol ve tedavi grupları arasındaki değerlendirmede istatistiksel fark bulunmamıştır. (p=0,620). (Tablo 4.4) (Şekil 4.4).

Tablo 4.4: ALP ve GGT değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p†	p ^Δ
ALP	298,37±89,92	943,50±332,16	1007,37±235,55	0,003	<0,001	0,437
GGT	5,0±1,19	34,37±10,16	45,37±27,85	0,002	<0,001	0,620

ALP: Alkalin fosfataz, GGT: Gama-glutamil transferaz p*: Sham-Kontrol, p†: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



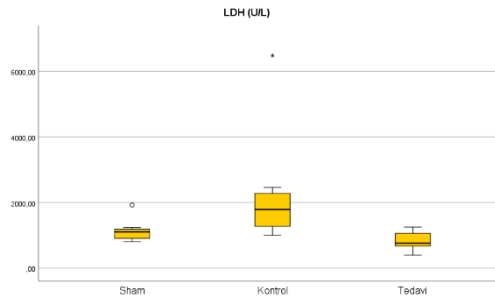
Şekil 4.4: ALP ve GGT değerlerine ait grafikler.

Serum LDH değerleri ise sham grubunda $1144,87 \pm 347,23$, kontrol grubunda $2271,87 \pm 1765,81$ tedavi grubunda $831,87 \pm 276,83$ olarak bulundu. LDH seviyeleri sham grubunda kontrol ve tedavi gruplarına göre anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,061$, $p=0,120$). Kontrol ve tedavi grupları arasında tedavi grubu lehine anlamlı düşüş olduğu görülmüştür ($p=0,001$) (**Tablo 4.5**) (**Şekil 4.5**).

Tablo 4.5: LDH değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p [†]	p ^Δ
LDH	$1144,87 \pm 347,23$	$2271,87 \pm 1765,81$	$831,87 \pm 276,83$	0,061	0,120	0,001

LDH: Laktat dehidrojenaz, p*: Sham-Kontrol, p[†]: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, $p < 0,05$



Şekil 4.5: LDH değerlerine ait grafik.

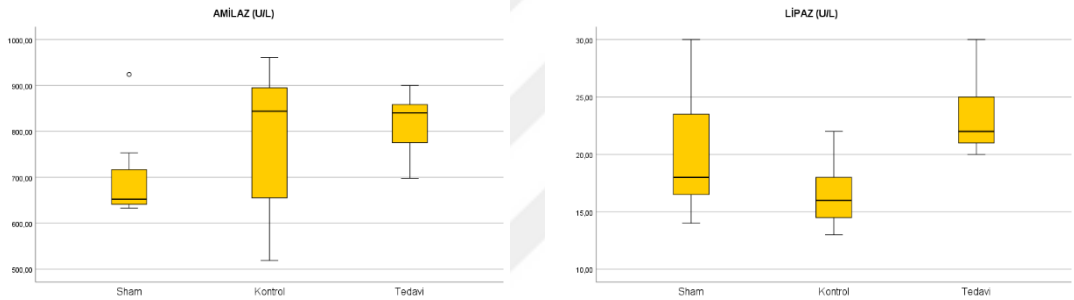
Amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılmasında serum amilaz değerleri sham grubunda $697,37 \pm 99,38$, kontrol grubunda $783,62 \pm 158,12$, tedavi grubunda $818,37 \pm 71,23$ olarak bulunmuş olup üç grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,314$, $p=0,115$, $p=0,820$). Lipaz seviyeleri ise sham grubunda $20,0 \pm 5,47$, kontrol

grubunda $16,5 \pm 2,82$ tedavi grubunda $23,25 \pm 3,37$ olarak saptanmış olup, sham grubu ile kontrol ve tedavi grupları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. ($p=0,170$, $p=0,101$). Kontrol ve tedavi grupları arasındaki değerlendirmede tedavi grubundaki lipaz değerinin yüksekliğinin kontrol grubuna göre anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0,003$) (Tablo 4.6) (Şekil 4.6).

Tablo 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p [†]	p ^Δ
Amilaz	697,37±99,38	783,62±158,12	818,37±71,23	0,314	0,115	0,820
Lipaz	20,0±5,47	16,5±2,82	23,25±3,37	0,170	0,101	0,003

p*: Sham-Kontrol, p[†]: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



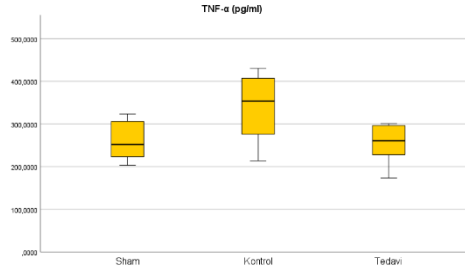
Şekil 4.6: Amilaz ve lipaz değerlerine ait grafikler.

Doku inflamasyon parametresi olarak TNF- α 'nın değerlendirilmesinde sham grubunda ortalama değer $261,23 \pm 45,63$, kontrol grubunda $340 \pm 79,10$, tedavi grubunda ise $255,64 \pm 46,11$ olarak bulunmuş; sham grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmış, tedavi grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,037$, $p=0,980$). Kontrol ve tedavi gruplarının karşılaştırılmasında ise TNF- α 'nın tedavi grubundaki ortalama değerinin düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,025$) (Tablo 4.7) (Şekil 4.7).

Tablo 4.7: TNF- α değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p*	p [†]	p ^Δ
TNF-α	261,23±45,63	340±79,10	255,64±46,11	0,037	0,980	0,025

TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α , p*: Sham-Kontrol, p[†]: Sham-Tedavi, p^Δ: Kontrol-Tedavi, p<0,05



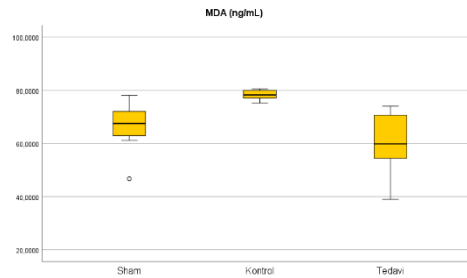
Şekil 4.7: TNF- α değerlerine ait grafik.

Oksidatif stres parametrelerinin değerlendirilmesinde MDA değerleri sham grubunda $66,24 \pm 9,53$, kontrol grubunda $78,29 \pm 1,84$, tedavi grubunda $60,35 \pm 11,32$ olarak bulunmuştur. Sham grubunun kontrol grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanırken, tedavi grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,031$, $p=0,386$). Kontrol grubu ve tedavi grubunun karşılaştırılmasında ise tedavi grubunun ortalama değerindeki düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4.8) (Şekil 4.8).

Tablo 4.8: MDA değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p^*	p^\dagger	p^Δ
MDA	$66,24 \pm 9,53$	$78,29 \pm 1,84$	$60,35 \pm 11,32$	0,031	0,386	<0,001

MDA: Malondialdehit, p^* : Sham-Kontrol, p^\dagger : Sham-Tedavi, p^Δ : Kontrol-Tedavi, $p<0,05$



Şekil 4.8: MDA değerlerine ait grafik.

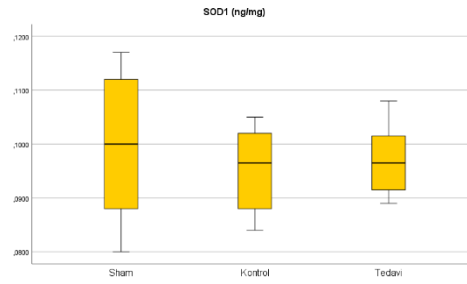
Doku SOD1 değerleri sham grubunda $0,099 \pm 0,013$, kontrol grubunda $0,095 \pm 0,007$, tedavi grubunda $0,097 \pm 0,009$ olarak ölçülmüştür. Her üç grubun

karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,719$, $p=0,876$, $p=0,779$). (Tablo 4.9) (Şekil 4.9).

Tablo 4.9: SOD1 değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p^*	p^\dagger	p^Δ
SOD1	0,099±0,013	0,095±0,007	0,097±0,009	0,719	0,876	0,779

SOD1: Süperoksit dismutaz, p^* : Sham-Kontrol, p^\dagger : Sham-Tedavi, p^Δ : Kontrol-Tedavi, $p<0,05$



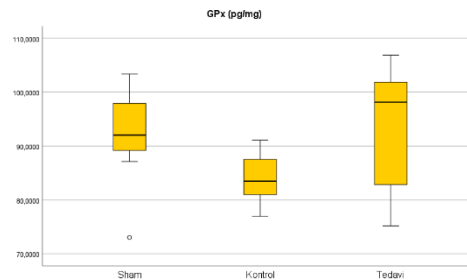
Şekil 4.9: SOD1 değerlerine ait grafik.

Doku GPx değerleri sham grubunda $91,83\pm 9,16$, kontrol grubunda $84,01\pm 4,62$, tedavi grubunda $93,47\pm 12,23$ olarak ölçülmüştür. Her üç grubun karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,126$, $p=0,951$, $p=0,157$) (Tablo 4.10) (Şekil 4.10).

Tablo 4.10: GPx değerlerinin karşılaştırılması

	Sham	Kontrol	Tedavi	p^*	p^\dagger	p^Δ
GPx	91,83±9,16	84,01±4,62	93,47±12,23	0,126	0,951	0,157

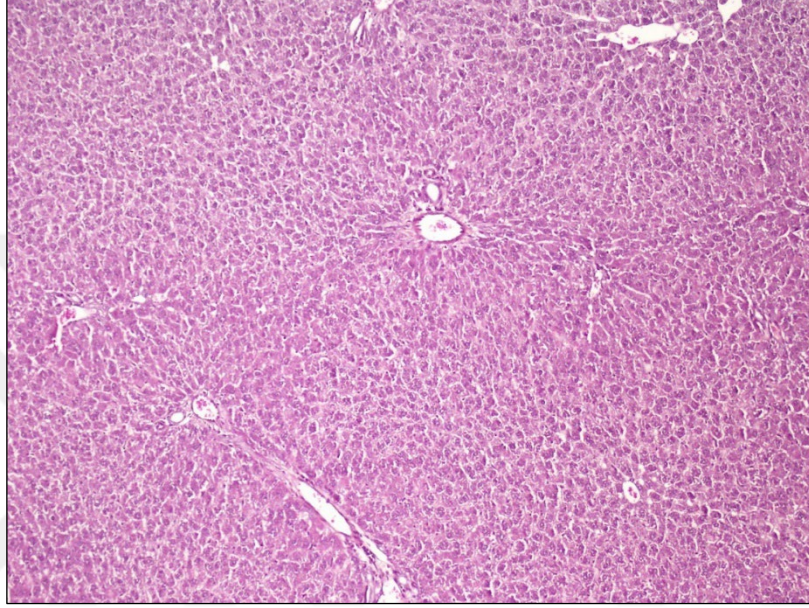
GPx: Glutasyon peroksidaz, p^* : Sham-Kontrol, p^\dagger : Sham-Tedavi, p^Δ : Kontrol-Tedavi, $p<0,05$



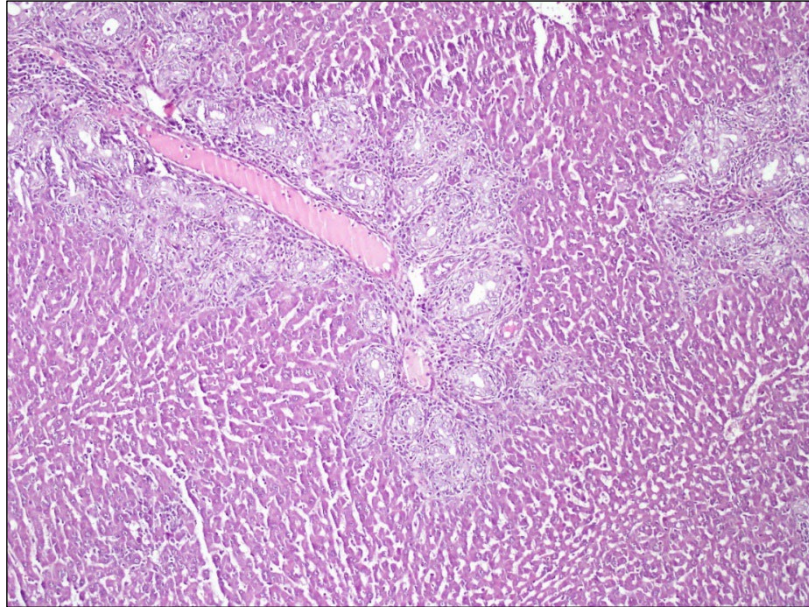
Şekil 4.10: GPx değerlerine ait grafik.

4.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Bulgular

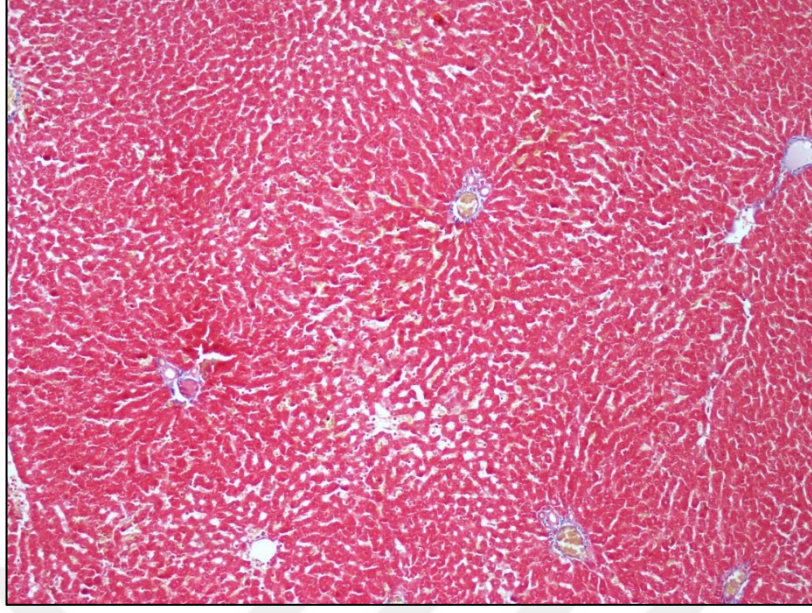
Sham grubunda portal inflamasyon izlenmemiş olup kontrol grubunda orta derecede inflamasyon ($p=0,001$) ve tedavi grubunda hafif derece inflamasyon ($p=0,007$) izlenmesinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiş olup tedavi grubunda inflamasyon derecesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (Şekil 4.11, 4.12).



Şekil 4.11: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi (x100, Hemotoksilen- eozin)

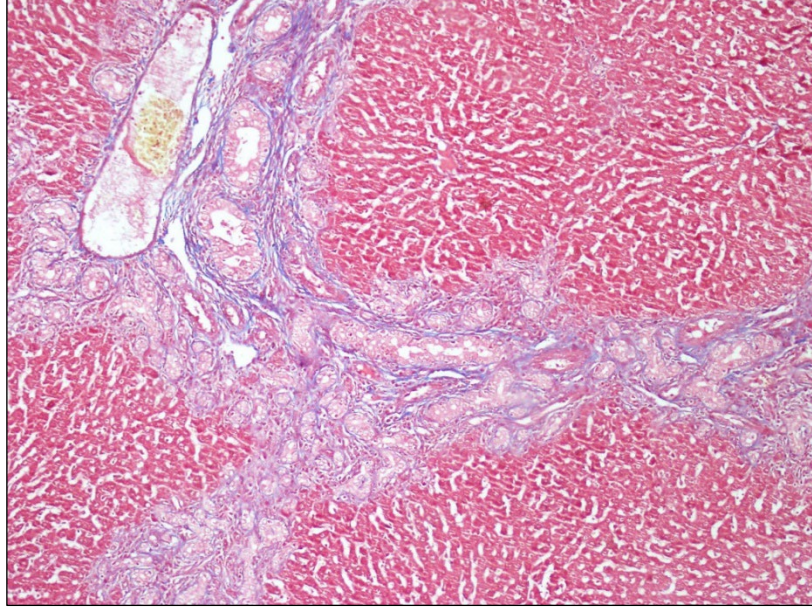


Şekil 4.12: Kontrol grubunda hasarlı portal alan ve belirgin duktüler proliferasyonun görüntüsü (x200, Hemotoksilen- eozin)

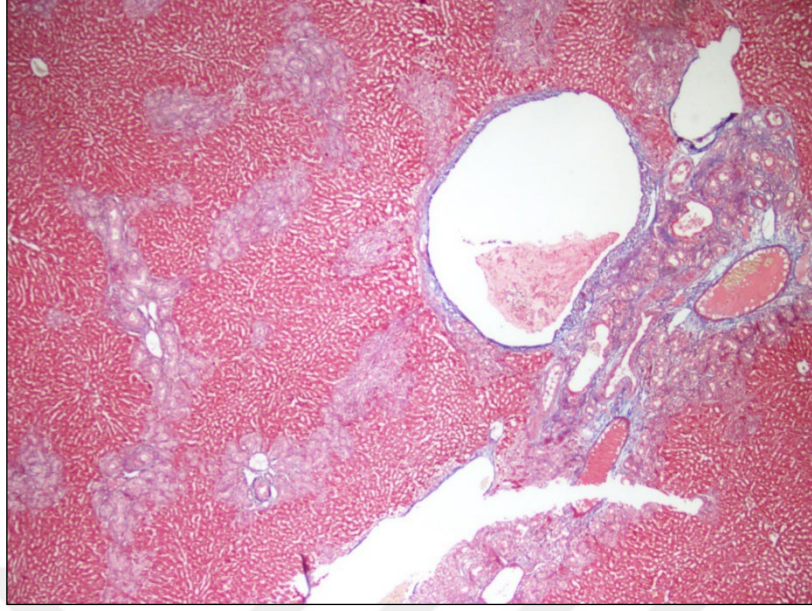


Şekil 4.13: Sham grubunda normal görünümdeki portal alan, santral ven ve karaciğer parankimi (x100, Masson's Trichrome)

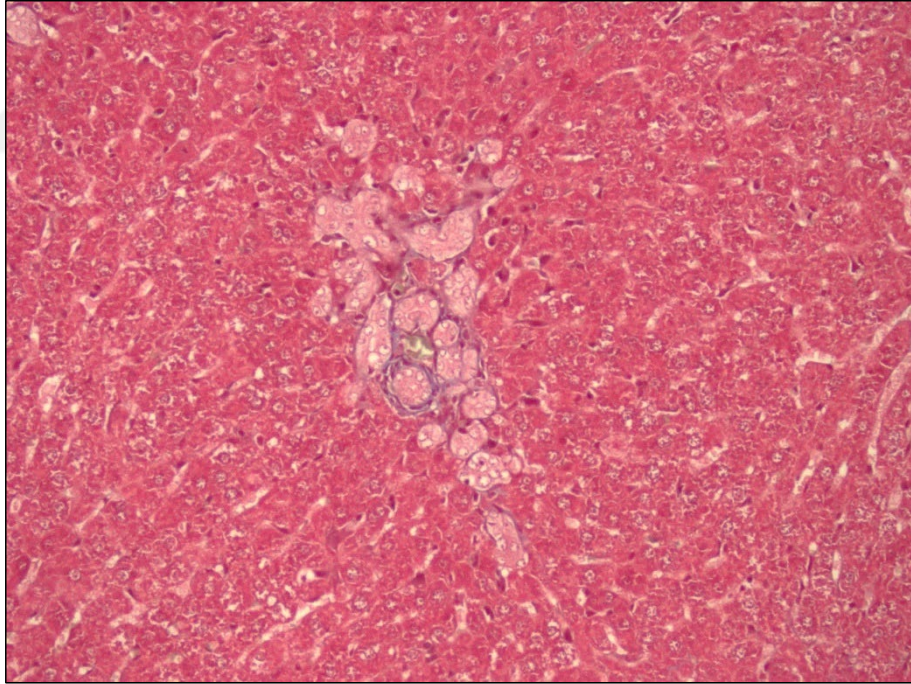
Sham grubunda karaciğer dokusunda fibrozis izlenmemiş, kontrol grubundaki sıçanların çoğunda porto-portal köprüleşme saptanmış ve tedavi grubunun fibrozis derecesi ile karşılaştırıldığında tedavi grubunda daha az fibrozis görülmüş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,031$) (Şekil 4.13-16).



Şekil 4.14: Kontrol grubunda hasarlı portal alanda artmış duktüler proliferasyon ve çevresindeki fibrozisin görüntüsü (x200, Masson's Trichrome)

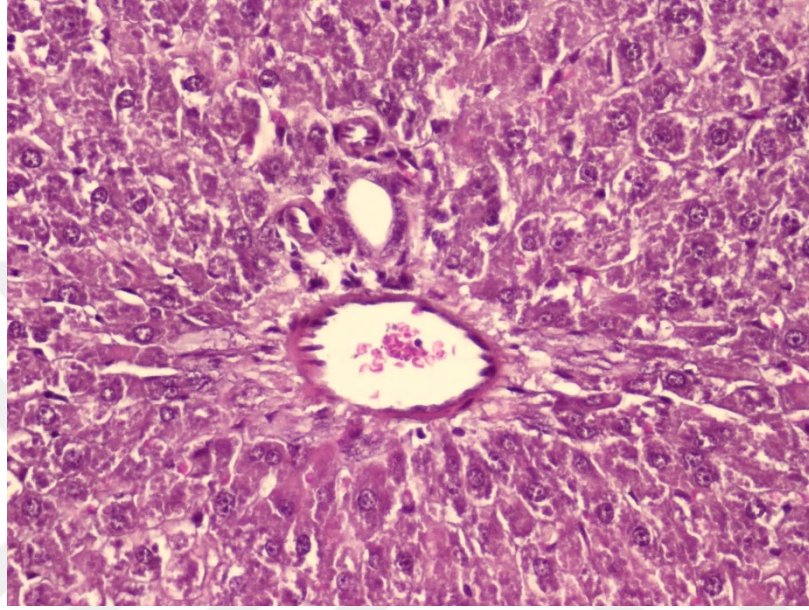


Şekil 4.15: Kontrol grubunda hasarlı portal alanlar arasındaki köprüleşme fibrozisinin görüntüsü (x100, Masson's Trichrome)

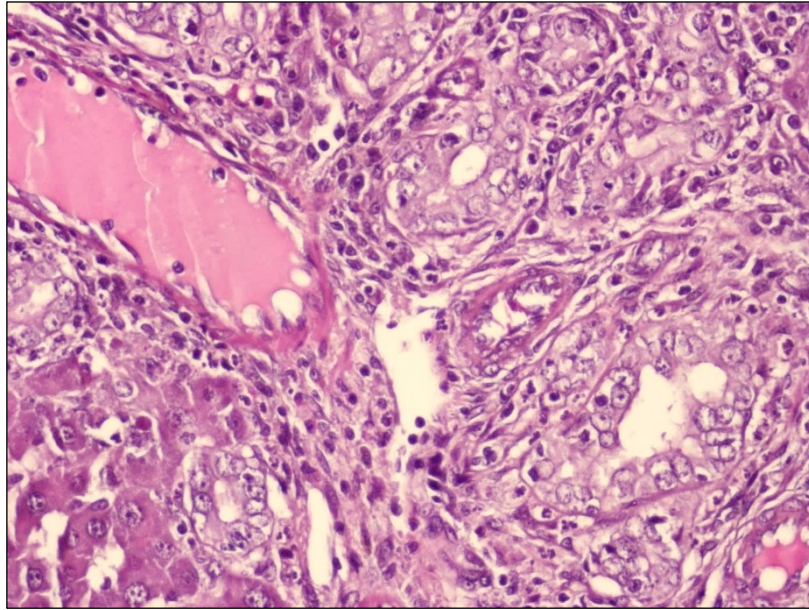


Şekil 4.16: Tedavi grubunda portal alanda saptanmış en yoğun fibrozisin görünümü (x200, Masson's Trichrome)

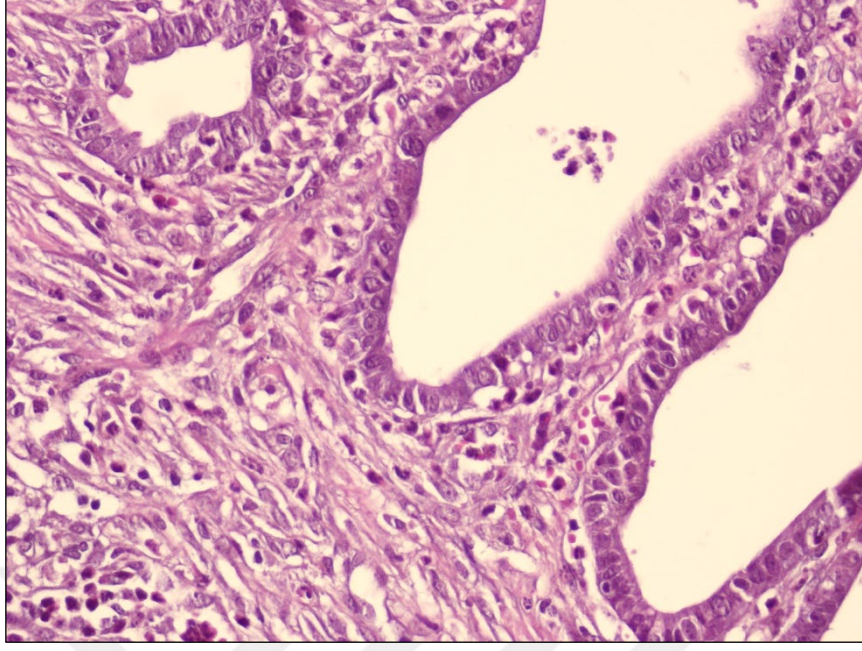
Sham grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon bulgusu gözlenmemiştir. Kontrol grubunda şiddetli derecede duktus hasarı ve duktüler proliferasyon ($p<0,001$), tedavi grubunda ise hafif derecede safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon ($p=0,004$) izlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.12, 4.17-22).



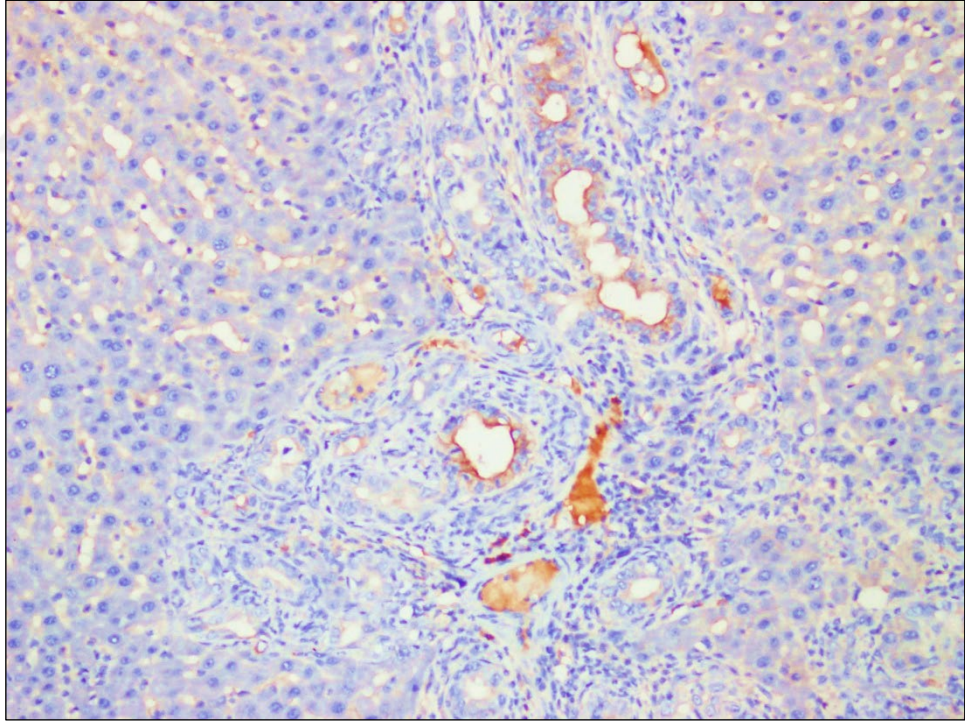
Şekil 4.17: Sham grubunda normal izlenen portal alanda safra duktusunun görüntüsü (x400, Hemotoksilen- eozin)



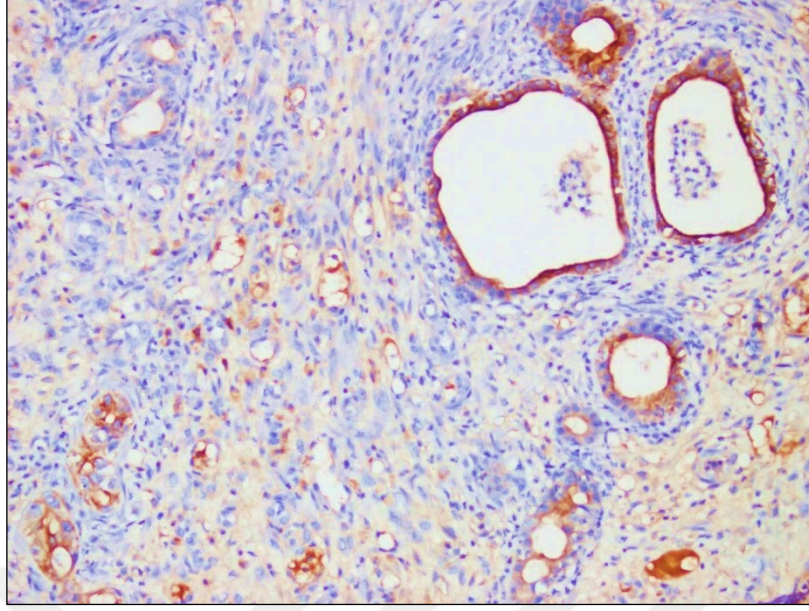
Şekil 4.18: Kontrol grubunda belirgin olarak görülen safra duktus hasarı (x400, Hemotoksilen- eozin)



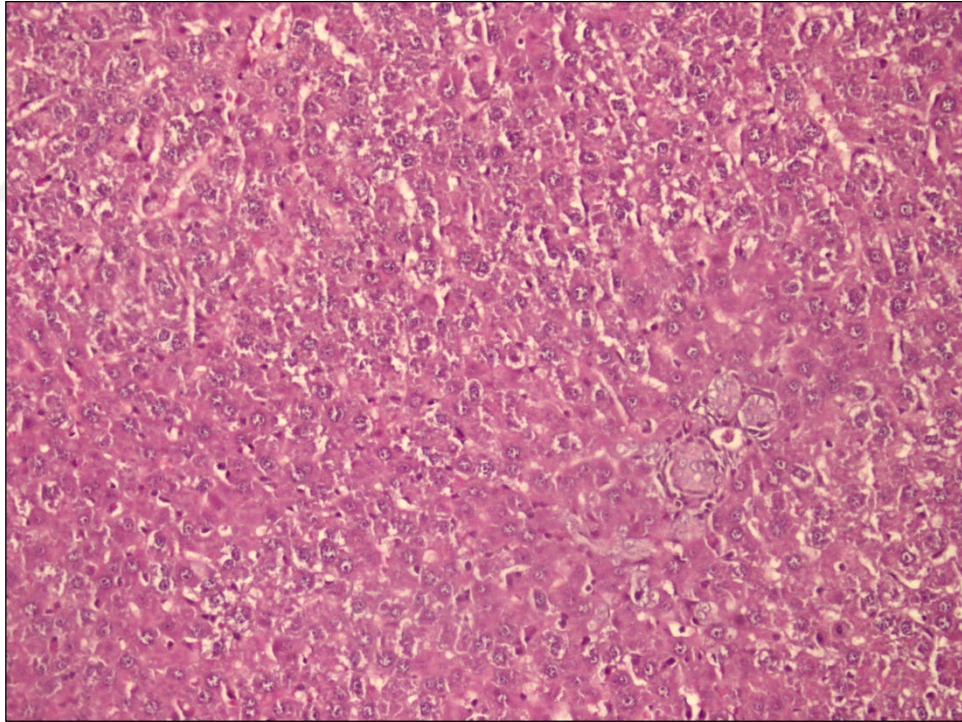
Şekil 4.19: Kontrol grubunda duktulit görüntüsü; hasarlı safra duktuslarında lenfosit ve polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu (x400, Hemotoksilen- eozin)



Şekil 4.20: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-7 (+)liği (x200, CK-7)

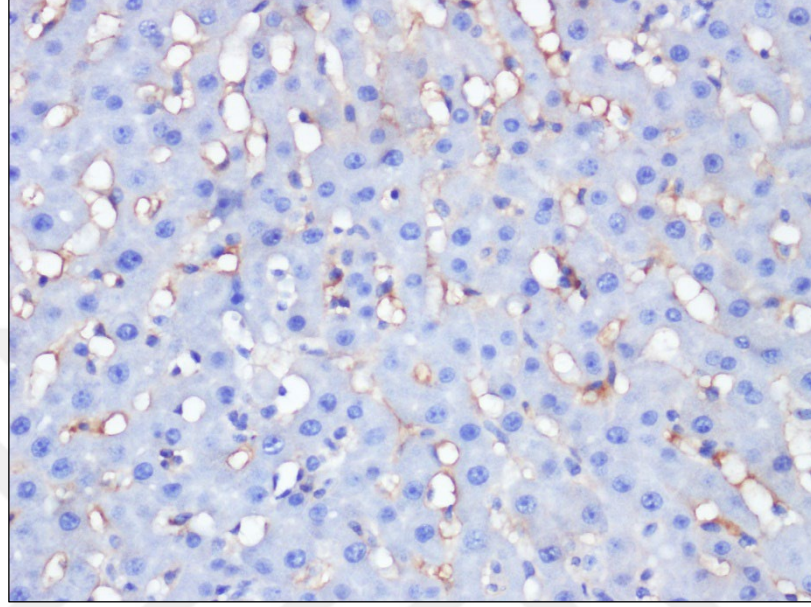


Şekil 4.21: Kontrol grubunda hasarlı safra epitelinde CK-19 (+) liği (x200, CK-19)

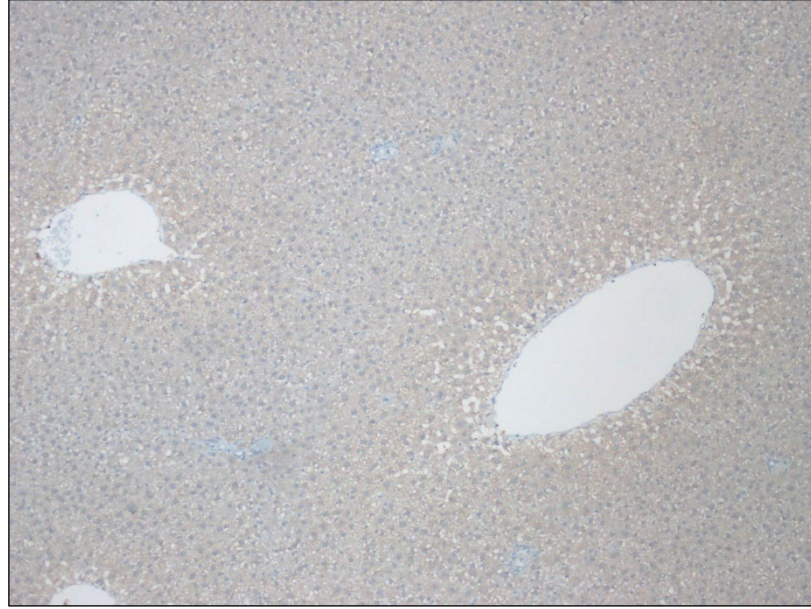


Şekil 4.22: Tedavi grubunda safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyon; normal karaciğer parankimi içerisinde bulunan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oldukça gerilemiş duktüler proliferasyon alanı (x100, Hemotoksilen- eozin)

Kolestaz dereceleri değerlendirildiğinde sham grubunda kolestaz bulgusu görülmemiştir. Kontrol grubunda şiddetli derece kolestaz izlenmiş olup ($p<0,001$), tedavi grubunda hafif derecede kolestaz izlenmiş ($p=0,004$) bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır (Şekil 4.23).

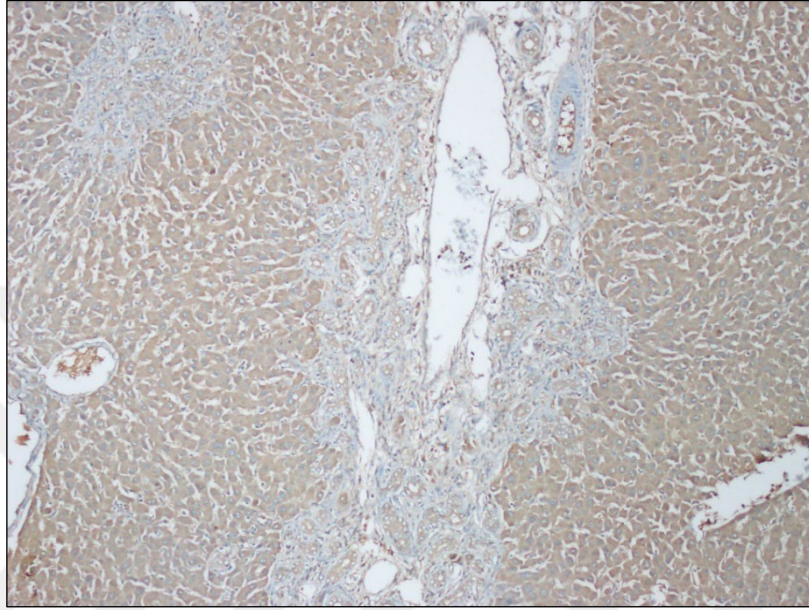


Şekil 4.23: Kanaliküler safra tıkaçlarının görüntüsü (x400, CK-19)



Şekil 4.24: Sham grubunda HGF ekspresyonu, santral ven çevresinde yoğunlaşmış HGF ekspresyonunun görüntüsü (x100, HGF)

TZP etkinliğinin değerlendirilmesinde sham grubunda HGF ile hafif derecede boyanma izlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol grubunda HGF ile kuvvetli boyanma görülmüş olup ($p<0,001$), tedavi grubunda orta derecede boyanma izlenmiştir ($p=0,004$) ve her  grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (**şekil 4.24-26**).

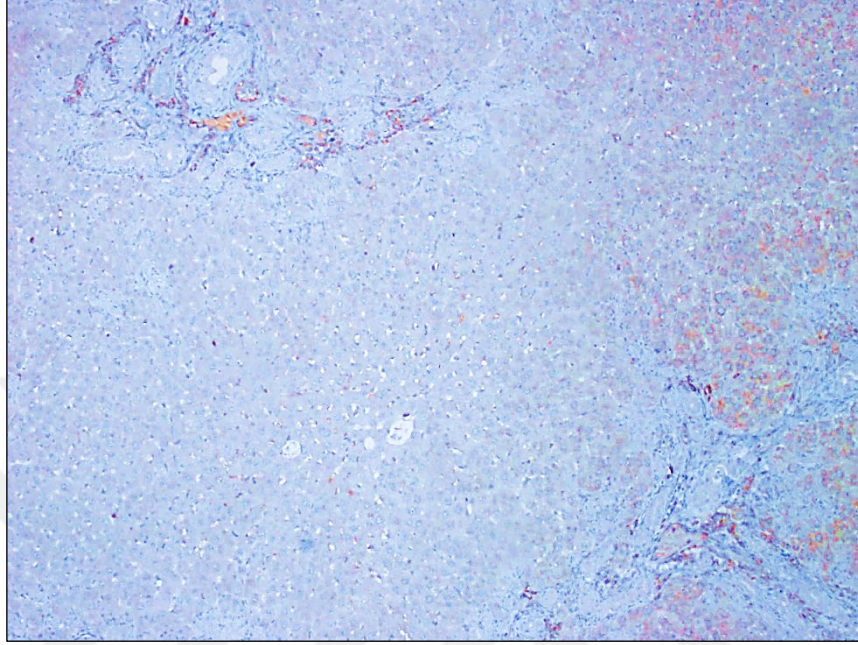


şekil 4.25: Kontrol grubunda HGF ekspresyonu; hasarlı portal alanda ve santral ven çevresi parankimin tamamında gözlenen HGF ekspresyonu, safra duktus eptelinde de over-ekspresyon izlenmekte (x100, HGF)

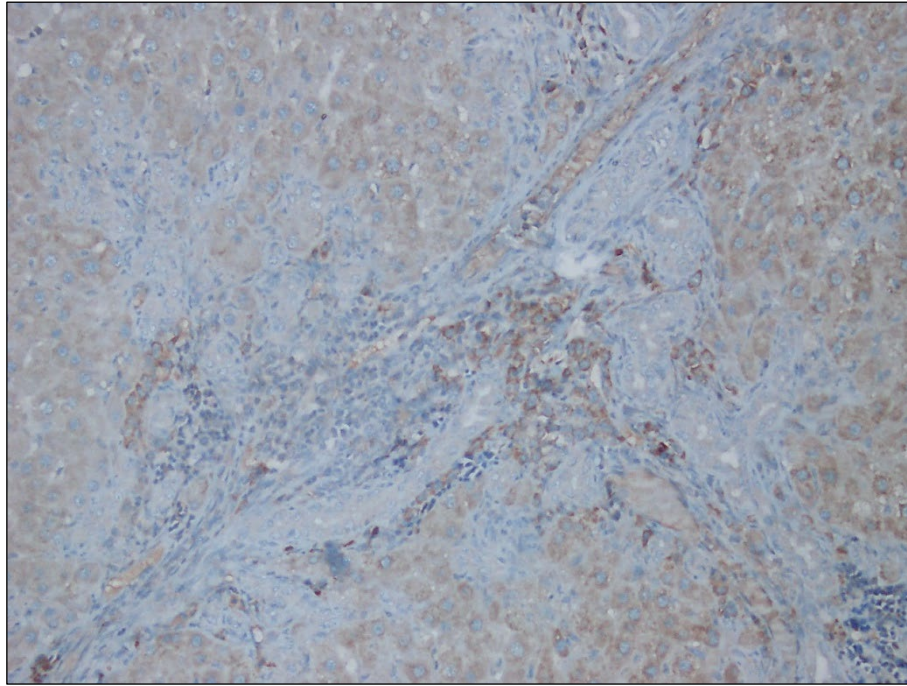


şekil 4.26: Tedavi grubunda HGF ekspresyonu; santral ven evresi HGF ekspresyonu izlenirken, hafif hasarlı portal alanda ekspresyon görülmemekte (x100, HGF)

TGF- β ' nin değerlendirmesinde sham ve kontrol grubunda anlamlı boyanma izlenmemiş olup ($p < 0,001$) tedavi grubunda çoğunlukla orta derecede boyanma izlenmiş ($p = 0,004$) ve bu fark anlamlı saptanmıştır (**şekil 4.27, 28**).



şekil 4.27: Tedavi grubunda TGF- β ekspresyonu, duktuler proliferasyon alanında belirgin ekspresyon görülmekte (x200, TGF- β)



şekil 4.28: Tedavi grubunda duktuler proliferasyon alanında artmış TGF- β ekspresyonu (x400, TGF- β)

5. TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı safra yolu taşları, inflamatuvar süreçler gibi benign nedenlerden kaynaklanabileceği gibi malign hastalıkların neticesinde de ortaya çıkabilir (1).

Tıkanma sarılığında oluşan patolojik süreçlerin arkasında immünite sonucu oluşan sitokinler bulunmaktadır. Oluşan sitokinler sadece karaciğer üzerinde değil diğer organ sistemleri üzerine de olumsuz etkilere sahiptir. Artan sitokin miktarı ve endotoksinler reaktif oksijen radikallerinin de oluşumunu arttırarak hücresele düzeyde hasara neden olmaktadır (108,109).

Tıkanma sarılığının fizyopatolojisinde iki önemli durum görülmektedir. Bunlardan ilki bilirübinin ve safra tuzlarının birikimine bağı toksik etkiler ikincisi de antioksidan-oksidan mekanizmalardaki dengenin bozulması ve lipid peroksidasyonunun artışıdır (110). Literatür incelendiğinde tıkanma sarılığına bağı patolojik süreçlere karşı çeşitli eksojen maddelerin kullanıldığı ve etkilerinin olduğu gösterilmiştir.

Trombositten Zengin Plazma' nın çeşitli sistemler üzerindeki etkileri daha önceden incelenmiş olup literatürde farklı hepatotoksik ajanlar ile indüklenmiş karaciğer hasarına karşı etkilerinin araştırıldığı görülmüş ancak tıkanma sarılığının etkileri üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Serum total protein ve albümin değerleri karaciğerin sentez fonksiyonunu göstermede önemli parametrelerdir. Abdel Fattah ve ark.' nın yaptığı çalışmada kurşun nitrat± gamma radyasyon ile indüklenmiş hepatotoksisite hayvan modelinde TZP uygulanan gruplarda total protein ve albümin düzeylerinde anlamlı yükselme saptanmıştır (111). Bizim çalışmamızda tedavi grubunda total protein düzeyi artmış olmasına rağmen albümin düzeyinde düşüş görülmüş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Literatürden farklı çıkan bu sonucun deney süresi ve tedavi sıklığı ile alakalı olduğunu düşünmekteyiz.

Tıkanma sarılığı modeli oluşturulan sıçanlara ilk hasarlanan organ karaciğer olup bu hasarın gösterilmesinde AST ve ALT ölçümleri karaciğer hasarının göstergeleri olarak kabul görmektedir. AST beyin, böbrekler, kalp kası gibi dokularda da bulunduğu için ALT kadar karaciğere spesifik bir belirteç değildir (112). Bununla birlikte karaciğer hasarında ALT ile AST düzeylerinde de artış görülmektedir (113). Çalışmamızda kontrol ve tedavi gruplarında AST ve ALT değerlerinin sham grubuna göre anlamlı derecede arttığı görülmekte bu da oluşturduğumuz tıkanma sarılığı modelinin karaciğer üzerinde hasarlanmaya neden olduğunu göstermektedir.

Farklı hepatotoksik ajanlar ile indüklenmiş karaciğer hasarı çalışmalarında TZP uygulamasının karaciğer hasarında gerilemeye neden olduğu, AST ve ALT düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü görülmüştür (114,115). Bizim çalışmamızda ALT düzeyinde anlamlı düşüş saptanmış, AST düzeyindeki düşüş ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TZP' nin farklı yöntemler ile karaciğer hasarı üzerine etkilerinin değerlendirildiği farklı çalışmalar olsa da ilk kez bizim çalışmamızda TS ve oksidatif stres üzerine geniş çaplı olarak değerlendirilmiştir.

Birçok deneysel sarılık modelinde ana safra kanalının bağlanması sonrası total ve direkt bilirübin düzeylerindeki artış kesin olarak gösterilmiştir (116,117). Bayat ve ark.' nin tıkanma sarılığı oluşturulmuş sıçanlarda hepatik ensefalopatiye yönelik yaptığı deneysel çalışmada TZP uygulanan grupta bilirübin düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır (118). Çalışmamızda da beklendiği üzere mekanik olarak oluşturulmuş sarılık modelinde TZP uygulamasının kontrol ve tedavi grupları arasında bilirübin düzeyleri arasında fark oluşturmadığı görülmüştür.

Hücre zarına bağlı bir glikoprotein olan ALP; kemik, karaciğer, bağırsak, böbrek gibi organlarda bulunmaktadır (119). GGT ve LDH de aynı şekilde vücutta farklı organlarda yaygın olarak bulunur. Farklı dokularda bulunmaları nedeniyle bu enzimlerin birlikte artışları hepatobiliyer patolojiler açısından anlamlı olup, safra epiteli hasara uğradığı durumlarda ALP ve GGT üretilirken karaciğer tarafından da LDH salınımı gerçekleşir (120,121). Yine Salem ve ark.' nin yaptığı çalışmada TZP uygulaması sonrası GGT ve LDH düzeylerinde düşüş görülmüş, Bayat ve ark.' nin uyguladığı deneysel modelde TZP uygulaması sonrası ALP düzeylerinde anlamlı fark bulunmamıştır (115,118). Bizim çalışmamızda tedavi ve kontrol grupları arasında ALP

ve GGT düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmamış ancak LDH' nin dramatik şekilde düştüğü gözlenmiştir. Bu da TZP' nin karaciğer üzerine koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

Serum amilaz ve lipaz düzeyleri pankreatik rezervin dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Taniguchi ve ark.' nın çalışmasında tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanlarda pankreatik rezervde azalma gözlenmiş, serum amilaz düzeyleri ilk üç günde artarken 1 ve 4 haftalık dönemdeki takiplerde amilaz düzeyinin düştüğü görülmüştür (122). El-Haroun ve ark.' nın streptozotosin ile indüklenerek tip 1 diabetes mellitus oluşturduğu sıçanlarda TZP uygulamasının serum amilaz ve lipaz düzeylerini anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir (123). Bizim deneysel çalışmamızda serum amilaz düzeyleri kontrol ve tedavi grubunda sham grubuna göre artış göstermiş, tedavi grubundaki artış daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Kontrol grubundaki amilaz seviyesindeki yüksekliğin sakrifikasyon zamanlamasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Lipaz seviyeleri değerlendirildiğinde ise kontrol grubunda düşüş ve tedavi grubunda artış gözlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Taiwan' da yapılan bir çalışmaya göre tıkanma sarılığı oluşturulmuş farelerde TNF- α düzeylerinin yükseldiği ve bunun sonucunda oksidatif stresin artarak karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmiştir (124). Çalışmamızda doku TNF- α düzeyleri incelendiğinde tedavi grubundaki ölçüm ortalamasının kontrol hatta ve sham grubundan bile düşük olduğu bu farkın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görülmüştür. Bu bulgu TZP' nin antiinflamatuvar etkisini destekler niteliktedir.

Literatür incelendiğinde karaciğer üzerinde farklı modellerle oluşturulmuş oksidatif strese karşı TZP yanıtı değerlendirildiğinde TZP tedavisinin oksidan-antioksidan parametrelerde (MDA, total antioksidan kapasite, GPx, SOD1 vb.) anlamlı derecede fark yarattığı görülmüştür (111,125,126). Bizim çalışmamızda da MDA, SOD1 ve GPx düzeyleri incelenmiştir, ancak tedavi ve kontrol grupları arasında MDA düzeyleri harici anlamlı fark saptanmamıştır. Literatürde olduğu gibi tedavi grubunda MDA seviyeleri azalma göstermiş; SOD1 ve GPx seviyelerinde artış görülmüş ancak MDA seviyesi haricindeki bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Fark

olmamasının sebebi ise deney ve tedavi süresinin planlaması ve gruplardaki en yüksek ve en düşük değerler olduğu düşünülmüştür.

Hesami ve ark.'nın karbon tetraklorür (CCl₄) ile Shoeib ve ark.'nın çalışmasında deneysel olarak tiyoasetamid ile karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçanlarda tedavi olarak TZP uygulandığında histopatolojik incelemelerde lenfosit infiltrasyonunun azaldığı, fokal nekrozun gerilediği, inflamatuvar hücre cevabının azaldığı ve karaciğerdeki yapısal bozulmanın daha az olduğu görülmüştür (114,127). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak TZP uygulanan grupta inflamasyonun anlamlı derecede gerilediği görülmüştür.

Salem ve ark.'nın çalışmasında dimetilnitrozüre ile indüklenen karaciğer hasarına karşı TZP uyguladıkları sıçanlarda histopatolojik incelemelerde periduktüler fibrozis, safra duktus hasarı ve safra kanallarında kolestaz bulgularında anlamlı olarak azalma görülmüştür (115). Mafi ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise CCl₄ ile oluşturdukları hepatotoksite modelinde TZP uygulamasının bağ doku oluşumunu yani fibrozisi azalttığı görülmüştür (128). Bizim deneysel çalışmamızda da TZP uygulanan tedavi grubunda fibrozisin daha az olduğu, safra duktus hasarı ve duktüler proliferasyonun kontrol grubuna göre gerilediği, kolestazın anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda kolestaza bağlı bakır birikimini göstermek amacı ile rodamin ve orcein ile boyama yapılmış ancak kontrol ve tedavi grubundaki hiçbir deney hayvanının karaciğer dokusunda anlamlı boyanma gözlenmemiştir. Bunun nedeninin ise bakır birikiminin kolestaza bağlı karaciğer hasarında uzun dönem sonuç olarak bulgu verdiği ve deney süresinin birikimi göstermek için yeterli uzunlukta olmadığı düşünülmektedir.

Literatürde TZP'nin karaciğer üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde dokudaki büyüme faktör etkinliğini göstermek için immünohistokimyasal inceleme yöntemlerine daha önceden başvurulmadığı görülmektedir. Valiyev ve ark.'nın çalışmasında radyasyon rektiti oluşturulan ratlarda TZP tedavisi sonrası rektum dokusunda PDGF, VEGF gibi büyüme faktörlerinin yoğunluğu immünohistokimyasal olarak gözlemlenmiştir (129). Bizim çalışmamızda da TZP'nin etkinliğini

değerlendirmek amacı ile karaciğer dokularında HGF ve TGF- β yoğunluğu immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir.

Literatür incelendiğinde Wolf ve ark.'nın çalışmasında normal karaciğer dokusunda HGF immünreaktivitesinin Kuppfer hücreleri, santral ven ve portal damarların endotel hücrelerinde gözlenmiş, ancak portal ven endotelinde gözlenmemiştir (130). Tekkesin ve ark.'nın yaptığı çalışmada CCl₄ ile indüklenmiş hepatotoksisite modelinde hasarlı karaciğer dokusunda HGF immünreaktivitesinin genel olarak arttığı gözlemlenmiştir (131). Çalışmamızda HGF ekspresyonu kontrol grubunda tüm karaciğer parankiminde gözlenmiş, safra duktus epitelinde over ekspresyon görülmüştür. Tedavi grubunda ise HGF immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre portal alan çevresinde azaldığı bulunmuş olup bu fark anlamlı saptanmıştır. TZP içerisinde bulunmasına rağmen tedavi grubunda değil kontrol grubundaki sıçanların karaciğer dokusunda HGF ekspresyonunun daha fazla olmasının nedeni karaciğerin tıkanma sarılığına bağlı oluşan hasara karşı otokrin ve parakrin etkisi olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda TGF- β immünreaktivitesi değerlendirildiğinde TZP uygulanan grupta sham ve kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuş olup TZP'nin karaciğer dokusuna ulaştığını kanıtlar niteliktedir.

Çalışmamızın pozitif katkıları; TS'ye bağlı karaciğer hasarı ve oksidatif strese karşı birçok eksojen madde üzerinde çalışma yapılmış olup yeni bir modalite olan, düşük maliyetli ve sık tekrarlanabilen TZP tedavisinin etkinliğinin araştırıldığı ilk araştırma çalışmamız olmuştur. TZP otolog bir kan ürünü olması dolayısıyla yan etki oluşturma, immün cevap ve bulaşıcı hastalık taşıma gibi riskleri bulunmamaktadır.

Çalışmamızın kısıtlılıkları değerlendirildiğinde; deney hayvanı modeli olarak çalışılması yüzünden örneklem grubunun küçük olması nedeniyle bazı istatistiksel değerlendirmeler yeterli olmamıştır. TZP uygulamasına yönelik en önde gelen sınırlama klinik modalitelerde kullanımının yararlarını tespit edebilmek için yeteri kadar klinik verinin olmaması ve randomize kontrollü çalışmaların sayısının yetersizliği olarak görülmektedir. Trombositlerin vücut dışında kısa ömürlü olması ve

depolanması için gereken spesifik koşullar sebebiyle tedavinin kolay uygulanabilir olması zorlaşabilir.

TZP' nin intravenöz yolla uygulanması sonrası sistemik tedavi etkinliğinin sağlanmasını araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Sistemik yolla TZP uygulanması sonrası hedef organ harici sistemlere etkileri net olarak bilinmemektedir. Literatürde tıkanma sarılığı için olmasa da cerrahi girişim sonrası direkt olarak karaciğere ulaşması amacı ile mezenterik venden TZP enjeksiyonu yapılan deneysel çalışmalar olup, bu çalışmalarda uygulamanın olumlu sonuçları olduğu görülmüştür. İlerleyen dönemlerde gerek benign gerekse de malign kaynaklı tıkanma sarılığında lokal uygulama yapılan daha büyük hayvan modelleri ve klinik çalışmalar ile girişimsel radyolojik yöntemler kullanılarak tedavi sonuçlarının değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamızda TZP' nin tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarında ALT ve LDH seviyelerini düşürdüğü gözlemlendi. TS sonucu pankreas rezervindeki azalmaya karşı tedavi sonrası serum amilaz ve lipaz seviyelerinde artış gözlenmiş, sadece lipaz seviyelerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Doku düzeyinde inflamasyonu değerlendirmek amacı ile yapılan TNF- α ölçümlerinde TZP uygulanan tedavi grubunda TNF- α düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Doku oksidatif stres göstergesi olarak MDA düzeyleri tedavi grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Antioksidan parametre olarak SOD1 ve GPx düzeyleri tedavi grubunda kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen anlamlı fark saptanmamıştır.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde, tüm değerlendirilen parametrelerde TZP tedavisinin tıkanma sarılığında karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olduğu görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Yapılan bu deneysel çalışma, TZP tedavisinin tıkanma sarılığına bağlı karaciğer hasarında sistemik ve histopatolojik etkilerinin geniş çaplı değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğine sahiptir. Bunun yanı sıra TZP' nin farklı karaciğer hasar modelleri üzerinde tedavi edici etkisinin olduğu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında tıkanma sarılığına bağlı kolestaz modelinde de literatürle benzer sonuçlara sahip olduğu ve hepatoprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir.

TZP' nin deneysel olarak oluşturulmuş tıkanma sarılığı modelinde tedavi edici etkisi kanıtlanmış olsa bile lokal uygulama ve klinik kullanıma geçişinin sağlanması için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. He Cs, Yue Hy, Xu J, et al. Protective Effects Of Capillary Artemisia Polysaccharide On Oxidative İnjury To The Liver İn Rats With Obstructive Jaundice. *Exp Ther Med.* 2012;4(4):645-648. Doi:10.3892/Etm.2012.666
2. Solmaz A, Gülçiçek OB, Erçetin C, et al. Nesfatin-1 alleviates extrahepatic cholestatic damage of liver in rats. *Bosn J Basic Med Sci.* 2016;16(4):247-253. doi:10.17305/bjbms.2016.1465
3. Altug E, Sonmez K, Turkyilmaz Z, et al. Effect of Ginger Extract on Liver Damage in Experimental Obstructive Jaundice Produced by Main Bile Duct Ligation. *Acta Chir Belg.* 2013;113(1):8-13. doi:10.1080/00015458.2013.11680877
4. Erkol H, Kahramansoy N, Kordon O, Buyukasik O, Serin E, Ulas N. Effects of beta-glucan on hepatic damage caused by obstructive jaundice. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery.* 2011;17(4):303-307. doi:10.5505/tjtes.2011.88964
5. Dr. Kemal Uslu (Uzmanlık Tezi) Ratlarda Trombositten Zengin Plazma, Sistemik Ozon ve Hiperbarik Oksijen Tedavisinin İntrooral Yara İyileşmesindeki Etkilerinin Araştırılması. Tez Danışmanı: Uzm. Dr. Hasan Deniz Tansuker. İstanbul, 2019.
6. Thomas William S. Digestive System. In: *Langman's Medical Embryology.* 14th ed. Wolters Kluwer; 2019:230-255.
7. Yıldırım M. Karaciğer. In: *Topografik Anatomi.* 2nd ed. Nobel Tıp Kitabevleri; 2004:251-253.
8. Arıncı K, Elhan A. Karaciğer. In: *Anatomi.* Vol 1. 7th ed. Güneş Tıp Kitabevleri; 2020:265-274.

9. Jamieson GG. Karaciğer Anatomisi. In: *Genel Cerrahi Operasyonlarının Anatomisi*. Nobel Tıp Kitabevleri; 2007:8-22.
10. Graphic 81897 Version 5.0© 2024 UpToDate, Inc. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/image?csi=c33e58bc-fcb0-4118-822d-771ef7d31ec3&source=contentShare&imageKey=SURG%2F81897>.
11. Malarkey DE, Johnson K, Ryan L, Boorman G, Maronpot RR. New Insights into Functional Aspects of Liver Morphology. *Toxicol Pathol*. 2005;33(1):27-34. doi:10.1080/01926230590881826
12. Abdel-Misih SRZ, Bloomston M. Liver Anatomy. *Surgical Clinics of North America*. 2010;90(4):643-653. doi:10.1016/j.suc.2010.04.017
13. Fasel JHD. Portal Venous Territories Within the Human Liver: An Anatomical Reappraisal. *Anat Rec*. 2008;291(6):636-642. doi:10.1002/ar.20658
14. Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Skandalakis PN, Mirilas P. Hepatic surgical anatomy. *Surgical Clinics of North America*. 2004;84(2):413-435. doi:10.1016/j.suc.2003.12.002
15. DeMatteo RP. Surgical and radiologic anatomy of the liver, biliary tract, and pancreas. In: Jarnagin WR, ed. *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas*. Vol 1. 7th ed. Elsevier Inc; 2023:27-53.
16. Netter F. Abdomen. In: Netter F, ed. *Netter Atlas of Human Anatomy: Classic Regional Anatomy Approach*. 8th ed. Elsevier Inc.; 2023:299-392.
17. Trutmann M, Sasse D. The lymphatics of the liver. *Anat Embryol (Berl)*. 1994;190(3):201-209. doi:10.1007/BF00234299
18. Tiniakos DG, Mathew J, Kittas C, Burt AD. Ontogeny of human intrahepatic innervation. *Virchows Archiv*. 2008;452(4):435-442. doi:10.1007/s00428-007-0569-2

19. Kandilis AN, Papadopoulou IP, Koskinas J, Sotiropoulos G, Tiniakos DG. Liver innervation and hepatic function: new insights. *Journal of Surgical Research*. 2015;194(2):511-519. doi:10.1016/j.jss.2014.12.006
20. Sasse D, Spornitz UM, Piotr Maly I. Liver Architecture. *Enzyme*. 1992;46(1-3):8-32. doi:10.1159/000468776
21. Masia R, Misdraji J. Embryology, Anatomy, Histology, and Developmental Anomalies of the Liver. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Vol 1. 11th ed. Elsevier Inc.; 2021:1129-1134.
22. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *J Hepatol*. 2017;66(1):212-227. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.009
23. David H, Reinke P. The concept of the "Perisinusoidal Functional Unit" of the liver — importance to pathological processes. *Exp Pathol*. 1987;32(4):193-224. doi:10.1016/S0232-1513(87)80031-2
24. Ohtani O, Ohtani Y. Lymph Circulation in the Liver. *Anat Rec*. 2008;291(6):643-652. doi:10.1002/ar.20681
25. Roskams TA, Theise ND, Balabaud C, et al. Nomenclature of the finer branches of the biliary tree: Canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology*. 2004;39(6):1739-1745. doi:10.1002/hep.20130
26. Matsumoto T, Kawakami M. The unit-concept of hepatic parenchyma--a re-examination based on angioarchitectural studies. *Acta Pathol Jpn*. 1982;32 Suppl 2:285-314.
27. Suchy FJ, Mack CL. Anatomy, Histology, Embryology, Developmental Anomalies, and Pediatric Disorders of the Biliary Tract. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Vol 1. 11th ed. Elsevier Inc; 2021:973-994.

28. Ober EA, Lemaigre FP. Development of the liver: Insights into organ and tissue morphogenesis. *J Hepatol*. 2018;68(5):1049-1062.
29. Bort R, Signore M, Tremblay K, Barbera JPM, Zaret KS. Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Dev Biol*. 2006;290(1):44-56. doi:10.1016/j.ydbio.2005.11.006
30. Tan CEL, Moscoso GJ. The developing human biliary system at the porta hepatis level between 29 days and 8 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 1. *Pathol Int*. 1994;44(8):587-599. doi:10.1111/j.1440-1827.1994.tb01719.x
31. Tan CEL, Moscoso GJ. The developing human biliary system at the porta hepatis level between 11 and 25 weeks of gestation: A way to understanding biliary atresia. Part 2. *Pathol Int*. 1994;44(8):600-610. doi:10.1111/j.1440-1827.1994.tb01720.x
32. Faa G, Van Eyken P, Roskams T, et al. Expression of cytokeratin 20 in developing rat liver and in experimental models of ductular and oval cell proliferation. *J Hepatol*. 1998;29(4):628-633. doi:10.1016/S0168-8278(98)80158-X
33. Masunari H, Shimada H, Endo I, et al. Surgical anatomy of hepatic hilum with special reference of the plate system and extrahepatic duct. *J Gastrointest Surg*. 2008;12(6):1047-1053. doi:10.1007/S11605-007-0358-X
34. Avisse C, Flament JB, Delattre JF. Ampulla of Vater. Anatomic, embryologic, and surgical aspects. *Surg Clin North Am*. 2000;80(1):201-212. doi:10.1016/S0039-6109(05)70402-3
35. Ellis H. Anatomy of the gallbladder and bile ducts. *Surgery*. 2011;29(12):593-596. doi:10.1016/J.MPSUR.2011.09.011

36. Ramesh Babu CS, Sharma M. Biliary Tract Anatomy and its Relationship with Venous Drainage. *J Clin Exp Hepatol.* 2014;4(Suppl 1):S18. doi:10.1016/J.JCEH.2013.05.002
37. Frierson HF. The Gross Anatomy and Histology of the Gallbladder, Extrahepatic Bile Ducts, Vaterian System, and Minor Papilla. *Am J Surg Pathol.* 1989;13(2):146-162. doi:10.1097/00000478-198902000-00008
38. Evett RD, Higgins JA, Brown AL. The Fine Structure Of Normal Mucosa In Human Gall Bladder. *Gastroenterology.* 1964;47:49-60.
39. Orhan DS. Ratların Anatomi ve Fizyolojisi. In: Çelik A, Gülçiçek OB, eds. *Genel Cerrahide Deneysel Çalışmalar ve Hayvan Modelleri.* Nobel Tıp Kitabevleri; 2021:23-37.
40. Hall JE, Hall ME, eds. Secretory Functions of the Alimentary Tract. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.* 14th ed. Elsevier Inc; 2021:807-822.
41. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, eds. Overview of Gastrointestinal Function & Regulation. In: *Ganong's Review of Medical Physiology.* 23rd ed. McGraw-Hill; 2010:429-450.
42. Esteller A. Physiology of bile secretion. *World J Gastroenterol.* 2008;14(37):5641-5649. doi:10.3748/wjg.14.5641
43. Housset C, Chrétien Y, Debray D, Chignard N. Functions of the Gallbladder. In: *Comprehensive Physiology.* Wiley; 2016:1549-1577. doi:10.1002/cphy.c150050
44. Afghani E, Lo SK, Covington PS, Cash BD, Pandol SJ. Sphincter of Oddi Function and Risk Factors for Dysfunction. *Front Nutr.* 2017;4. doi:10.3389/fnut.2017.00001
45. Jazrawi RP. Measurement of gallbladder motor functions: an overview. *Digestive and Liver Disease.* 2003;35:51-55. doi:10.1016/S1590-8658(03)00095-1

46. Pallotta N. Ultrasonography in the assessment of gallbladder motor activity. *Digestive and Liver Disease*. 2003;35:67-69. doi:10.1016/S1590-8658(03)00098-7
47. Jüngst D, Niemeier A, Müller I, et al. Mucin and phospholipids determine viscosity of gallbladder bile in patients with gallstones. *World J Gastroenterol*. 2001;7(2):203-207. doi:10.3748/wjg.v7.i2.203
48. Pitt HA, Nakeeb A. Bile secretion and pathophysiology of biliary tract obstruction. In: Jarnagin WR, ed. *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas*. Vol 1. 7th ed. Elsevier Inc; 2023.
49. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of Bile Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation. *Physiol Rev*. 2009;89(1):147-191. doi:10.1152/physrev.00010.2008
50. Hofmann AF, Hagey LR, Krasowski MD. Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance. *J Lipid Res*. 2010;51(2):226-246. doi:10.1194/jlr.R000042
51. Poša M, Sebenji A. Determination of number-average aggregation numbers of bile salts micelles with a special emphasis on their oxo derivatives—The effect of the steroid skeleton. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014;1840(3):1072-1082. doi:10.1016/j.bbagen.2013.11.008
52. Hall JE, Hall ME, eds. Digestion and Absorption in the Gastrointestinal Tract. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Elsevier Inc; 2021:823-832.
53. Hofmann AF, Hagey LR. Bile Acids: Chemistry, Pathochemistry, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008;65(16):2461-2483. doi:10.1007/s00018-008-7568-6
54. Dowling RH. Review: pathogenesis of gallstones. *Aliment Pharmacol Ther*. 2000;14(s2):39-47. doi:10.1046/j.1365-2036.2000.014s2039.x

55. Clinical Chemistry and Physiology of Bilirubin. *Semin Liver Dis.* 1994;14(04):346-351. doi:10.1055/s-2007-1007326
56. Hansen TWR, Wong RJ, Stevenson DK. Molecular Physiology and Pathophysiology of Bilirubin Handling by the Blood, Liver, Intestine, and Brain in the Newborn. *Physiol Rev.* 2020;100(3):1291-1346. doi:10.1152/physrev.00004.2019
57. Hall JE, Hall ME, eds. The Liver. In: *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.* 14th ed. Elsevier Inc.; 2021:871-876.
58. Nocentini A, Bonardi A, Pratesi S, Gratteri P, Dani C, Supuran CT. Pharmaceutical strategies for preventing toxicity and promoting antioxidant and anti-inflammatory actions of bilirubin. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2022;37(1):487-501. doi:10.1080/14756366.2021.2020773
59. Lo RC lam, Chan KK shuen, Chok KS ho, Ng IO lin. Liver allograft biopsies with histological cholestasis: a clinicopathological study of 254 cases from a single centre. *J Clin Pathol.* 2018;71(1):72-78. doi:10.1136/jclinpath-2017-204334
60. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med.* 2000;21(3):49-98. doi:10.1016/S0098-2997(00)00004-2
61. Ortiz C, Schierwagen R, Schaefer L, Klein S, Trepas X, Trebicka J. Extracellular Matrix Remodeling in Chronic Liver Disease. *Curr Tissue Microenviron Rep.* 2021;2(3):41-52. doi:10.1007/s43152-021-00030-3
62. Scott-Conner CEH, Grogan JB. The Pathophysiology of Biliary Obstruction and Its Effect on Phagocytic and Immune Function. *Journal of Surgical Research.* 1994;57(2):316-336. doi:10.1006/jsre.1994.1151
63. O'Connor MJ. Mechanical biliary obstruction. A review of the multisystemic consequences of obstructive jaundice and their impact on perioperative morbidity and mortality. *Am Surg.* 1985;51(5):245-251.

64. Alrehaili BD, Lee M, Takahashi S, et al. Bile acid conjugation deficiency causes hypercholanemia, hyperphagia, islet dysfunction, and gut dysbiosis in mice. *Hepatol Commun.* 2022;6(10):2765-2780. doi:10.1002/hep4.2041
65. Pavlidis ET, Pavlidis TE. Pathophysiological consequences of obstructive jaundice and perioperative management. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International.* 2018;17(1):17-21. doi:10.1016/j.hbpd.2018.01.008
66. Vitale GC, Siow Y, Baker PR, Cuschieri A. Reversible bile acid changes in bile duct obstruction and its potential for hepatocellular injury. *J Hepatol.* 1992;14(2-3):151-156. doi:10.1016/0168-8278(92)90151-E
67. Yeom DH, Oh HJ, Son YW, Kim TH. What Are the Risk Factors for Acute Suppurative Cholangitis Caused by Common Bile Duct Stones? *Gut Liver.* 2010;4(3):363-367. doi:10.5009/gnl.2010.4.3.363
68. Takada T, Takikawa H, Sawada N, et al. Cholangio-venous reflux of biliary contents through paracellular pathways between hepatocytes in patients with acute cholangitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2021;28(6):508-514. doi:10.1002/jhbp.937
69. Fraser IA, Krakowka S, Ringler S, Carey LC, Ellison EC. Lymphocyte function in obstructive jaundice. *The American Journal of Surgery.* 1989;157(4):405-409. doi:10.1016/0002-9610(89)90586-2
70. Andersson R, Wang X, Ihse I. The Influence of Abdominal Sepsis on Acute Pancreatitis in Rats. *Pancreas.* 1995;11(4):365-373. doi:10.1097/00006676-199511000-00008
71. J. Kordzaya, Vakhtang T. Goderdzishvili. Bacterial Translocation in Obstructive Jaundice in Rats: Role of Mucosal Lacteals. *The European Journal of Surgery.* 2000;166(5):367-374. doi:10.1080/110241500750008907
72. Bemelmans MH, Greve JW, Gouma DJ, Buurman WA. Increased concentrations of tumour necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in

- biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. *Gut*. 1996;38(3):447-453. doi:10.1136/gut.38.3.447
73. Gali D, Blendis LM, Bomzon A. Vascular reactivity in reversible experimental obstructive jaundice. *Journal of Surgical Research*. 1987;42(3):242-246. doi:10.1016/0022-4804(87)90140-5
 74. Green J, Beyar R, Sideman S, Mordehovitz D, Better OS. The “jaundiced heart”: a possible explanation for postoperative shock in obstructive jaundice. *Surgery*. 1986;100(1):14-20.
 75. van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. *Kidney Int*. 2013;84(1):192-197. doi:10.1038/ki.2013.78
 76. Şentürk H. Serbest radikal hasarının hepatobilier sistem hastalıklarındaki rolü. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:1-8.
 77. Southorn PA, Powis G. Free Radicals in Medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions. *Mayo Clin Proc*. 1988;63(4):381-389. doi:10.1016/S0025-6196(12)64861-7
 78. Krähenbühl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology*. 1995;22(2):607-612. doi:10.1002/hep.1840220234
 79. Karmen A, Wróblewski F, LaDue JS. Transaminase Activity In Human Blood. *Journal of Clinical Investigation*. 1955;34(1):126-133. doi:10.1172/JCI103055
 80. Kaplan MM. Alkaline Phosphatase. *Gastroenterology*. 1972;62(3):452-468. doi:10.1016/S0016-5085(72)80154-9
 81. Kaplan MM. Serum alkaline phosphatase—another piece is added to the puzzle. *Hepatology*. 1986;6(3):526-528. doi:10.1002/hep.1840060334

82. Ruttenburg AM, Goldberg JA, Pineda Ep. Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase Activity In Hepatobiliary Pancreatic Disease. *Gastroenterology*. 1963;45:43-48.
83. Middleton KK, Barro V, Muller B, Terada S, Fu FH. Evaluation of the Effects of Platelet-Rich Plasma (PRP) Therapy Involved in the Healing of Sports-Related Soft Tissue Injuries. *Iowa Orthop J*. 2012;32:150. Accessed March 12, 2024. /pmc/articles/PMC3565396/
84. Navani A, Li G, Chrystal J. Platelet Rich Plasma in Musculoskeletal Pathology: A Necessary Rescue or a Lost Cause? *Pain Physician*. 2017;20(3):E345-E356.
85. Zhang J, Wang JHC. Platelet-Rich Plasma Releasate Promotes Differentiation of Tendon Stem Cells into Active Tenocytes. *Am J Sports Med*. 2010;38(12):2477-2486. doi:10.1177/0363546510376750
86. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2008;1(3-4):165-174. doi:10.1007/s12178-008-9032-5
87. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg*. 2014;7(4):189. doi:10.4103/0974-2077.150734
88. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014;4(1):3-9.
89. DeLong JM, Beitzel K, Mazzocca AD, Shepard D, Roller BL, Hanypsiak BT. Update on platelet-rich plasma. *Curr Orthop Pract*. 2011;22(6):514-523. doi:10.1097/BCO.0b013e318236bd55
90. Waters JH, Roberts KC. Database review of possible factors influencing point-of-care platelet gel manufacture. *J Extra Corpor Technol*. 2004;36(3):250-254.

91. Andia I, Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regenerative Med.* 2013;8(5):645-658. doi:10.2217/rme.13.59
92. Conde Montero E, Fernández Santos ME, Suárez Fernández R. Plasma rico en plaquetas: aplicaciones en dermatología. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;106(2):104-111. doi:10.1016/j.ad.2013.12.021
93. Lynch MD, Bashir S. Applications of platelet-rich plasma in dermatology: A critical appraisal of the literature. *Journal of Dermatological Treatment.* 2016;27(3):285-289. doi:10.3109/09546634.2015.1094178
94. Li ZJ, Choi HI, Choi DK, et al. Autologous Platelet-Rich Plasma: A Potential Therapeutic Tool for Promoting Hair Growth. *Dermatologic Surgery.* 2012;38(7):1040-1046. doi:10.1111/j.1524-4725.2012.02394.x
95. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: A systematic review. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* 2013;66(3):301-311. doi:10.1016/j.bjps.2012.11.009
96. Picard F, Hersant B, Bosc R, Meningaud J. Should we use platelet-rich plasma as an adjunct therapy to treat “acute wounds,” “burns,” and “laser therapies”: A review and a proposal of a quality criteria checklist for further studies. *Wound Repair and Regeneration.* 2015;23(2):163-170. doi:10.1111/wrr.12266
97. Cobos R, Aizpuru F, Parraza N, Anitua E, Orive G. Effectiveness and Efficiency of Platelet Rich Plasma in the Treatment of Diabetic Ulcers. *Curr Pharm Biotechnol.* 2015;16(7):630-634. doi:10.2174/138920101607150427111926
98. Sclafani AP, Azzi J. Platelet Preparations for Use in Facial Rejuvenation and Wound Healing: A Critical Review of Current Literature. *Aesthetic Plast Surg.* 2015;39(4):495-505. doi:10.1007/s00266-015-0504-x
99. Tarantino R, Donnarumma P, Mancarella C, et al. Posterolateral Arthrodesis in Lumbar Spine Surgery Using Autologous Platelet-Rich Plasma and Cancellous

Bone Substitute: An Osteoinductive and Osteoconductive Effect. *Global Spine J.* 2014;4(3):137-141. doi:10.1055/s-0034-1376157

100. Crovetto G, Martinelli G, Issi M, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfusion and Apheresis Science.* 2004;30(2):145-151. doi:10.1016/j.transci.2004.01.004
101. Kimura A, Ogata H, Yazawa M, Watanabe N, Mori T, Nakajima T. The effects of platelet-rich plasma on cutaneous incisional wound healing in rats. *J Dermatol Sci.* 2005;40(3):205-208. doi:10.1016/j.jdermsci.2005.07.007
102. Bhanot S, Alex JC. Current Applications of Platelet Gels in Facial Plastic Surgery. *Facial Plastic Surgery.* 2002;18(1):027-034. doi:10.1055/s-2002-19824
103. Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: Preliminary results. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2002;60(6):630-635. doi:10.1053/joms.2002.33107
104. Valle A Della, Sammartino G, Marenzi G, et al. Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2003;61(11):1275-1278. doi:10.1016/S0278-2391(03)00727-4
105. Erçetin C. Hepatopankreatobiliyer Deneysel Cerrahi Modelleri. In: Çelik A, Gülçiçek OB, eds. *Genel Cerrahide Deneysel Çalışmalar ve Hayvan Modelleri.* Nobel Tıp Kitabevleri; 2021:159-179.
106. Calkins CM, Bensard DD, Heimbach JK, et al. L-arginine attenuates lipopolysaccharide-induced lung chemokine production. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001;280(3):L400-8. doi:10.1152/ajplung.2001.280.3.L400
107. Hartree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem.* 1972;48(2):422-427. doi:10.1016/0003-2697(72)90094-2

108. Sakrak O, Akpınar M, Bedirli A, Akyurek N, Aritas Y. Short and long-term effects of bacterial translocation due to obstructive jaundice on liver damage. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(53):1542-1546.
109. Kaya O, Koca YS, Barut I, Baspınar S, Sabuncuoğlu MZ. L-carnitine reduces acute lung injury in experimental biliary obstruction. *Saudi Med J*. 2015;36(9):1046-1052. doi:10.15537/smj.2015.9.12206
110. Montilla P, Cruz A, Padillo FJ, et al. Melatonin versus vitamin E as protective treatment against oxidative stress after extra-hepatic bile duct ligation in rats. *J Pineal Res*. 2001;31(2):138-144. doi:10.1034/j.1600-079x.2001.310207.x
111. Abdel Fattah SM, Saif-Elnasr M, Soliman AF. Platelet-rich plasma as a potential therapeutic approach against lead nitrate- and/or gamma radiation-induced hepatotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018;25(34):34460-34471. doi:10.1007/s11356-018-3366-3
112. Oh RC, Hustead TR, Ali SM, Pantsari MW. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels: Causes and Evaluation. *Am Fam Physician*. 2017;96(11):709-715.
113. Prati D, Taioli E, Zanella A, et al. Updated Definitions of Healthy Ranges for Serum Alanine Aminotransferase Levels. *Ann Intern Med*. 2002;137(1):1. doi:10.7326/0003-4819-137-1-200207020-00006
114. Hesami Z, Jamshidzadeh A, Ayatollahi M, Geramizadeh B, Farshad O, Vahdati A. Effect of Platelet-Rich Plasma on CCl₄-Induced Chronic Liver Injury in Male Rats. *Int J Hepatol*. 2014;2014:1-7. doi:10.1155/2014/932930
115. Salem NA, Hamza A, Alnahdi H, Ayaz N. Biochemical and Molecular Mechanisms of Platelet-Rich Plasma in Ameliorating Liver Fibrosis Induced by Dimethylnitrosurea. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;47(6):2331-2339. doi:10.1159/000491544

116. Sada E, Tashiro S, Morino Y. The significance of serum mitochondrial aspartate aminotransferase activity in obstructive jaundice: Experimental and clinical studies. *Jpn J Surg*. 1990;20(4):392-405. doi:10.1007/BF02470822
117. Shibayama Y. Endotoxaemia and hepatic injury in obstructive jaundice. *J Pathol*. 1989;159(4):335-339. doi:10.1002/path.1711590412
118. Bayat M, Khalili A, Bayat G, et al. Effects of platelet-rich plasma on the memory impairment, apoptosis, and hippocampal synaptic plasticity in a rat model of hepatic encephalopathy. *Brain Behav*. 2022;12(1). doi:10.1002/brb3.2447
119. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014;29(3):269-278. doi:10.1007/s12291-013-0408-y
120. Leonard TB, Neptun DA, Popp JA. Serum gamma glutamyl transferase as a specific indicator of bile duct lesions in the rat liver. *Am J Pathol*. 1984;116(2):262-269.
121. Pratt D.S.: Liver chemistry and function tests. Feldman M. Friedman L.S. Brandt L.J. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, Management. 2016. Saunders Philadelphia: pp. 1243-1253.
122. Taniguchi K, Yamashita A, Mutoh K. Morphological Changes in the Endocrine and Exocrine Pancreas of Rats after Experimental Obstructive Jaundice. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2011;73(2):161-168. doi:10.1292/jvms.10-0318
123. El-Haroun H, Salama RM. Comparative study on the therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cells versus platelet rich plasma on the pancreas of adult male albino rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. *Folia Morphol (Warsz)*. 2022;81(1):65-81. doi:10.5603/FM.a2021.0008

124. Bemelmans MHA, Gouma DJ, Greve JW, Buurman WA. Cytokines tumor necrosis factor and interleukin-6 in experimental biliary obstruction in mice. *Hepatology*. 1992;15(6):1132-1136. doi:10.1002/hep.1840150626
125. Saif-Elnasr M, Abdel Fattah SM, Swailam HM. Treatment of hepatotoxicity induced by γ -radiation using platelet-rich plasma and/or low molecular weight chitosan in experimental rats. *Int J Radiat Biol*. 2019;95(11):1517-1528. doi:10.1080/09553002.2019.1642538
126. Aydin O, Pehlivanli F, Karaca G, Aydin G, Altunkaya C, Bulut H. May dexpanthenol, platelet-rich plasma, and thymoquinone provide new hope to maintain liver regeneration after partial hepatectomy? *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2019;30(9):826-834. doi:10.5152/tjg.2019.18697
127. Shoeib HM, Keshk WA, Foda AM, Abo El Noeman SEDAE. A study on the regenerative effect of platelet-rich plasma on experimentally induced hepatic damage in albino rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2018;96(6):630-636. doi:10.1139/cjpp-2017-0738
128. Mafi A, Dehghani F, Moghadam A, Noorafshan A, Vojdani Z, Talaei-Khozani T. Effects of platelet-rich plasma on liver regeneration in CCl₄-induced hepatotoxicity model. *Platelets*. 2016;27(8):771-776. doi:10.1080/09537104.2016.1184749
129. Dr. Orkhan Valiyev (Uzmanlık Tezi) Radyasyon rektiti oluşturulan ratlarda; PRP (trombositten zengin plazma)'nin sistemik ve lokal uygulama tedavilerinin birbirlerine olan üstünlüğünün klinik ve histopatolojik bulgular eşliğinde incelenmesi. Tez Danışmanı: Doç. Dr. Candaş Erçetin. İstanbul, 2021.
130. Wolf HK, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Localization of hepatocyte growth factor in human and rat tissues: an immunohistochemical study. *Hepatology*. 1991;14(3):488-494.

131. Tekkesin N, Taga Y, Sav A, Almaata I, Ibrism D. Induction of HGF and VEGF in hepatic regeneration after hepatotoxin-induced cirrhosis in mice. *Hepatogastroenterology*. 2011;58(107-108):971-979.

