



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
İstanbul İli Beyoğlu Bölgesi Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Genel Cerrahi Kliniği
Eğitim Sorumlusu: Prof. Dr. Mehmet Mihmanlı

PARSİYEL HEPATEKTOMİ YAPILAN SIÇANLARDA SARIMSAĞIN OKSİDATİF HASAR VE KARACİĞER REJENERASYONU ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ

Dr. Abdulcabbar KARTAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez DanıŐmanı: Doç. Dr. Adem AKÇAKAYA

İSTANBUL - 2013

I. ÖNSÖZ

Deneyisel çalışmamın her aşamasında bana değerli bilgilerini aktaran ve beni deneysel tez çalışması yapmam konusunda motive eden Bezmialem Vakıf Üniversitesi öğretim üyesi danışman hocam sayın Doç. Dr. Adem Akçakaya'ya;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini büyük bir özveri ile bize aktaran , yol gösteren Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği Eğitim ve İdari Sorumlusu sayın hocam Prof. Dr. Mehmet Mihmanlı başta olmak üzere, Doç. Dr. Gürkan Yetkin ve Doç. Dr. Mehmet Uludağ'a;

deneyin planlanmasında ve uygulanmasında hep yanımda olan Bezmialem Vakıf Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Oğuzhan Karatepe, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği'nden Op. Dr. Bülent Çitgez, Op. Dr. Muharrem Battal, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nden Uzm. Dr. Banu Yılmaz olmak üzere, eğitimimde ve deneysel tez çalışmamda emeği olan tüm değerli uzmanlarıma saygı ve şükranlarımı sunarım.

Hayatıma girdiği günden beri her an yanımda olan, beni destekleyen, ilham ve motivasyon kaynağım olan sevgili eşime ve fedakarlıkta sınır tanımayan değerli aileme sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Abdulcabbar KARTAL

İstanbul 2013

II. İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I. ÖNSÖZ.....	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. ÖZET.....	iv
IV. SUMMARY.....	v
V. KISALTMALAR	vi
VI. TABLO LİSTESİ	vii
VII. RESİM LİSTESİ.....	viii
VIII. GRAFİK LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SARIMSAK.....	3
2.2. KARACİĞER ANATOMİSİ VE REZEKSİYONU	4
2.3. KARACİĞER REJENERASYONU	6
2.4. HEPATOSELLÜLER HASARIN BELİRTEÇLERİ.....	10
2.5. APOPİTOZİS	11
2.6. MALONİL DİALDEHİT	13
2.7. TRANSAMİNAZLAR	14
2.8. BİLİRUBİN	15
2.9. CRP	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. DENEY HAYVANLARI	17
3.2. ANESTEZİ VE CERRAHİ TEKNİK.....	18
3.3. ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ.....	22

3.3.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	22
3.3.2. PATOLOJİ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	22
3.3.3. DOKUDA MDA ÖLÇÜMÜ	23
3.3.4. PLAZMADA MDA ÖLÇÜMÜ.....	24
3.3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	24
4. BULGULAR	25
4.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	25
4.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER.....	43
4.3. MDA ANALİZİ.....	49
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
7. KAYNAKLAR.....	58
8. EKLER	65
8.1. EK 1- HADYEK Uygunluk Belgesi.....	65

III. ÖZET

DeneySEL Hepatektomi Modelinde Sarımsak (*Allivum sativum*) Kullanımının Karaciğer Rejenerasyonu ve Oksidatif Hasar Üzerine Olan Etkileri

Bu çalışmada sıçanlarda in vivo olarak majör hepatektomi modeli oluşturuldu. Doku hasarı ve sarımsak ekstralarının proliferasyon, doku rejenerasyonu ve oksidatif hasar üzerine olan etkilerinin deneysel olarak araştırılması hedeflendi.

Çalışmada ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen 24 adet dişi Wistar albino rat kullanıldı. Birinci grup ratlar ameliyattan 7 gün önce standart sanayi yemi ve su ile beslendi. Ameliyat günü ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorit ile anesteziyi takiben, batın orta hatta yapılan 3 cm' lik bir insizyon ile laparotomi yapıldı. Karaciğer anatomisi ortaya konup batın kapatıldı. Ameliyat sonlandırıldı ve postop 7 gün beslendi. İkinci Grup ratlarda laparotomi yapıldı. Sıçanlara majör karaciğer rezeksiyonu yapıldı. Denekler ameliyat sonrası 7 gün boyunca standart sanayi yemi ve su ile beslendi ve postop takibi yapıldı. Üçüncü Grup ratlar ameliyat öncesi dönemde 7 gün boyunca standart sanayi yemi ve 30 mikrogram/kg/gün sarımsak ekstresi ile gavaj yoluyla beslendi, ameliyat günü majör hepatektomi yapıldı ve postop 7 gün boyunca sarımsak ile beslenmesine devam edildi. Tüm ratlar ilk ameliyattan 7 gün sonra sakrifiye edildi. Biyokimyasal testler için (SGOT, SGPT, bilirubin, CRP, MDA) kan örneği alındı. Histopatolojik inceleme, histolojik parametreler ve MDA analizi için karaciğer doku örnekleri alındı. Karaciğer dokusunda ve kanda oksidatif hasar MDA düzeyleri ile değerlendirildi. Karaciğer fonksiyonu serumda KCFT ile değerlendirildi. Doku proliferasyonu ve rejenerasyonu karaciğer dokusunda immun histokimyasal yöntem ve elektron mikroskobu ile değerlendirildi.

Yapılan istatistik analizleri sonucunda sıçanlarda majör hepatektomi sonrası sarımsak kullanımının karaciğer rejenerasyonu, proliferasyonu ve oksidatif hasar üzerine olumlu etkisi olduğu görüldü .

Anahtar Kelimeler: Allivum sativum, majör hepatektomi, oksidatif hasar

IV. SUMMARY

The Effects of Garlic(*Allivum sativum*) Use on Hepatic Regeneration and Oxidative Damage in Experimental Hepatectomy Model

In this experimental study a major hepatectomy model of rat created in vivo. Tissue damage and the effect of garlic extract on proliferation, tissue regeneration and oxidative damage have been aimed to investigate experimentally. Twenty four female Wistar albino rats, weighted between 200-250 grams, were used in the study. First group rats were fed with standard industrial food for seven days before surgery. After anesthesia with ketamine hydrochloride and xylazine hydrochloride, a 3 cm midline ventral incision were done and laparotomy was performed. Anatomy of the liver revealed and abdomen was closed. Operation was terminated and rats were fed postoperative 7 days. Laparotomy was performed in 2. group of rats. Major liver resection was performed. Subjects were fed with standard industrial food and water for 7 days and postoperative follow up was done. Third group of rats were fed 7 days prior to surgery with standard industrial food and 30 microgram/kg/days of garlic extract by gavage, major liver resection was performed on the day of surgery and feeding was continued with garlic extract for postoperative 7 days. All rats were sacrificed 7 days after the first surgery. Blood samples were taken for biochemical test (SGOT, SGPT, Bilirubin, CRP, MDA). Liver tissue samples were taken for histopathological examination, histological parameters and MDA analysis. The level of oxidative damage in blood and liver tissue were assessed by MDA. Liver functions were assessed by liver function test. Proliferation and regeneration of tissue were assessed in liver tissue by immunohistochemical method and electron microscopy.

As a result of the statistical analysis, garlic extract had a positive effect on liver regeneration, proliferation and oxidative stress in rats after major hepatectomy.

Key Words: *Allivum sativum*, Major Hepatectomy, Oxidative damage

V. KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GSH	: Glutasyon
HCl	: Hidrojen Klorür
IF	: İmmunfloresan
Ig	: İmmunglobulin
KCFT	: Karaciğer Fonksiyon Testleri
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PHR	: Parsiyel Hepatik Rezeksiyon
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PSGL	: P-Selektin Adezyon Molekülü
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TBS	: Tris Buffer Saline
TNF – α	: Tümör nekroz faktör -alfa
TUNNEL	: Terminal-Deoksi Nükleotidil Transferaz Nick End-Labeling (Terminal deoksi nükleotidil aracılı dUTP-biyotin işaretlenmesi)

VI. TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Patoloji bulgularının özeti ve istatistiği.....	25
Tablo 2: Biyokimyasal Parametrelerim Özeti ve İstatistiği.....	43



VII. RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: Major hepatektomi öncesi karaciğerin ortaya konulması	19
Resim 2: Major hepatektomi ile çıkarılan sol lateral ve medial lobların görünümü.....	20
Resim 3: Sarımsak grubunda yer alan bir deneğin sakrifikasyon sonrası karaciğerinin alınan parçasının görüntüsü	20
Resim 4: Major hepatektomi sonrası operasyon lojunun görünümü ve geride kalan karaciğer	21
Resim 5: Sarımsak grubunda Ki 67 nükleer boyanması	26
Resim 6: Sarımsak grubunda Ki 67 nükleer boyanması (%40) ve parankim hücrelerinde çift nukleus görünümü	27
Resim 7: Kontrol grubunda Ki 67 nükleer boyanması	28
Resim 8: Sham Grubunda Ki 67 nükleer boyanması	29
Resim 9: Kontrol grubunda sentral vende ve sinusoidlerde konjesyon	30
Resim 10: Sham Grubunda düzenli retiküler çatı	31
Resim 11: Sarımsak grubunda portal alanlarda düzenli yapı	32

VIII. GRAFİK LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 1: Grupların Oransal Dağılımı	33
Grafik 2: Fibroblast aktivitesi.....	34
Grafik 3: Deney Gruplarında Nükleer Pleomorfizmve Çift Nükleus Oranları	35
Grafik 4: Portal İltihabi hücre infiltrasyonu	36
Grafik 5: Sinüzoidlerde Dilatasyon ve Hiperemi	37
Grafik 6: Deney Gruplarının Sinüzoid Lümenlerinde Kupffer Hücre Artışı	38
Grafik 7: İltihabi Hücre İnfiltrasyonu.....	39
Grafik 8: Santral Vende Konjesyon Oranları	40
Grafik 9: Deney Gruplarının Rejenerasyon Kapasitesi Oranları.....	41
Grafik 10: Deney Gruplarının KI 67 Proliferasyon İndeksi Oranları.....	42
Grafik 11: Deney gruplarında SGOT (AST) Ölçüm Oranları.....	44
Grafik 12: Deney Gruplarında SGPT (ALT) Ölçüm Oranları	45
Grafik 13: Deney Gruplarında D. Bilirubin Ölçüm Oranları	46
Grafik 14: Deney Gruplarında T. bilirubin Ölçüm Oranları	47
Grafik 15: Deney GruplarındaCRP Ölçüm Oranları	48
Grafik 16: Deney Gruplarında Plazma MDA(mikromol MDA/L) Ölçüm Oranları	49
Grafik 17: Deney Gruplarında Doku MDA(nmol MDA/gram doku) Ölçüm Oranları	50

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sarımsak ve sarımsak özü, binlerce yıldır şifalı bir bitki olarak tıbbi amaçlarla tüketilmektedir. Sarımsağın tıbbi amaçlarla kullanımı milattan önceki yıllara kadar uzanmaktadır. Milattan Önce 1500'li yıllarda Mısır'da başağrısı, kalp hastalıkları ve kanser ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir (1). Ayrıca geleneksel bir ilaç olarak Yakın Doğu, Çin ve Hindistan gibi bir çok ülkede de kullanılmıştır. Günümüzde yapılan bir çok çalışma ile sarımsak ve sarımsak ekstraktlarının hastalıkları önleyici etkileri deneysel olarak kanıtlanmıştır. Sarımsağın anti kanser özellikleri hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (2). Guyonnet ve ark.ları sarımsağın bileşenlerinden olan DAS ve DADS' in, sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada Aflatoksin B(1) genotoksitesisi üzerine etkisini araştırmışlar ve AFB1'in neden olacağı karaciğer karsinomu oluşma riskini, aflatoksin metabolizmasını hızlandırarak önlediğini ortaya koymuşlar (3). Ayrıca yapılan epidemiyolojik çalışmalarla sarımsak tüketimi ile mide ve kolon kanseri arasında ters bir orantı olduğu gösterilmiştir. Iimura ve ark. sıçanlar üzerinde yaptıkları bir deneysel çalışmada Helikobakter pylori ile beraber AGE (aged garlic extrat) vererek (%4 oranında), gastrit ve mide ca oluşumunu kontrol grubu ile karşılaştırarak araştırmışlar. Sonuçta kontrol grubunda her sıçanda gastrit ve mide ca oluşurken, AGE verilen ratlarda gastrit semptomlarının hafif seyrettiği ve mide kanserinin oluşmadığı gözlenmiş ve sarımsak ekstraktlarının H. pylorinin neden olabileceği gastrit ve mide ca'ların önlenmesinde kullanılabileceği yargısına varmışlar (4). Ayrıca yapılan bir çok çalışmada sarımsak ekstraktlarının kanser gelişimini baskıladığı ortaya konulmuştur. Ancak kanser hücrelerinin göçü (metastaz) üzerine sarımsağın etkisi yönünde tek çalışmayı Hu X ve ark.ları yapmışlar. AGE'in sıçan sarkoma tümör migrasyonu ve gelişimi üzerine etkisini araştırmışlar ve doza da bağımlı olarak sıçan sarkoma hücrelerinin gelişimini ve sarkoma hücre metastazını inhibe ettiğini gözlemlemişler (5). Sarımsağın iyi bilinen önemli bir etkisi de gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine olan geniş antibakteriyel özelliğidir (6). Sarımsağın ayrıca antioksidan, antiviral, antifungal, immünstimülatör, antiagregan, kolesterol düzenleyici, re epitelizan, yara iyileştirici ve detoksifiye edici özellikleri iyi bilinmektedir (4-13). Fakat sarımsağın

karaciğerin rejenerasyonu üzerine olan etkileri bilinmemektedir. Biz bu çalışmada sarımsağın karaciğerin rejenerasyon kapasitesini arttırdığını göstermek istiyoruz. Literatürde deneysel hepatektomi modelinde sarımsak kullanımının hepatik rejenerasyon üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma yoktur ve bu yönüyle bu deneysel çalışmanın literatüre katkı sunacağını düşünüyoruz.

Amaç

Bu çalışmada majör karaciğer rezeksiyonu sonrası sarımsak ekstraktlarının tüketilmesinin oksidatif hasar, proliferasyon ve rejenerasyon üzerine olan rolü ve tedavideki etkisi araştırılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda karaciğer hastalıkları, karaciğer transplantasyonu ve karaciğer rezeksiyonu sonrasında sarımsak özünün pratik kullanımı hakkında bilgi edinileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SARIMSAK

Sarımsak bitkisi Liliaceae (Zambakgiller) familyasındandır ve *Allium sativum* tür adı ile bilinir. 25 - 30 cm. yüksekliğinde yeşilimsi beyaz veya pembe çiçekli otsu bir bitkidir. Nadiren tohum bağlar bu nedenle soğancıkları ile üretilir. Sarımsakta özel ve keskin kokulu uçucu bir yağ, şekerler, fermentler, protein, fosfor, demir ile A, B, C Vitaminleri bulunur.

Sarımsakta bulunan en önemli kimyasal bileşikler sülfür bileşikleridir. Bunlar aliin, allicin, thiosulfinatlar, gama-glutamylcysteine peptitleri ve çeşitli diğer sülfür bileşikleridir. Bunların bazıları sarımsakta doğal olarak bulunmazlar. Ancak sarımsağın kullanıma hazırlanması sırasında uygulanan ezme, kesme, doğrama gibi işlemler sonucunda oluşurlar. Sarımsaktaki sülfür bileşiklerinin % 82'sinin Aliin'den ve gama-glutamylcystein peptitlerden türediği sanılmaktadır. Aliin doğal olarak sarımsakta bulunur. Sarımsak mekanik bir işleme tabi tutulduğunda hücre içerisinde vakuollerde bulunan alicinase enzimi açığa çıkar ve aliini allicine katalizler. Allicin ise sarımsağın çoğu biyolojik etkinliğinden sorumludur. Sarımsak kaynatılarak distilasyonu yapıldığında burada allicine rastlanılmamış. Bu durumda ise aliin ve allicinin çoğunun uçucu yağ asitleri olan diallyl-sülfütlere dönüştüğü görülmüştür. Sarımsağın biyolojik aktif maddeleri Allicin, Ajoen ve Diallyl-sülfür bileşikleridir. Tüketimde sarımsaktan en iyi faydalanmanın yolu ise bu üç bileşenin bir arada olduğu formda mümkün olmaktadır. Sarımsağa has kokusunu kükürt ve sülfürlü uçucu yağ asitleri vermektedir

Anavatanı Hindistan olan sarımsağın tarihi insanlık kadar eskidir. Tarihin ilk çağlarında Sümerlerin sarımsağı bildikleri ve ilaç olarak kullandıkları elde edilen arkeolojik kayıtlardan anlaşılmaktadır. Eski mısırlılar sarımsağı ilaç olarak kullanmışlardır. Eskiler sarımsağın özelliklerini mucizevi olarak yorumlamış, ilk tıp bilginlerinden Hipokrat bile bu bitkiyi terletici ilaçlar sınıfına sokmuştur.

En çok Kuzey Afrika, Orta ve Güney Avrupa, ABD ve Meksika'da yetiştirilir. Sarımsak ülkemizde 12. yy' dan bu yana yetiştirilmektedir. Bu gün dünyanın her tarafında yetiştirilen sarımsak, ülkemizde selenyumca zengin toprakları ile en iyi ve kaliteli yetiştirme ortamını sağlayan Kastamonu ilimizin Taşköprü ilçesinde yoğun olarak yetiştirilmekte ve hemen hepsi ithal edilmektedir.

2.2. KARACİĞER ANATOMİSİ VE REZEKSİYONU

Karaciğer, vücuttaki en büyük organdır. Ağırlığı 1200-1800 gram kadardır.

Yenidoğanlarda vücuda oranla daha büyüktür. Dorsal yüzünde safra kesesi yer alır. Glisson kapsülü adı verilen peritoneal membran karaciğer yüzeyini sarar ve parankim içerisine doğru uzanan, içerisinde kan damarları ve safra duktusları içeren fibröz septalar verir. Karaciğerde sağ, sol, kuadrat ve kaudat loblar olmak üzere 4 lob tanımlanır. Topografik olarak falsiform ligamanın sağ tarafı sağ lob, sol tarafı ise sol lobu oluşturur. Sağ lob daha büyüktür. Kuadrat lob inferior yüzde solda umblikal fissür, sağda safra kesesi yatağı ve arkada portal triadın çevrelediği dikdörtgen bölümdür. Kaudat lob ise solda falsiform ligamanın posterior uzantısı ile inferior vena kava'nın karaciğer üzerindeki impresyonu arasında yer alır (14). Karaciğere gelen kanın %75 kadarı Vena Porta, geri kalan kısmı ise Arteria hepatica tarafından getirilir.

Hepatik parankim üç ana hücre grubundan oluşmuştur. Bunlar hepatositler, biliyer epitel hücreleri ve kupffer hücreleridir (15). Karaciğerin histolojisinde lobül yapısı görülür. Klasik lobül yapısında ortada bir hepatik ven (santral ven) dalı vardır. Bu hepatik ven dalından periferine doğru ışınal biçimde sinüzoidler ve parankim hücreleri uzanır. Altıgen şeklindeki klasik lobülün köşelerinde içinde portal ven, hepatik arter ve safra kanalının uç dallarının bulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Portal ven ve hepatik arter kanı sinüzoidlerde karışır. Sinüzoidler terminal hepatik venüllere drene olurlar.

Terminal hepatik venüller birleşerek sonunda hepatik venleri oluşturular. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasındaki disse aralığı denilen kısımda karaciğer lenfi oluşur. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan Kupffer hücreleri bulunur.

Karaciğerin temel fonksiyonları; barsaklardan dönen kanın depolanması ve infiltrasyonu (vasküler fonksiyon), vücudun metabolik sisteminin büyük kısmının koordinasyonu ve regülasyonu (metabolik fonksiyon), safranın yapılıp safra kanallarıyla gastrointestinal sisteme ulaştırılması (sekretuar ve ekskretuar fonksiyon) olarak özetlenebilir (16).

Karaciğer rezeksiyonları anatomik ve non-anatomik olmak üzere ikiye ayrılır (17). Vasküler anatomiye esas alan rezeksiyon tipleri anatomik rezeksiyon olarak adlandırılır. Bu tip rezeksiyonlarda anatomik sissürlere uyulur, fonksiyonel ve anatomik olarak tanımlanmış karaciğer bölümleri çıkarılır. Anatomik rezeksiyonların amacı fonksiyonel bölümelere uyarak daha kansız ameliyat yapmak, diğer bölümlerin kanlanmasını bozmamaktadır. Anatomik rezeksiyonlar sağ ve sol hepatektomiler, sektörektomiler, segmentektomiler ve subsegmentektomilerdir (17).

Karaciğer rezeksiyon endikasyonları şunlardır; (17)

I-Malign tümörler

1- Primer karaciğer tümörleri

2- Metastatik karaciğer tümörleri

3- Hepatobiliyer malignensiler (safra kesesi tm, kolanjio ca vb.)

II- benign hastalıklar:

1- alveolar veya hidatik kist

2- adenom

3- hemanjiom

4- abse

III- Travma

Karaciğerin %50'si veya daha fazlası çıkarıldığında postoperatif dönemde hastanın yakın takibi gereklidir. Elektif hepatektominin mortalite oranı yaklaşık %5 civarındadır ve bu oran büyük ölçüde postoperatif komplikasyonlara bağlıdır (18). Postoperatif mortalite ve morbidite nedeni olan bu komplikasyonlar arasında karaciğer

yetmezliği, biliyer fistül, subfrenik perihepatik abse, pnömoni, plevral effüzyon ve stres ülserleri sayılabilir

2.3. KARACİĞER REJENERASYONU

Yaralanma veya rezeksiyondan sonra karaciğerin kendini rejenere etme kabiliyeti uzun süredir araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Karaciğerin rejeneratif kapasitesi ile ilgili ilk bilgilere Hesiodos'un Theogoni'sinde rastlanmaktadır. Bir Titan olan Prometheus ateşi çalarak insana verdiği ve insanı şımarttığı için Zeus tarafından cezalandırılır. Ceza olarak Kafkas dağlarının en yüksek tepesine zincirlenir. Karaciğerin bir kısmı her gün bir kartal tarafından yenir ve her gece eski halini alır. Ancak gerçek anlamda karaciğer rejenerasyonu fikrini ilk kez 1833' te Cruveilhier ortaya atmıştır (19). Karaciğer erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir (20). Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, hastalıklar (viral hepatit, siroz ve toksik olaylar) veya karaciğerin cerrahi olarak bir kısmının çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompensatuvar bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaşınca yine durur.

Geniş metabolik yüküne rağmen karaciğer en geniş hücre proliferasyon özelliğine sahip organdır. Hepatositlerin sadece %0.0012-%0.01'i hayatın herhangi bir döneminde mitozu uğramaktadır (21-22).Sağlıklı karaciğerdeki bu düşük turnover toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda değişmektedir.

Karaciğerin 2/3 nin kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezekte lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofinine bağlıdır (23).

Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütesini azaltır, fakat az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır. 2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70'i eksize edilmiş

olur (24). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücrel hasarın eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu in vivo rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir.

Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve artık lobüllerin genişlemesi şeklinde olur. Hepatik rejenerasyon için gerekli uyaranlar pankreas diğer ekstrahepatik organlar ve rejenere olan karaciğerin bizzat kendisinden kaynaklanan humoral faktörlerdir (14).

Günümüzde bilgisayarlı tomografi, anjiyografi, sintigrafi gibi yöntemlerle yapılan çalışmalarda, karaciğerin rezeksiyon sonrası erişkinlerde 3-6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa sürede eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir. Siroz varlığında bu süre 9-15 aya kadar çıkmaktadır (25,26).

Karaciğer rejenerasyonunda birçok büyüme faktörü ve sitokinler rol alır. Bu faktörler şunlardır:

1- **Hepatosit büyüme faktörü (HGF):** En çok karaciğer ito ve kupfer hücrelerinde olmak üzere birçok dokuda ve plazmada bulunan protein yapısında bir büyüme faktörüdür (27,28). Hepatektomiye takiben 5 dakika içinde ürokinaz aktive olur ve plazminojenin plazmine dönüşümünde rol alır.

Plazmin matriks yıkıcı metaloproteinazları uyarır. Matriks yıkımı sonucu HGF salgılanır (27). Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar (29). İnsanlarda karaciğer rezeksiyonunu takiben 1 ile 3. günler arasında plazma HGF seviyesi maksimuma ulaşır (30).

Karbontetraklorür (CCl₄) ve D-galaktozamin gibi hepatotoksik maddeler de nonparankimal karaciğer hücrelerinde HGF artışına neden olmaktadır (31). Bir büyüme faktörü olmasına karşın yüksek konsantrasyonlardaki HGF'nin bazı kanser ve sarkom hücre kültürlerinde büyümeyi yavaşlattığı bildirilmektedir (28).

2- **TNF- α ve IL-6:** Anti TNF- α antikoru verilen, TNF- α reseptör eksikliği ve IL-6 gen delesyonu olan koyunlarda karaciğer DNA sentezinin bozulduğu gösterilmiştir(32).

3- **Epidermal büyüme faktörü (EGF):** Hepatositlerde DNA sentezini uyardığı belirlenen ilk faktördür (31). Hepatosit kültürlerinde mitojen etkisi kanıtlanmıştır (32). Hepatektomi sonrası artan noradrenalin uyarısıyla submandibular bezlerden ve Brunner bezlerinden salınımı artmaktadır (33).

4- **Transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α):** Karaciğer rejenerasyonunun başlangıç safhasından sonra rol oynadığı düşünülmektedir. EGF ile aynı reseptör üzerine etki eder. Hepatosit kültürlerinde DNA sentezini arttırmaktadır (31,34).

5- **Norepinefrin:** α 1-adrenerjik reseptörler yoluyla direkt, EGF'yi arttırarak indirekt yoldan karaciğer rejenerasyonunu artırır. Sempatik denervasyon ve α 1 reseptör blokajı DNA sentezini azaltmaktadır (32) .

6- **İnsülin:** Portosistemik şant sonucu gelişen karaciğer atrofisi insülin verilmesiyle engellenebilmektedir (35). Primer mitojen olmamasına karşın hücre kültürlerinde diğer büyüme faktörlerinin etkisini arttırmaktadır (32).

7- **Hepatosit uyarıcı madde(HSS):** 53 kilodalton ağırlığında bir proteindir. Hepatotrofik etkisi vardır

8- **Seks hormonları:** Hepatektomi sonrası hepatositlerde östrojen reseptörleri artarken androjen reseptörleri azalmaktadır. Östrojenin hücre kültürlerinde hepatosit bölünmesini arttırıcı etkisi vardır. Antiöstrojen bir ajan olan tamoksifenin invitro ve invivo karaciğer rejenerasyonunu azalttığı gösterilmiştir (31). Buna karşın antiandrojenlerin belirgin bir etkisi gösterilememiştir.

9- **Diğerleri:** Fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), triiyodotironin (T3), retinoik asit, bazı ilaçlar (barbütatlar, diazepam, hipolipidemik ajanlar, anti epileptik ajanlar), büyüme hormonu, PGE2, siklosporin, FK506, vazopressin gibi faktörlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir (36,37).

10- Bilinen en önemli rejenerasyon inhibitörü TGF- β 1' dir. İto hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece α 2 makroglobuline bağlı inaktif formundadır.

Rejenerasyon hücre düzeyinde başlar. Hücre siklusunun basamakları G0, G1 (gap 1), S (sentez), G2 (gap 2) ve M(mitoz) dir. G0 evresi, hücrenin stabil ve DNA/RNA sentezinin olmadığı evredir. DNA sentezi, G1 evresiyle birlikte başlar. Özellikle S evresinde olmak üzere M evresine kadar sürer (38,39).

Parsiyel hepatektomi veya diğer karaciğer hasarlarından sonraki erken dönemde, kalan hepatositler hücre siklusunun G0 döneminden çıkarlar ve G1 safhasına girerler.

Mitojenik uyarı sonrası rejenerasyon, öncelikle karaciğer lobüllerinin periportal bölgelerindeki hepatositlerde başlar. Sonra sırasıyla safra duktus hücreleri, Kupfer hücreleri, İto hücreleri (vitamin A depolayan, bağ dokusu proteinleri ve büyüme faktörleri sentezleyen karaciğere özgü satellit hücreler) ve sinüzoidal endotel hücrelerinde mitoz görülür.

Sonuçta mevcut lobüllerin genişlemesi ve yeni lobüllerin eklenmesiyle karaciğer eski büyüklüğüne ulaşır.

Karaciğer rejenerasyonu konusunda yapılan çalışmaları hayvan modelleri üzerinde yapılmıştır. Bunlar içinde en popüler olanı Higgins ve Anderson'un ratlarda tanımladığı % 70 hepatektomi modelidir (23). Bu modelde hepatektomi sonrası rejenerasyon 10-12 saatte başlamakta 24. Saatte maksimuma ulaşmakta ve 5-10 gün içinde tamamlanmaktadır.

Yapılan çalışmalarda rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması için DNA sentezi ve mitoz sayısı, karaciğer volümü, hücre proliferasyonu ve mitokondrial aktivite gibi birçok marker kullanılmıştır. Ayrıca rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması ve tespitinde bazı maddeler kullanılmıştır. Bunlar DNA timidin içeriği, 5-bromo-2'-deoksiüridin, PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), plazma fibronectin seviyesi ve stimulator substans gibi maddelerdir (40,41,42).

Bunların dışında ilk kez 1983'de Gerdes ve ark. tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikor tanımlanmıştır(38). Hücre

siklusu ilerledikçe antijen içeriği artar. G2-M evresinde maksimal seviyeye erişir. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikör ise hücre siklusunun G0 evresi hariç diğer tüm evrelerinde gösterilmiştir. Bu antikörün prognostik olarak korelasyon gösterdiği durumlar arasında non hodgkin lenfoma, yumuşak dokusarkomları, santral sinir sistemi tümörleri (glioma, oligodendrioglioma, pineoblastoma, primer sinir sistemi lenfoması ve nörofibroma), meme Casayılabilir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece Sevresinden ziyade hücredeki siklusun tüm büyüme evrelerinin sınıflandırılabilmesidir. Bu sınıflandırma, hücresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (43,44,45).

2.4. HEPATOSELLÜLER HASARIN BELİRTEÇLERİ

Hepatoselluler zedelenmeyle ilişkili testler serum transaminazları veya aminotransferazları olarak adlandırılan, serum glutamik-oksaloasetatik asit transferaz [SGOT], serum glutamik-piruvik transaminaz [SGPT] ile laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleridir (46).

SGOT karaciğer dışında, iskelet ve kalp kaslarında, bobrekler, beyin, pankreas, akciğerler, lokositler ve eritrositlerde bulunurken SGPT esas olarak karaciğerde bulunur. SGPT sitozolde, SGOT ise hem sitozolde hem de mitokondride yer alır.

Laktat dehidrogenaz pek çok normal ve malign dokuda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Enzimin beş izoenzimi (LDH 1-5) olup, elektroforetik olarak en yavaş olanı (LDH-5) karaciğerde bulunan izoenzimidir.

Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtabilecek şekilde dolaşımda az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda zedelenme durumunda serum düzeyleri yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesinin sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir. Bu durum kötü prognoz belirtisidir (46).

2.5. APOPTOZİS

Apoptozis, programlanmış hücre ölüm mekanizmasıdır. Bir grup protein ve gen ekspresyonunun birlikte işlemesi sonucunda meydana gelir. Gen ekspresyonu ile birlikte çekirdek DNA'sı kırılır, kromatin çekirdekte yoğunlaşır, çeperde toplanır, sitoplazma büzülür, bu esnada hücre membran bütünlüğü ve mitokondrion dış yapısı korunur. Sonunda hücre apoptotik cisimcikler oluşturarak parçalanır. Bu cisimcikler yakınındaki yerleşik hücreler, bölgesel makrofajlar, mikroglial hücreler tarafından abartılı bir inflamatuvar reaksiyon olmadan fagosite edilirler (47,48) .

Apoptoz, embriyonal dönemdeki temel hücre ölüm şeklidir. Fetal yaşam sırasında hücrelerin büyük kısmı bu yolla ortadan kaldırılır. Hücre çekirdeğinde DNA hasarı tamir edilemeyecek boyuta geldiğinde apoptoz programları aktive olabilir. ATM (ataxia telangiectasia mutated) gibi bazı kinazlar, DNA hasarını tarayıp saptarlar eğer DNA hasarı kontrol edilemeyecek boyutta ise ATM, p53 gibi hücre döngüsünde kontrol noktalarında yer alan pek çok proteini, hücre ölümünü desteklemek üzere fosforile eder. p53'ün yarı ömrü uğradığı fosforilasyon ile uzar. Fosforile p53 hücre yıkımını hedefleyen proteinlere bağlanamaz ve stabilize hale gelir. Stabilize p53, proapoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırırken Bcl-2 gen ekspresyonunu baskılar. Böylece hem DNA tamir mekanizmalarını aktive eder hem de ölüm proteinlerinin salınımını baskılar. Ancak onarım yetersiz olursa, hücreyi apoptozise götürür (49,50).

Nekrotik hücre ölümü ise apoptozdan çok farklıdır. Hücre şişmesi, membran bütünlüğünün kaybı ve belirgin inflamasyon ile karakterizedir. DNA iplikçikleri, apoptozdaki gibi internükleozomal bağlantı noktalarından, düzenli olarak kırılmaz, rastgele olacak şekilde kırılır (51,52). Apoptozisin canlı hücrelerinin reperfüzyondan hasar görmelerinde önemli bir faktör olduğu, hem hayvan deneylerinde, hemde klinik transplantasyon çalışmalarında gösterilmiştir (53,54). Reperfüzyon sonucunda pre-apoptotik proteinler olan caspase-3 ve caspase-8'in aktivasyonu ile apoptoz tetiklenir. Caspase-3 ve caspase-8 birlikte mitokondrial membran yapısında ve fonksiyonlarında bozulmaya yol açmanın yanısıra sitoplazmaya sitokrom C salınımına ve sonuçta nükleer DNA'nın yıkılarak hücrenin ölmesine sebep olmaktadır (55).

Apopitozu başlatan genler, ölüm sinyallerini hücre dışında bulunan ölüm reseptörleri aracılığı ile hücre içine iletirler. Ölüm reseptörleri, tümör nekroze edici faktör (TNF) reseptörünün üst ailesine aittirler ve TNF R-1, FAS ve p75 NTR'yi içerirler. Ölüm sinyalinin dışarıdan gelmesi şart değildir hücre içerisinde hasarlanmış DNA, endoplazmik retikulum veya mitokondride bu sinyalin kaynağı olabilir (55,56).

Apopitozis iki aşamada gelişmektedir.

1. Başlangıç fazı (ölüm faktörleri, ölüm reseptörleri)
2. İkinci faz (mitokondriyal disfonksiyon)

Ölüm faktörleri TNF reseptör-1 (TNF-R1) ve Fas (CD95/APO-1) reseptörleridir. Bu reseptörler ligantları ile bağlandıktan sonra Fas, TNF-R1, adaptör proteinler ve procaspaslardan oluşan bir ölüm kompleksinin oluşmasına aracılık ederler. Oluşan bu kompleks ise caspase-8 ve caspase-3'ün aktivasyonunu sağlar (57).

Ölüm faktörlerinin salınımını takiben mitokondriyal disfonksiyon başlar. Mitokondri dış zarı üzerindeki pro ve antiapoptotik Bcl reseptör ailesi üyelerinin birbirleriyle olan etkileşimlerinin hücrede yaşam ile ölüm arasındaki kararın alınmasında rol oynadığı düşünülmektedir (58,59).

Ölüm reseptörleri ile mitokondriyal disfonksiyonun başlaması bir bid proteini ile ilişkilidir. Bid proteini caspase-8 tarafından aktive edildikten sonra mitokondrilerden sitokrom-C salınmaya başlar. Oluşan sitokrom-C Apaf-1 aktivasyonunu sağlar, aktive Apaf-1 caspase 9 aktivasyonunu yapar. Aktive olan caspase-9, caspase-8 ile birlikte caspase-3 aktivasyonunu gerçekleştirir. Kaskadın en sonunda aktive olan caspase-3 nükleazları aktive eder ve çekirdek DNA'sının yıkılması ile hücrenin ölümüne sebep olur (52,59,60).

Apopitoz oluşumunun yan yolağında ise hücrel stres sonucunda ortaya çıkan sitokrom C, Apaf-1'e bağlanarak caspase-9'u aktive eder. Bu noktadan sonra her iki yolak birleşir (61).

Apopitozis'i değerlendirmek için, birçok histokimyasal tetkik geliştirilmiştir.

TUNEL (Transferase- mediated d-UTP-biotin Nick End Labeling) bu yöntemlerden birisidir. Enzimatik olarak in-situ, DNA fragmantasyonunun tespitine olanak sağlar. Bu yöntemin temel prensibi tek ve/veya çift zincir kırıklı DNA bölgesine, işaretli nükleotitlerin girmesi veya eklenmesidir.

TUNEL yönteminin diğer apoptozis tespit yöntemlerine göre daha sensitif olma nedeni, pepsin, protein K, S1 nükleaz ve DNA zincirlerinin içine girebilen özellikte proteazlarla zenginleştirilmiş olmasındandır. Apoptozisdeki yoğun kromatin yapıları ve nükleer proteinlerdeki oluşan çapraz bağlar, bu proteazlarla tespit edilir. Böylece bir çok histokimyasal metotla ya da yoğun ve zor DNA çalışmalarıyla gösterilemeyecek kadar küçük boyut ve orandaki apoptotik hücreleri bu yöntemle göstermek mümkün olur (62,63,64).

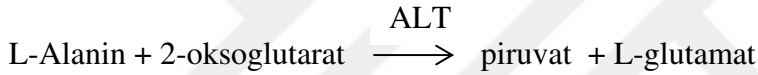
2.6. MALONİL DİALDEHİT

Serbest oksijen radikallerinin; savunma sisteminin koruyucu etkisini açacak şekilde fazla oluşmaları sonucu, metabolizmada zararlı etkiler oluşturur. SOR'den en yüksek oranda etkilenen bileşik lipidlerdir. Membranlarda bulunan fosfolipidlerdeki doymamış bağlar ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek, peroksidasyon ürünlerini meydana getirir. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir (65,66).

Oluşan malondialdehit; hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Malondialdehit bu özelliğinden dolayı, DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı da malondialdehit mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir (67).

2.7. TRANSAMİNAZLAR

Bir aminoasitteki amin grubunun bir keto asite aktarılarak başka bir aminoasit oluşturulması tepkimesinde rol oynayan enzimlere transaminaz denir. Hücre içindeki kimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin çeşitli dokularda mevcut olduğu geniş çapta bildirilmiştir. Başlıca ALT kaynağı karaciğer olup, bu durum hepatik hastalıkların tanısı için ALT aktivitesinin ölçümüne yol açmıştır. Hepatit, siroz, obstrüktif sarılık, karaciğerde karsinoma ve kronik alkol bağımlılığında yükselmiş serum ALT değerleri bulunur. ALT, komplike olmayan miyokardiyal enfarktüsli hastalarda sadece çok az yükselir. Hastalık süreçleri karaciğerde hücre bütünlüğünü etkilediğinde hem serum aspartat aminotransferaz (AST) hem de ALT yükselmesine rağmen, ALT karaciğere daha fazla spesifik olan enzimdir. Ayrıca, ALT aktivitesindeki yükselmeler AST aktivitesindeki yükselmelerden daha uzun süre devam etmektedir (68).



Aspartat aminotransferaz (AST) enzimi özellikle karaciğer, kalp, kas ve böbrek dokularında büyük ölçüde bulunur. Bu dokularla ilgili hastalıklarda serum seviyelerinin yükseldiği görülür. Serum AST seviyeleri siroz, metastatik karsinoma ve viral hepatit gibi hepatobiliyer hastalıklarda da yükselir. Miyokardiyal enfarktüsün ardından serum AST seviyesi yükselir ve başlangıçtan 2 gün sonra tepe noktasına ulaşır. AST'ın biri sitoplazmik ve diğeri mitokondriyal olmak üzere 2 izoenzimi saptanmıştır. Normal serumda sadece sitoplazmik izoenzim bulunurken, mitokondriyal izoenzim sitoplazmikle birlikte koroner ve hepatobiliyer hastalığı olan hastaların serumlarında saptanmıştır (69).



2.8. BİLİRUBİN

Bilirubin, yaşlı eritrositlerin yıkılması sırasında retikülo endotelial sistemde oluşur. Hemoglobinden ve diğer heme-içeren proteinlerden heme kısmı uzaklaştırılır, bilirubine metabolize edilir ve serum albümin ile kompleks halde karaciğere taşınır. Karaciğerde, bilirubin çözünürlük için glukuronik asit ile konjuge olur ve ardından safra kanalından taşınıp sindirim sistemi aracılığıyla elimine edilir. Hemolitik süreçlerden kaynaklı hastalıklar veya durumlar, karaciğerin metabolize edebileceğinden daha hızlı şekilde bilirubin üretir ve konjuge olmayan (indirekt) bilirubin seviyesinin dolaşım sisteminde artışına neden olur. Karaciğerin tam gelişmemesi ve bilirubin konjugasyon mekanizmasının bozuk olduğu diğer birçok hastalık dolaşım sistemindeki konjuge olmayan bilirubinde benzer artışlara neden olur.

Safra kanalında tıkanıklık veya hepatoselüler yapıda hasar olması dolaşım sisteminde hem konjuge (direkt) hem de konjuge olmayan (indirekt) bilirubin seviyelerinde artışa neden olur (70).

Bilirubinin ölçümü Diazo yöntemiyle yapılıyor. Konjuge bilirubin ve δ -bilirubin (direkt bilirubin) asit tampon içinde 3,5 Diklorofenil diazonyum tuzu ile doğrudan reaksiyona girer ve kırmızı renkli azobilirubin oluşur. Oluşan kırmızı azo boyanın renk yoğunluğu direkt (konjuge) bilirubin konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülebilir (71).

Bilirubinin glukuronik asit ve sülfürik asitle oluşturduğu esterlere konjuge (direkt) bilirubin adı verilir. Kandaki bilirubinin bir kısmı proteinle kompleks oluşturur. Buna da serbest bilirubin adı verilir. Posthepatik bilirubinler direkt bilirubinler olup laboratuvar analizlerinde verilen kimyasal maddelerle direkt olarak reaksiyona girer. Prehepatik bilirubinler ise indirekt bilirubinler olup laboratuvar analizinde de reaksiyon oluşturmak için metil alkol ilavesi gerekmektedir.

İndirekt (unkonjuge) bilirubin suda çözünmez. Kanda albumine bağlı olarak dolaşır. İndirekt bilirubin toksiktir. Kandaki seviyesi arttığında beyindeki bazal gangliyonlarda birikerek özellikle çocuklarda kernikterusa neden olabilir. Direkt (konjuge) bilirubin karaciğerde konjuge olmuş bilirubindir. Suda çözünür. Böylece

safraya atılabilir. İndirekt bilirubinden daha az toksiktir. Kandaki seviyesi yükseldiğinde böbrekten süzülerek idrarla atılabilir.

2.9. CRP

CRP enflamatuvar reaksiyonlarda klasik akut faz proteindir. Karaciğer tarafından sentezlenir ve molekül ağırlığı 105000 Dalton olan beş üyeli bir halka oluşturan özdeş beş polipeptid zincirden oluşur. CRP, akut fazda reaksiyon verenlerin en duyarlısıdır ve konsantrasyonu enflamatuvar süreçler sırasında hızla yükselir. Kompleks hale getirilmiş CRP klasik kompleman yolu aktive eder. CRP yanıtı sıklıkla ateş dahil olmak üzere klinik semptomlardan önce meydana gelir. Normal sağlıklı bireylerde CRP 5 mg/L (<47.6 nmol/L)'ye kadar bir aralıkta eser miktarda bir proteindir. Bir akut faz yanıtın başlangıcından sonra serumda CRP konsantrasyonu hızlı ve kapsamlı bir şekilde yükselir. Altı ile 12 saat içerisinde artış başlar ve 24 ila 48 saat içerisinde tepe değerine ulaşır. 100 mg/L'nin üzerindeki seviyeler majör travma ve ağır enfeksiyon (sepsis) gibi ağır uyarılarla ilişkilidir. CRP yanıtı, karaciğer hastalığı olan hastalarda daha az belirgin olabilir. CRP testleri, sistemik enflamatuvar süreçlerin tespit edilmesinde; bakteriyel enfeksiyonların antibiyotikle tedavisinin değerlendirilmesinde; prematüre amniyoreksinin eşlik ettiği rahim içi enfeksiyonların tespit edilmesinde; eş zamanlı enfeksiyonlu hastalıkların aktif ve inaktif formlarının ayırt edilmesinde, ör. SLE veya Kolitis ülserosa geçiren hastalarda; romatizmal hastalıkların terapötik olarak izlenmesinde ve anti-enflamatuvar tedavinin değerlendirilmesinde; operasyon sonrası komplikasyonların, örneğin enfekte olmuş yaralar, tromboz ve pnömoninin olup olmadığının erken aşamada tayin edilmesinde ve enfeksiyon ile kemik iliğinin rejeksiyonunun ayırt edilmesinde kullanılır. Hastalarda operasyon sonrası CRP seviyelerinin izlenmesi beklenmeyen komplikasyonların (yüksek veya artan seviyelerin sürmesi) tanınmasında yardımcı olabilir. CRP konsantrasyonlarındaki değişimin ölçülmesi bir hastalığın ne kadar akut ve ne kadar ciddi olduğu konusunda tanıyla ilgili faydalı bilgiler sağlar. Hastalığın başlangıcı hakkında kararlar verilmesini de mümkün kılar. Serumda yüksek CRP konsantrasyonunun devam etmesi genellikle ciddi bir prognostik işarettir ve bu durum sıklıkla kontrol edilemeyen bir enfeksiyonun varlığını belirtir (72-75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneyin etik kurul ilkelerine uygun olması amacıyla 18.10.2012 tarihinde İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na başvuru yapıldı. HADYEK, 01.11.2012 tarihinde "Deneysel hepatektomi modelinde sarımsak (Allivum sativum) kullanımının karaciğer rejenerasyonu ve oksidatif hasar üzerine olan etkileri" adlı tez çalışmamızın etik kurul ilkelerine uygun olduğunu (HADYEK Etik Kurul No:2012/155) bildirdi. İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsünde yapılan bu çalışmada, ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen, standart laboratuvar yemi ile beslenen 24 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 8-10 haftalık dişi cinsiyette olup dörderli kafeslerde oda sıcaklığında tutuldu. Deney hayvanları normal pellet yem ve su gibi uygun diet verilerek ve 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusleri oluşturularak, uygun ısı (22 ± 1 °C) ve nem (%65-70) ortamında yaşamaları sağlandı. Deneklerden, her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 3 grup oluşturuldu.

Grup 1: %70 Hepatektomi yapılan ve preop ve postop birer hafta normal gıdaya ek olarak sarımsak ekstresi(30 µg/kg/gün olacak şekilde sarımsak özü (Allyl disulfide,Sigma-Aldrich, formula: C₆H₁₀S₂, CAS Number: 2179-57-9, formula weight: 146.27 g/mol) ile gavaj yöntemiyle)ile beslenen grup (deney grubu).

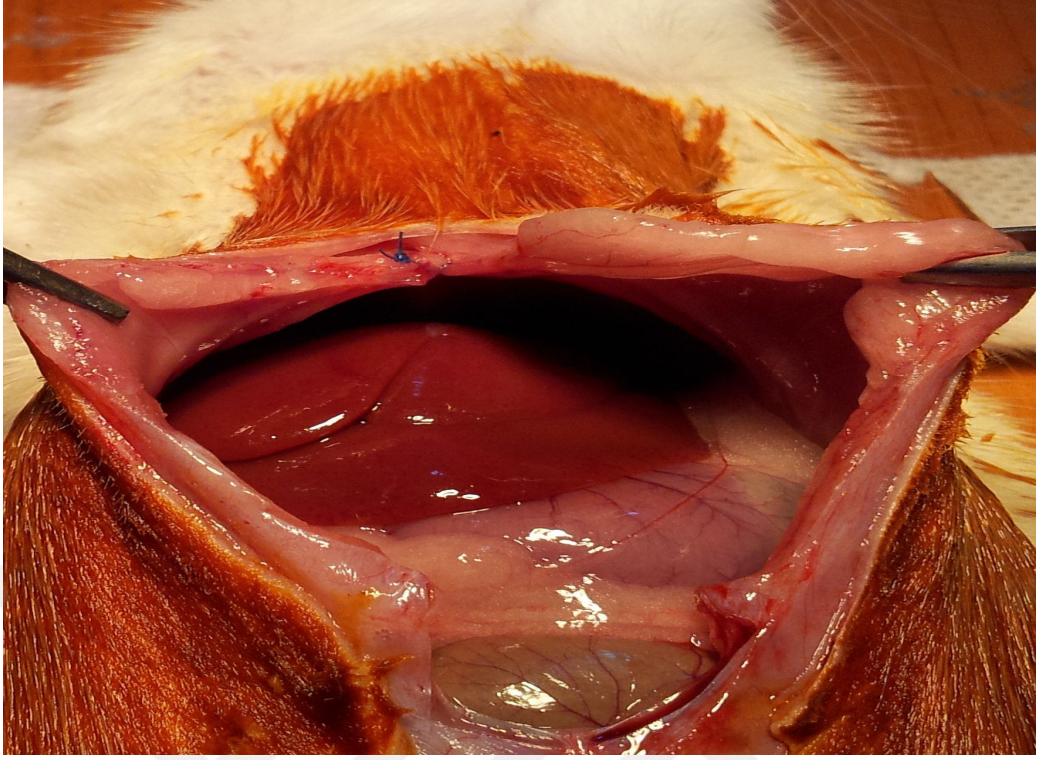
Grup 2: %70 Hepatektomi yapılan ve preop ve postop birer hafta normal gıda ve su ile beslenen grup (kontrol grubu).

Grup 3: Batın açılıp karaciğer anatomisi ortaya konulduktan sonra rezeksiyon yapmadan ameliyatı sonlandırılan grup (sham grubu).

3.2. ANESTEZİ VE CERRAHİ TEKNİK

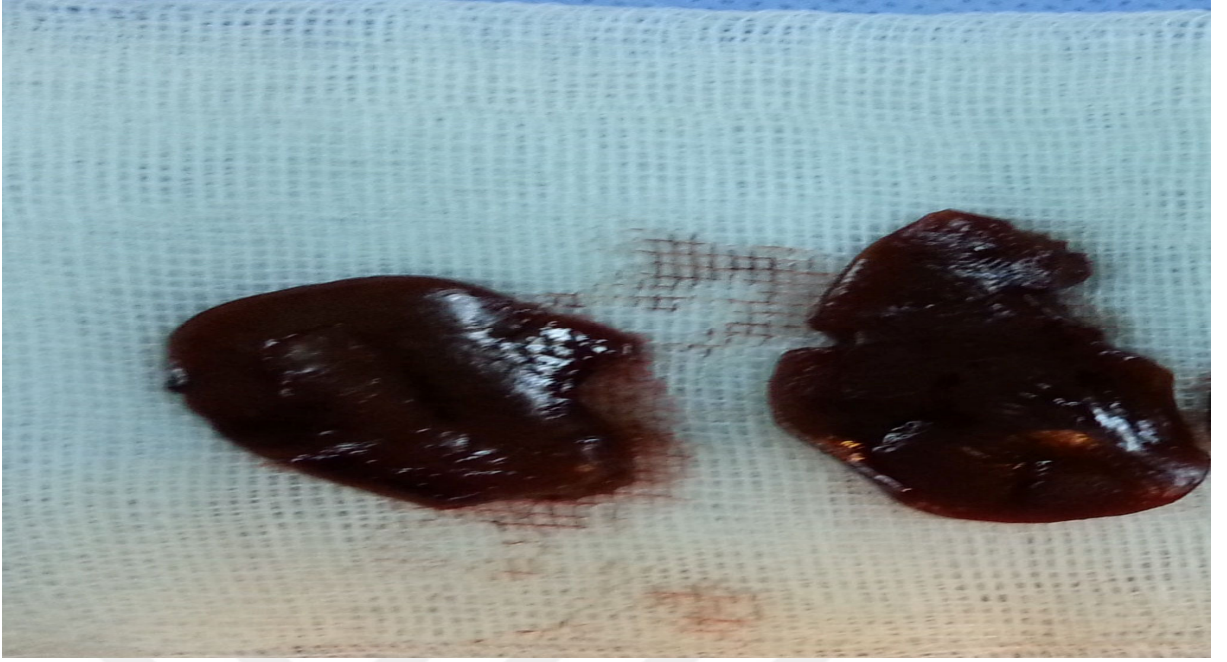
Günlük değişen rejeneratif cevabın etkisine engel olmak için operasyonlar günün ilk yarısında yapıldı. Steril şartlar sağlanarak 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) ve 10/mg/kg Ksilazin HCl anestezisi altındaki sıçanların karın traşları yapıldıktan sonra yaklaşık 3 cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı (Şekil 1). Karaciğer sol lateral ve median lobların pedikülleri, koroner, sol lateral ve gastrohepatik ligamentler serbestleştirildikten sonra 3/0 ipek ile bağlanarak Higgins ve Anderson'un tanımladığı şekilde (23) %70 hepatektomi yapıldı (Resim 3-5). Tüm sıçanların laparotomi insizyonları 2/0 ipek kullanılarak tek kat devamlı dikişlerle kapatıldı. Postop dönemde günlük pansumanları yapıldı.

Karaciğer rezeksiyonundan sonra 7. günde tüm gruptaki sekizer adet denek sakrifiye edildi.



Resim 1: Major hepatektomi öncesi karaciğerin ortaya konulması

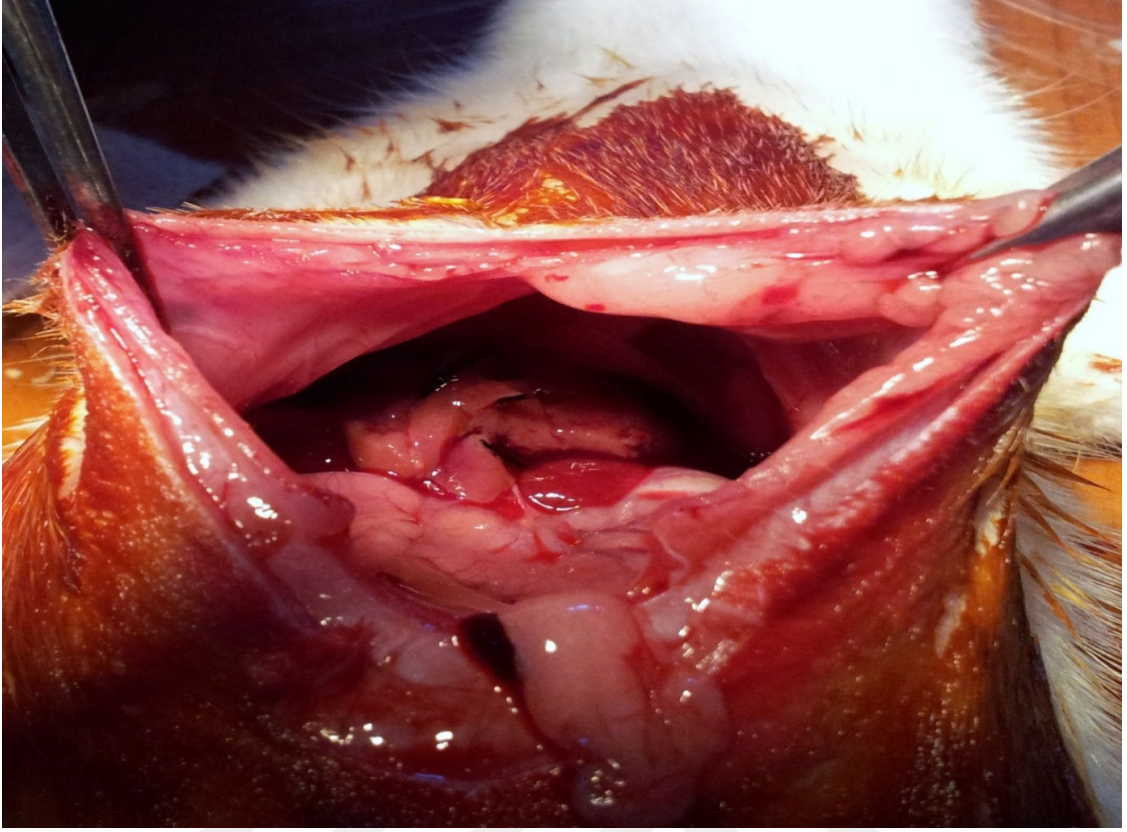
Steril şartlar sağlanarak 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) ve 10/mg/kg Ksilazin HCl anestezisi altındaki sıçanların karın traşları yapıldıktan sonra yaklaşık 3 cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı ve karaciğer ortaya konuldu.



Resim 2: Major(%70) hepatektomi ile çıkarılan sol lateral ve medial lobların görünümü



Resim 3: Sarımsak grubunda yer alan bir deneğin sakrifikasyon sonrası karaciğerinin alınan parçasının görüntüsü



Resim 4: Major hepatektomi sonrası operasyon lojunun görünümü ve geride kalan karaciğer

Karaciğer sol lateral ve median lobların pedikülleri, koroner, sol lateral ve gastrohepatik ligamentler serbestleştirildikten sonra 3/0 ipek ile bağlanarak Higgins ve Anderson'un tanımladığı şekilde %70 karaciğer rezeksiyonu yapıldı. Kanama kontrolünü takiben karın içine 10 mm'lik %0.9'luk serum fizyolojik solüsyonu verilerek karın orta hattı 2/0 ipek ile devamlı tek kat üzerinden kapatıldı.

3.3. ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ

3.3.1. Biyokimyasal Sonuçların Değerlendirilmesi

Kan numunelerindeki AST, ALT, bilirubin ve CRP tayinleri hastanemiz Biyokimya Kliniği laboratuvarlarında yapıldı. Ölümden hemen önce deneklerden biyokimyasal analiz için intra kardiak kan numuneleri alındı. Deneklerden alınan kan yarım saat bekletilerek pıhtılaştıktan sonra santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Daha sonra bu serumlar – 80 C'ye konarak çalışma zamanına kadar bekletildi. Çalışma günü serumların oda sıcaklığına gelmesi sağlandıktan sonra Roche Cobas c 701 cihazında AST, ALT, bilirubin ve CRP düzeyleri çalışıldı. AST ve ALT Tris buffer yöntemiyle, bilirubinler Diklorfenil diazonyum yöntemiyle, CRP immunoturbidimetrik yöntemi ile çalışıldı ve sonuçlar AST VE ALT için U/L , Bilirubin için mg/dL ve CRP için mg/L olarak hesaplandı.

3.3.2. Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Ölümden hemen önce deneklerden patoloji için karaciğer örnekleri alındı ve Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji kliniğine teslim edildi. Her üç gruba ait karaciğer dokuları 24 saat %10 luk formalin solüsyonunda fikse edildikten sonra, hazırlanan örnekler %60, %70, %80, %96 ve %100 lük alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon işlemi uygulandı. Daha sonra dokudan alkolü uzaklaştırarak şeffaflaştırmak için ksilol serilerinden geçirildi. Ksilolün dokudan uzaklaştırılması için 3 ayrı erimiş parafin kabında tutulan dokular parafin gömme işlemine alındı. Parafin bloklar hazırlanarak mikrotomda 4 mikronluk kesitler elde edilmiştir. Kesitler Hematoksilen eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX50) karaciğer patolojisi konusunda deneyimli bir patolog tarafından değerlendirilmiştir. Aynı kesitlere Masson trikrom ve Retikülin ile histokimyasal çalışma uygulanmıştır (Bio-Optica histokimyasal hazır boya kiti).

Karaciğer parankim hücre (hepatosit) sitoplazmalarında yağlanma (makro-mikro veziküller) varlığı, fibrozis, hepatosit nükleuslarında pleomorfizm, portal inflamasyon, lobül içi inflamatuvar hücre varlığı, sinüzoidlerde dilatasyon, konjesyon, sentral vende

konjesyon, rejenerasyon, sinüzoid lümenlerinde kupffer hücre varlığı, hepatositlerde ki-67 proliferasyon indeksi bakıldı.

İHK boyama yöntemi olarak streptoavidin-biotin boyama tekniği kullanıldı. Çalışmaya alınan olguda Ki-67 ekspresyonunu belirlemek amacı ile parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığın da hazırlanan kesitler 'Poly-L-Lysine' li lamlara alındı. Ki-67 (SP6) (**Biocare ABD**) kullanıma hazır tavşan monoklonal antikoru ile immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Değerlendirmeye alınan lamlar üzerinde 400 büyük büyütme alanında 500 hücre sayıldı. Tüm preparatlar aynı patolog tarafından değerlendirildi. Karaciğer dokusunda Ki-67 boyanması gösteren hücrelerin sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı.

3.3.3. Dokuda MDA Ölçümü

Oksidatif hasarın göstergesi olarak MDA bakılması için karaciğer doku örnekleri alındı ve örnekler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik ABD laboratuvarında analiz edildi

Doku örneklerinde MDA analizi için karaciğer doku homojenatları soğukta 0,15 M KCl içinde (%10, w/v) cam homojenizatörler kullanılarak hazırlandı.

Lipit peroksidasyon belirteci olarak doku MDA derişimi Beuge ve Aust tarafından tanımlanan yonteme göre analiz edildi. Yontem, MDA'nın tiyobarbitürük asit ile yaptığı kompleksin kolorimetrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır. Bu yonteme göre bir hacim doku homojenat örneğinin iki hacim stok reaktif (0,25 N HCl içinde %14 trikloroasetik asit ve % 0,375 tiyobarbitürük asit içeren) ile reaksiyona girmesi sonrasında hazırlanan reaksiyon karışımları 15 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildikten sonra soğutulup, 1000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantların absorbansı spektrofotometrik olarak 535 nm'de köre karşı ölçüldü. Hesaplanan sonuçlar nmol MDA/gram doku olarak ifade edildi.

3.3.4. Plazmada MDA Ölçümü

Oksidatif hasarın göstergesi olarak MDA bakılması için kan örnekleri alındı ve örnekler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik ABD Laboratuvarında analiz edildi.

Bir hacim örnek, iki hacim stok reaktif (0,25 N HCl içinde %14 trikloroasetik asit ve % 0,375 tiyobarbitürik asit içeren) ile reaksiyona girmesi sonrasında hazırlanan reaksiyon karışımları 15 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildikten sonra soğutulup, 1000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantların absorbansı spektrofotometrik olarak 535 nm'de köre karşı ölçüldü. Hesaplanan sonuçlar mikromol MDA/L olarak ifade edildi (76).

3.3.5. İstatistiksel Analiz

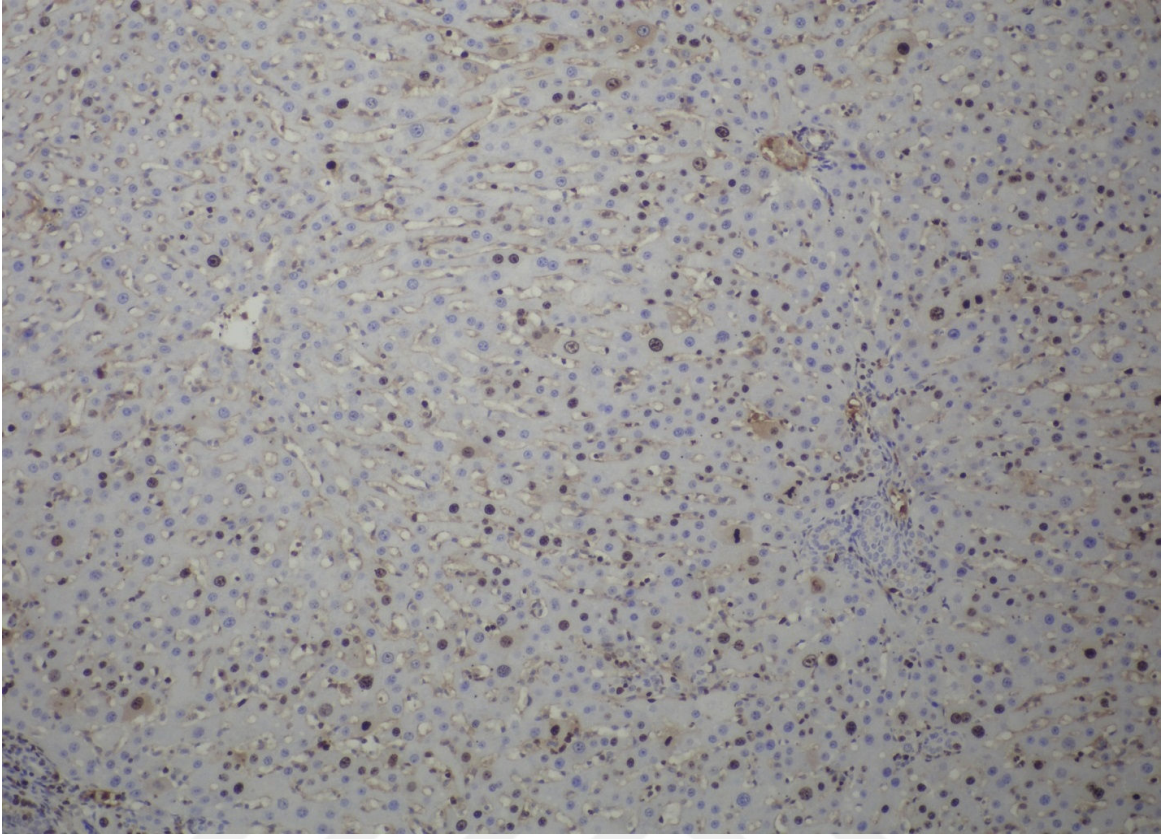
Sonuçların istatistiksel analizinde SPSS 17.0 programı kullanıldı. Gruplar ve kategorik değişken olan yağlanma, fibrozis, nükleer pleomorfizm, portal iltihabi hücre infiltrasyonu, sinusoidlerde dilatasyon ve hiperemi, sinusoid lümenlerinde kupffer hücre artışı, santral vende konjesyon, rejenerasyon arasında istatistiksel olarak bir farklılık olup olmadığının araştırılmasında ki-kare (Chi-Square) testi kullanıldı. Denek grupları ve sayısal değişkenlerin ortalamaları arasındaki istatistiksel bir farklılaşma olup olmadığının tespiti için parametrik olmayan test grubundan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

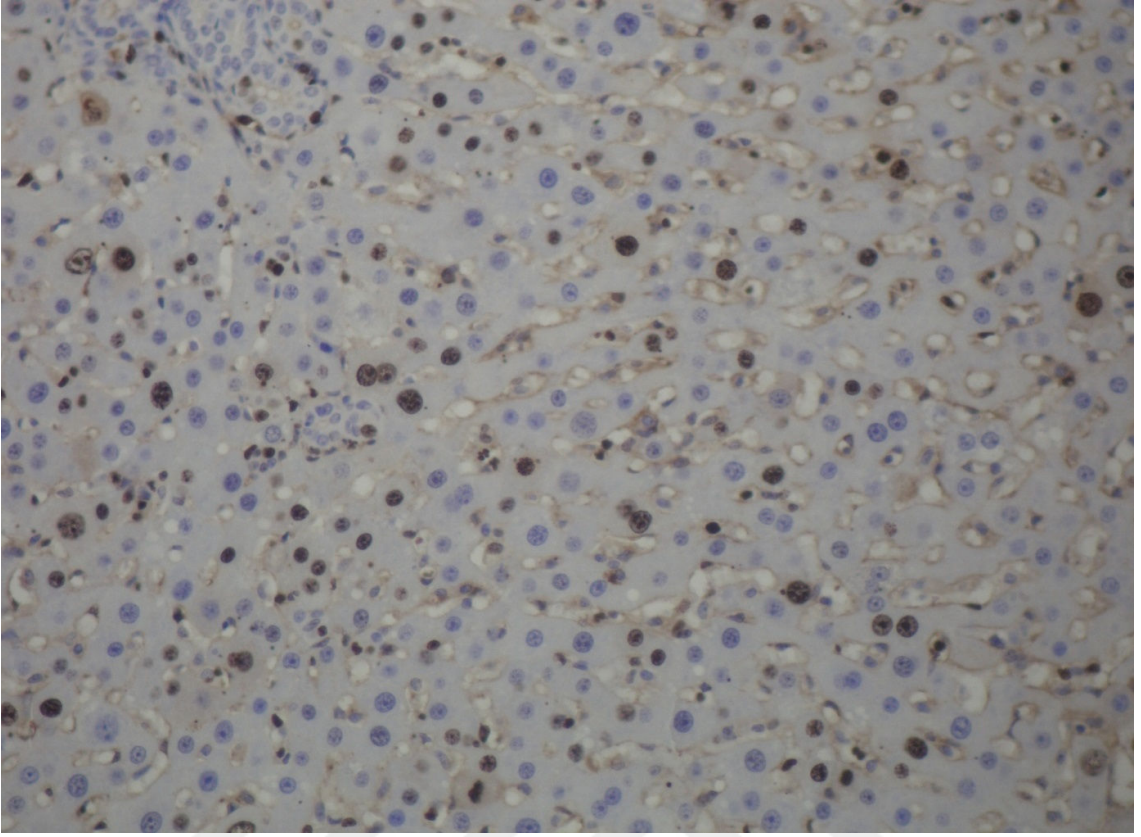
4.1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Tablo 1: Patoloji bulgularının özeti ve istatistiği (p< 0.05 olması anlamlıdır)

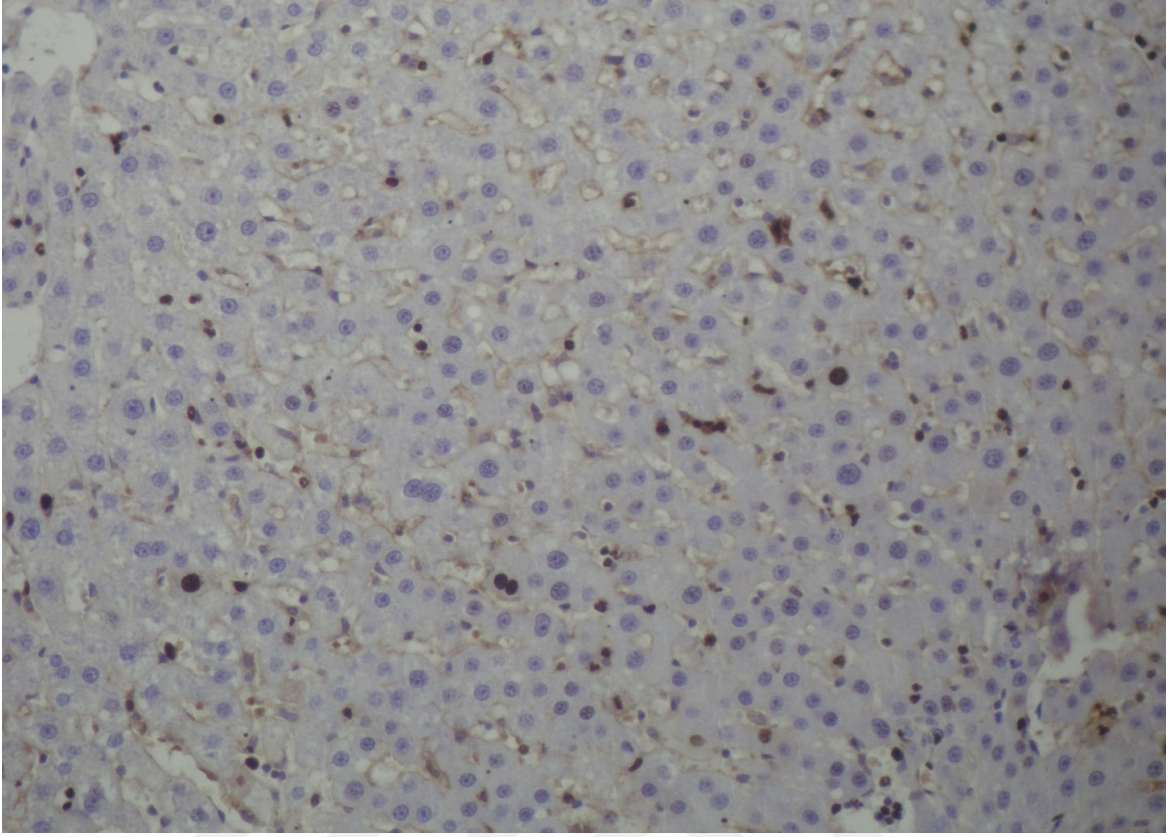
		Grup			P
		Sarımsak	Kontrol	Sham	
Fibroblast Aktivitesi	yok	2 11,1%	8 44,4%	8 44,4%	,000
	var	6 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
Nükleer Pleomorfizm	yok	0 0,0%	0 0,0%	3 100,0%	,000
	var	1 7,1%	8 57,1%	5 35,7%	
	ileri	7 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
Portal iltihabi hücre infiltrasyonu	yok	6 28,6%	8 38,1%	7 33,3%	,319
	var	2 66,7%	0 0,0%	1 33,3%	
Sinusoidlerde dilatasyon, hiperemi	var	3 15,8%	8 42,1%	8 42,1%	,013
	ileri	4 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
	çok ileri	1 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
sinusoid lümenlerinde kupffer hücre artışı	yok	0 0,0%	3 30,0%	7 70,0%	,001
	var	4 40,0%	5 50,0%	1 10,0%	
	ileri	4 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
		17,6%	35,3%	47,1%	
	var	2 50,0%	2 50,0%	0 0,0%	
	ileri	2 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	
Rejenerasyon	yok	0 0,0%	0 0,0%	1 100,0%	,006
	var	3 16,7%	8 44,4%	7 38,9%	
	ileri	5 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	



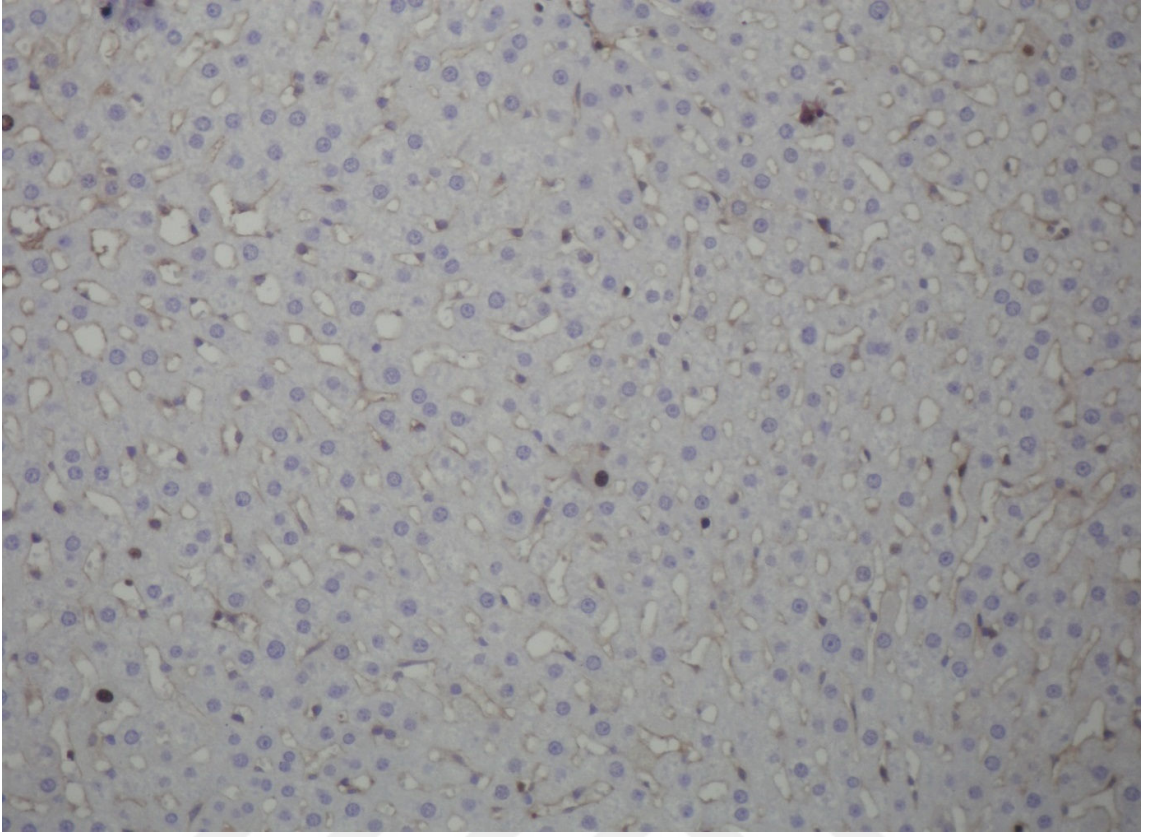
Resim 5: Sarımsak grubunda Ki 67 nükleer boyanması (%40), x100



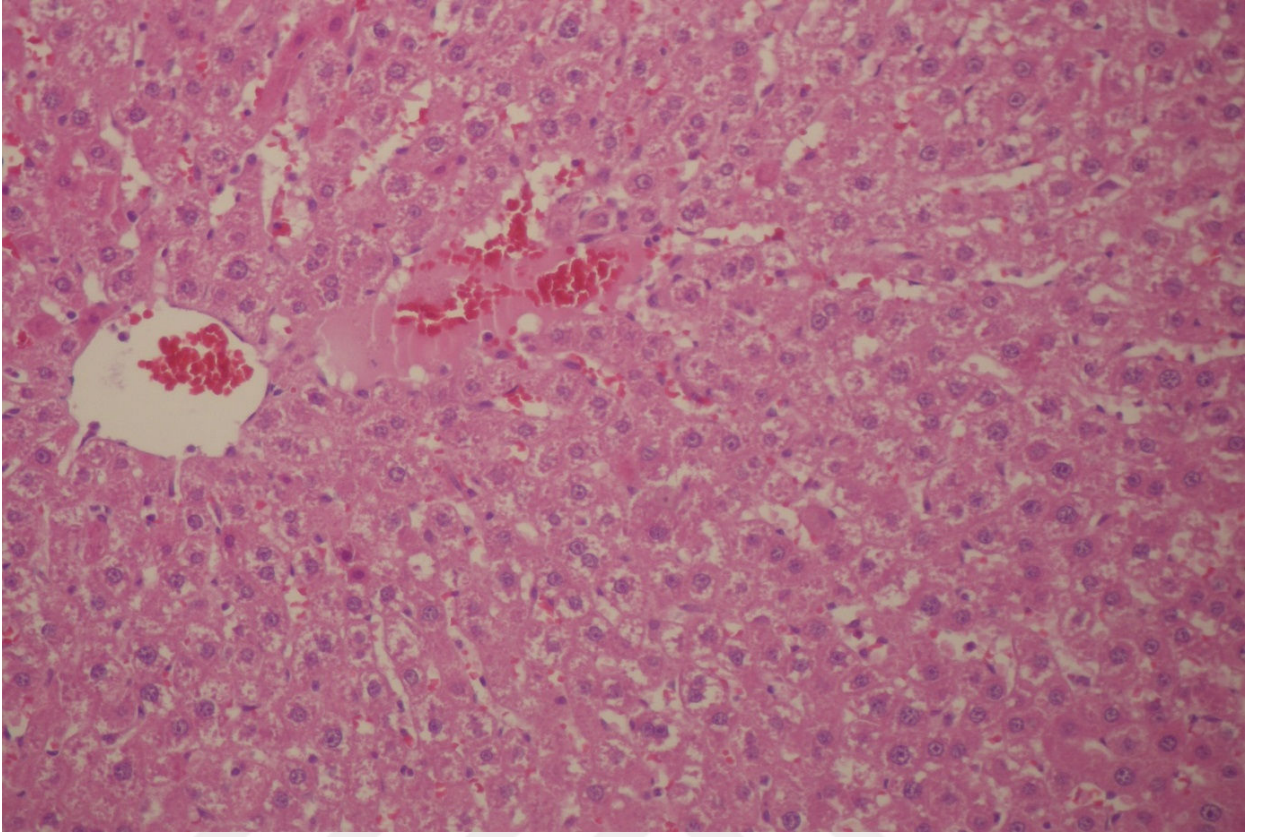
Resim 6: Sarımsak grubunda Ki 67 nükleer boyanması (%40) ve parankim hücrelerinde çift nukleus görünümü, x200



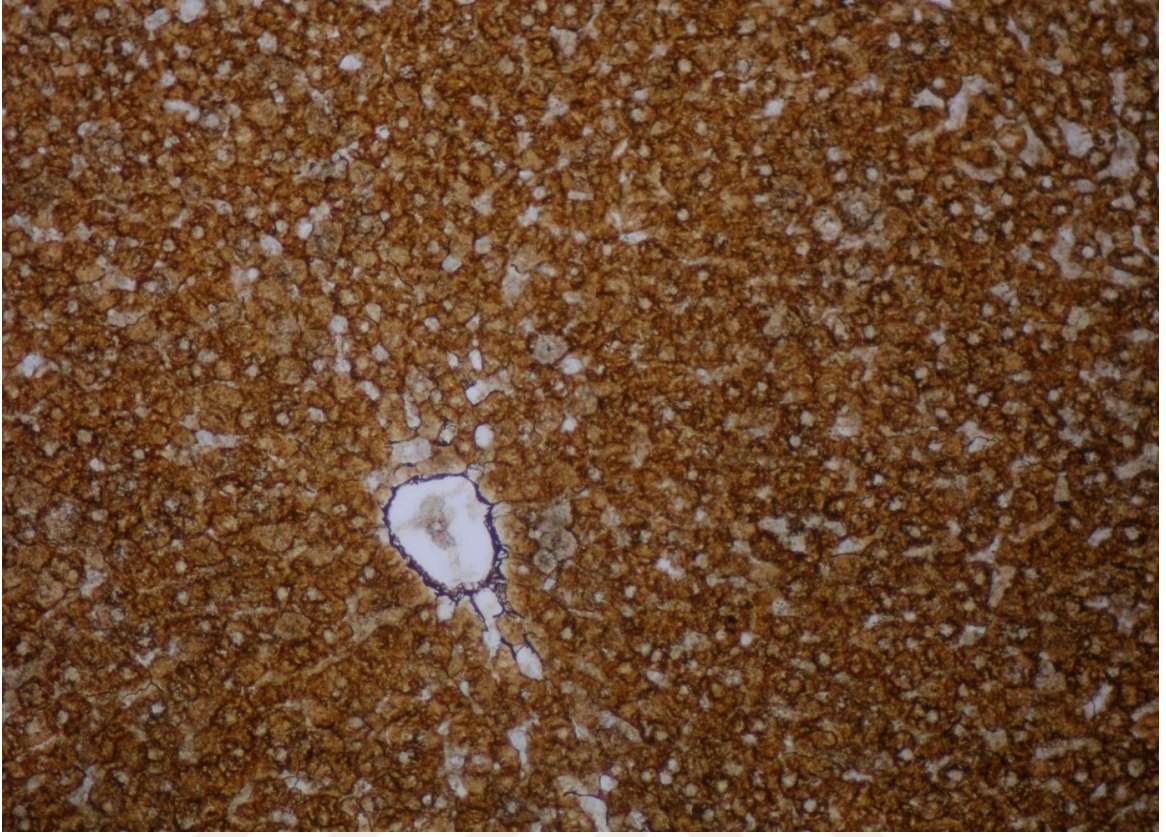
Resim 7: Kontrol grubunda Ki 67 nükleer boyanması (%5), x 200



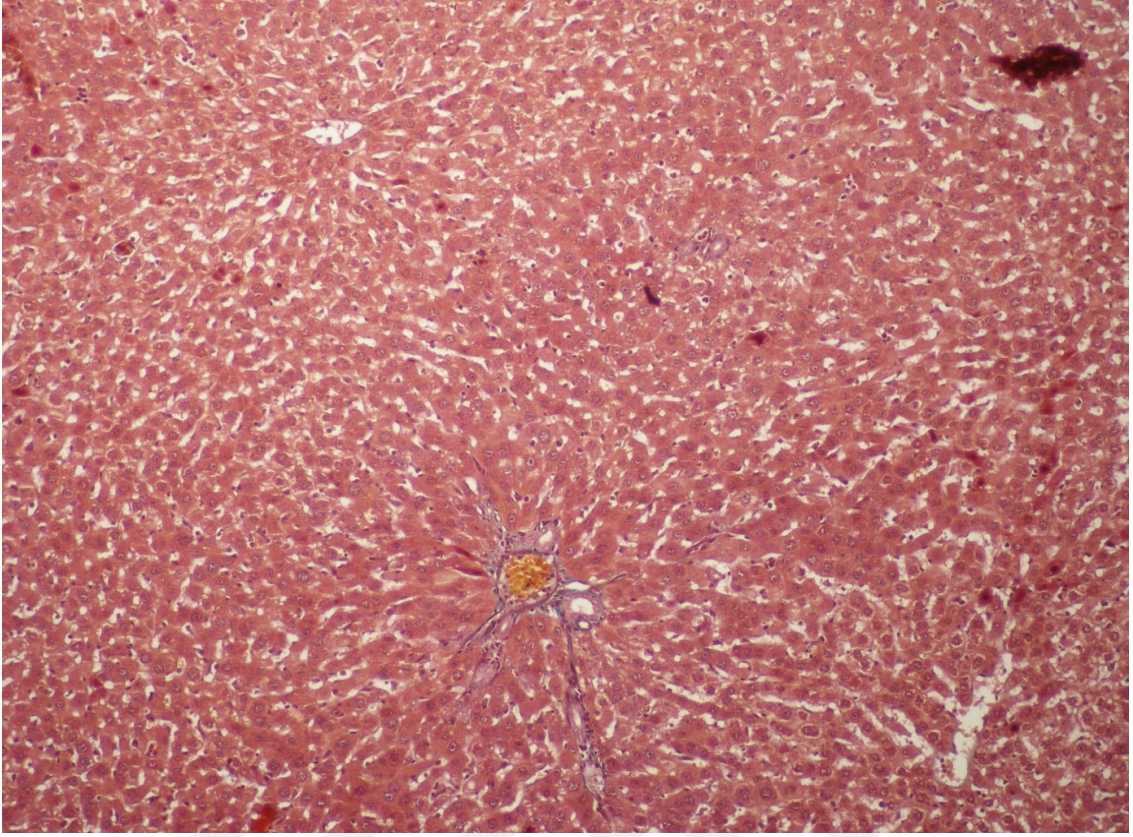
Resim 8: Sham Grubunda Ki 67 nükleer boyanması (%5) ,x200



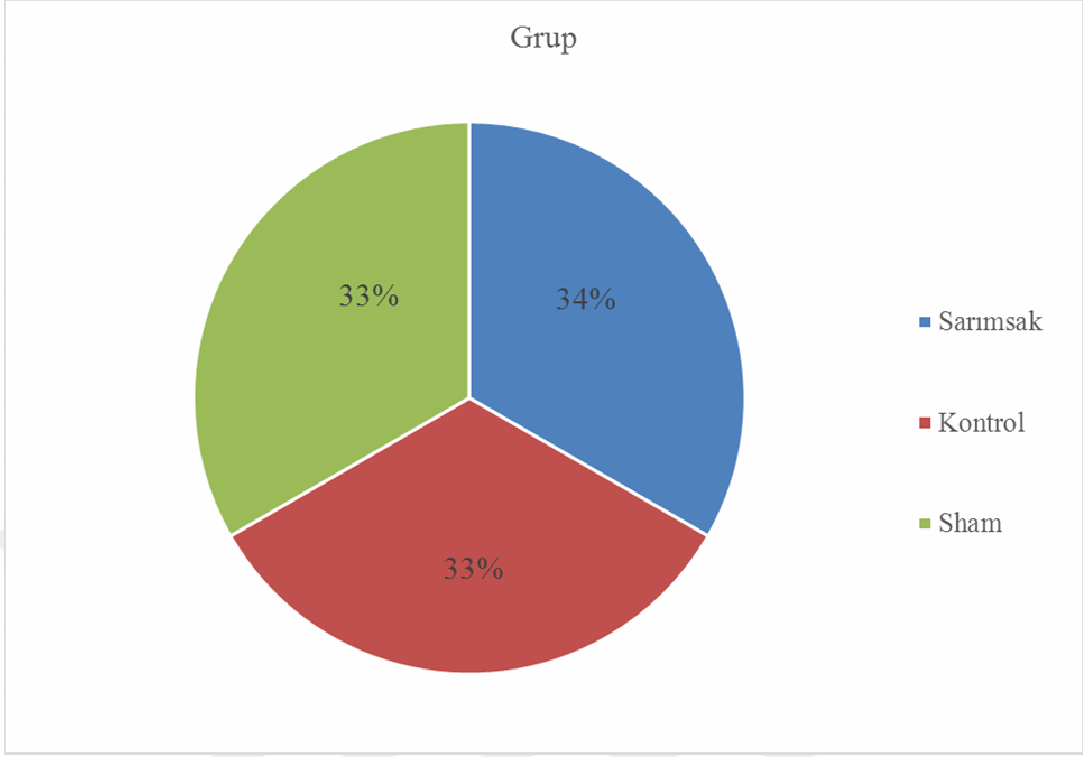
Resim 9: Kontrol grubunda sentral vende ve sinusoidlerde konjesyon , HE,x200



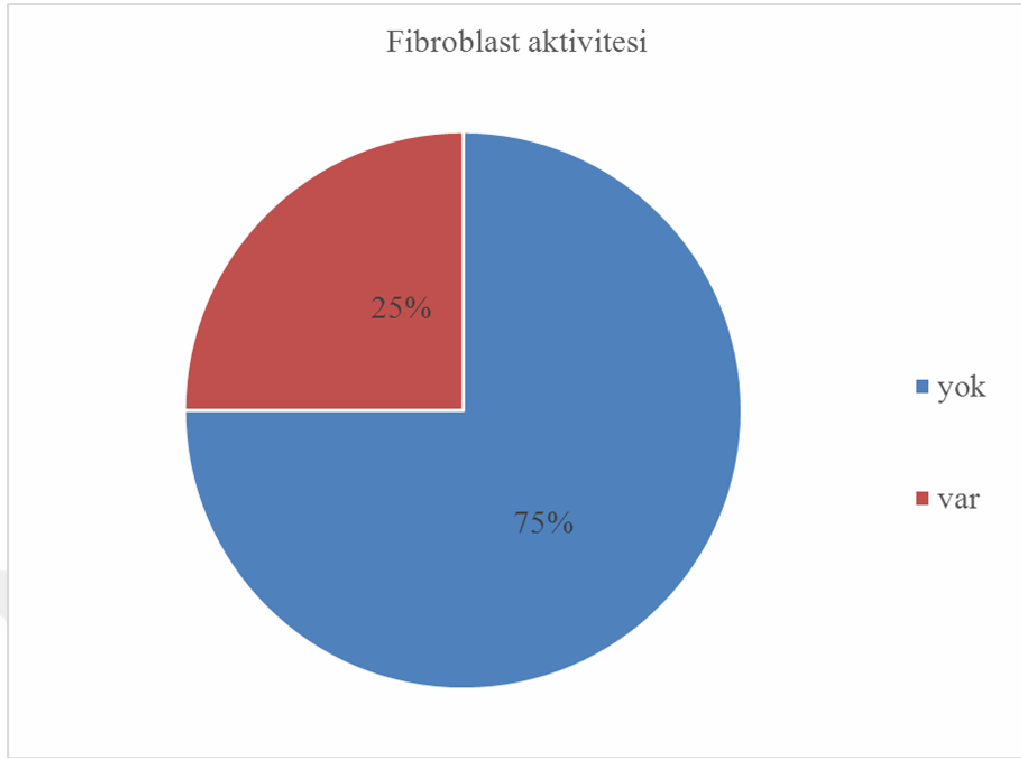
Resim 10:Sham Grubunda düzenli retiküler çatı, Retikülin, x200



Resim 11: Sarımsak grubunda portal alanlarda düzenli yapı, Masson trikrom, x100

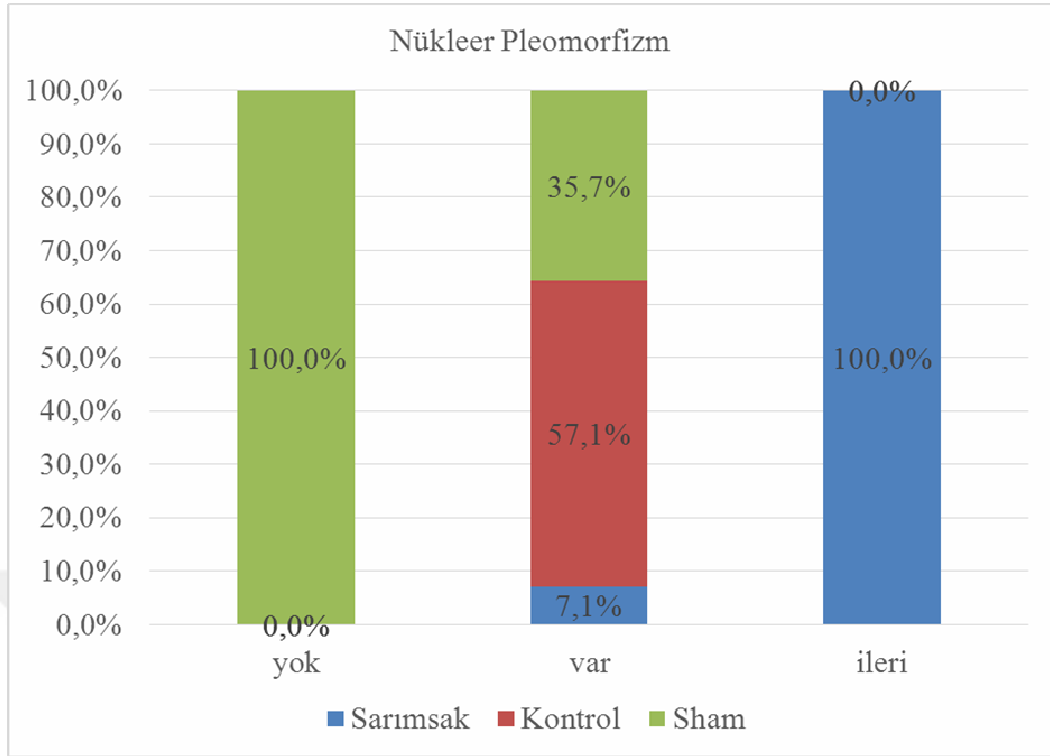


Grafik 1: Grupların Oransal Dağılımı



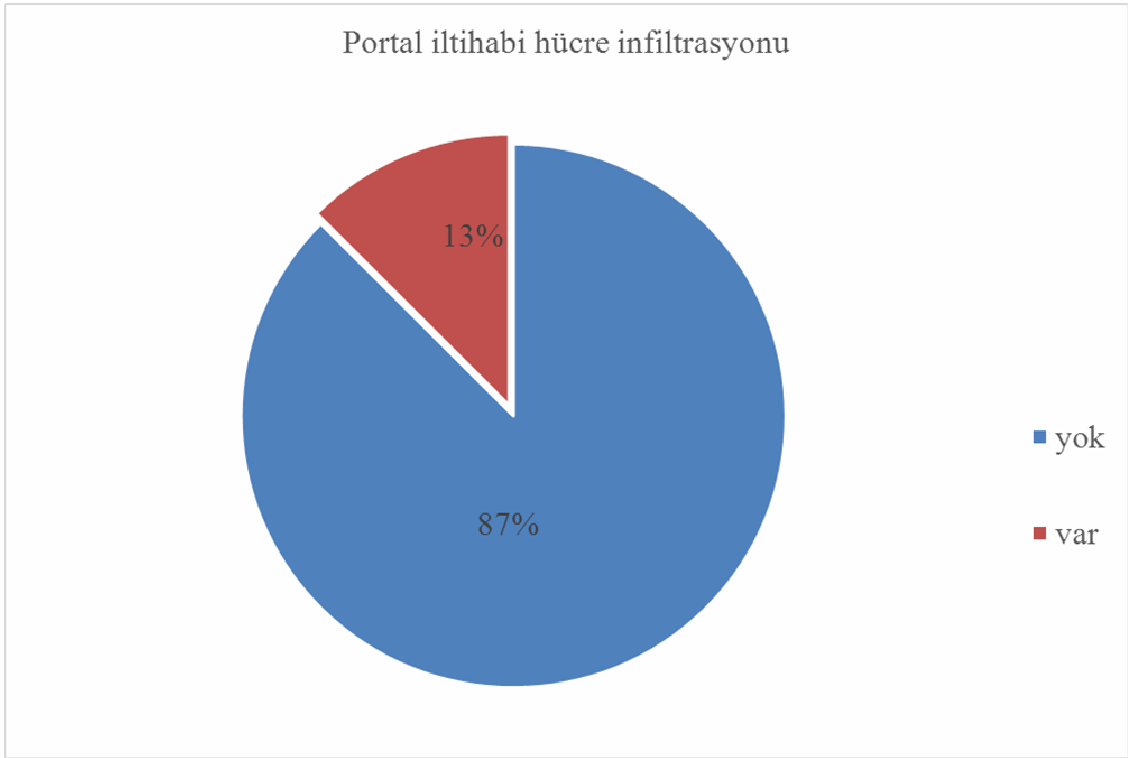
Grafik 2: Fibroblast aktivitesi

Denek grupları ve fibroblast aktivitesi durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Fibroblast aktivitesi görülenlerin tamamı Sarımsak grubundadır. Kontrol grubunda ve Sham grubunda fibroblast aktivitesi tespit edilmemiştir.



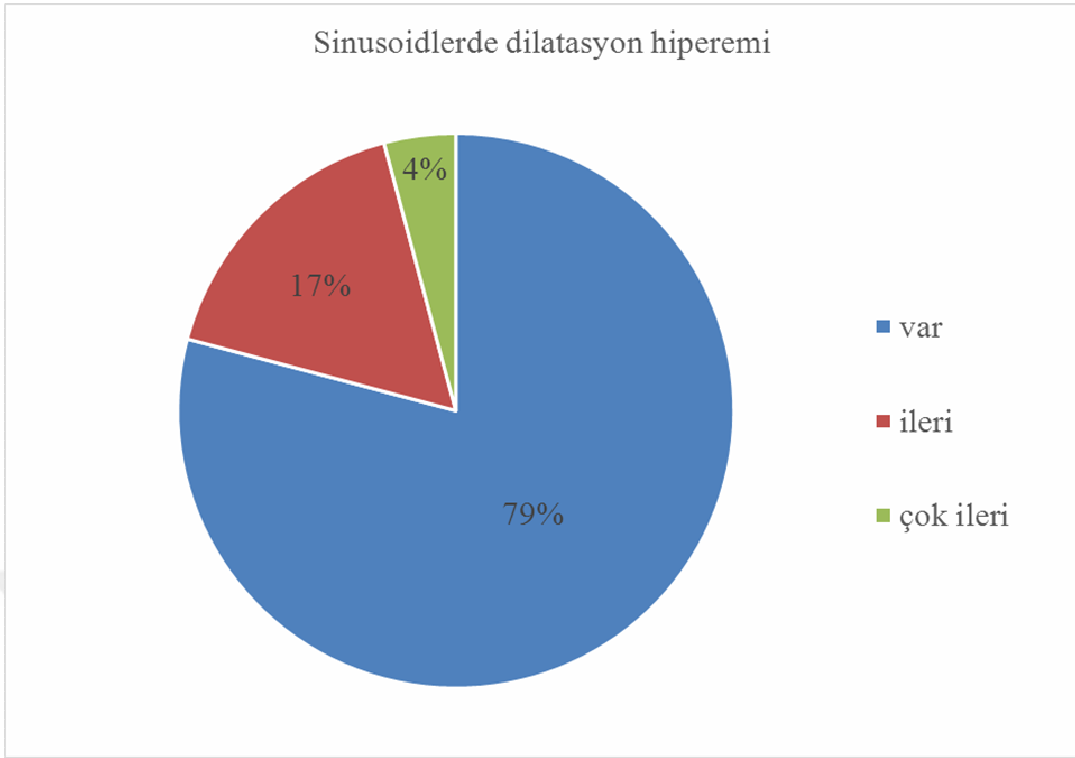
Grafik 3: Deney Gruplarında Nükleer Pleomorfizm ve Çift Nükleus Oranları

Deney grupları ve Nükleer Pleomorfizm Çift Nükleus görülme durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. İleri seviyede nükleer pleomorfizm ve çift nükleus görülen denekler sarımsak grubundan, görülmeyenlerin tamamı Sham grubundandır. Kontrol grubunda da nükleer pleomorfizm ve çift nükleus görülmekle beraber, sarımsak grubuna oranla kontrol grubunda daha az nükleer pleomorfizm ve çift nükleus görülmüştür.



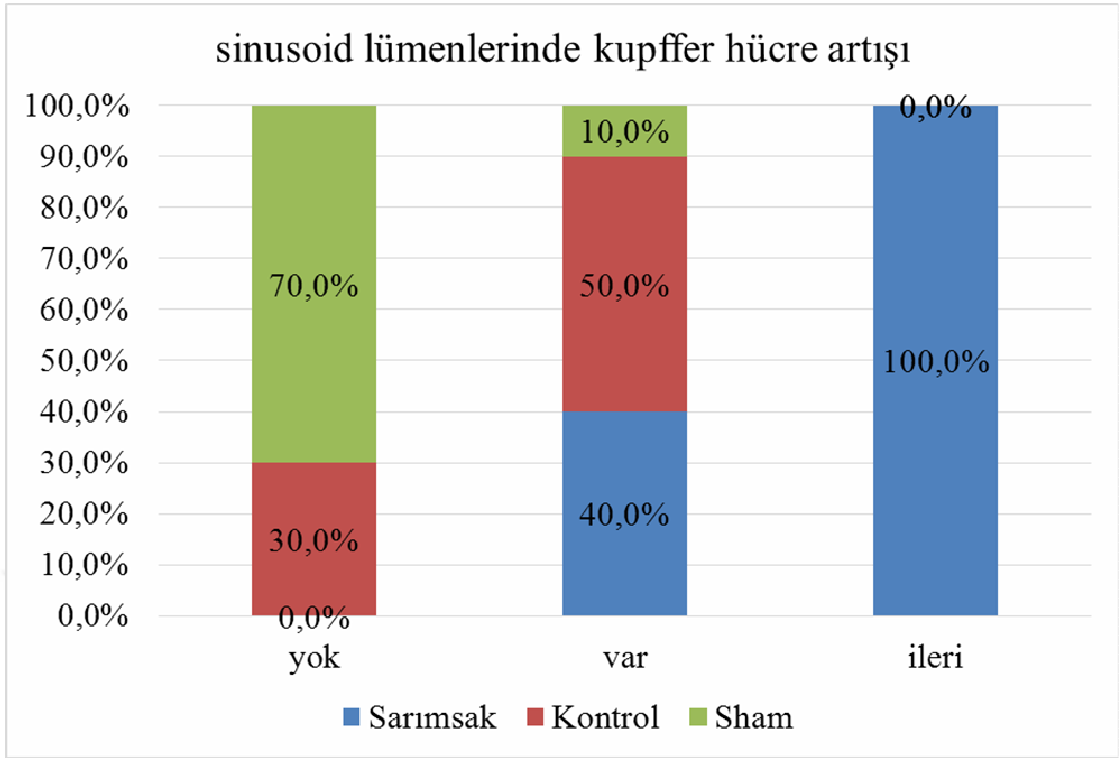
Grafik 4: Portal İltihabi hücre infiltrasyonu

Sarımsak grubu,kontrol grubu ve sham grubu ile Portal iltihabi hücre infiltrasyonu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmedi.



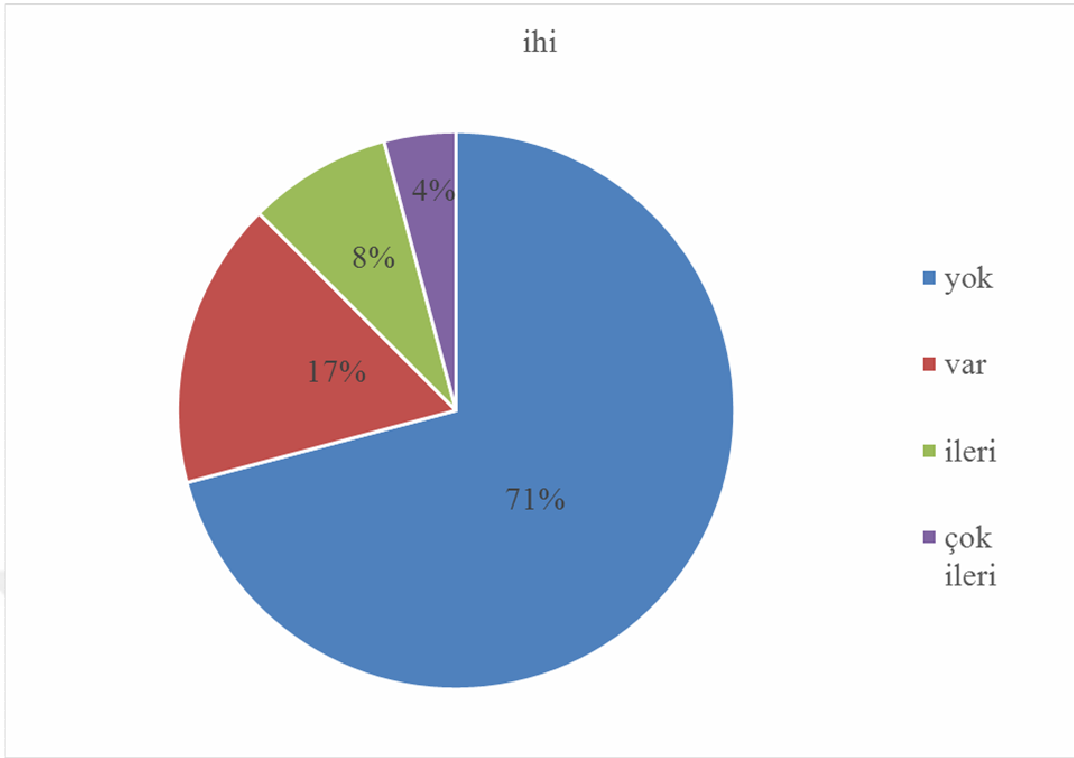
Grafik 5: Sinüzoidlerde Dilatasyon ve Hiperemi

Denek grupları ve Sinusoidlerde dilatasyon ve hiperemi durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Sinusoidlerde dilatasyon ve hiperemi ileri ve çok ileri durumu görülenlerin tamamı Sarımsak grubundadır.



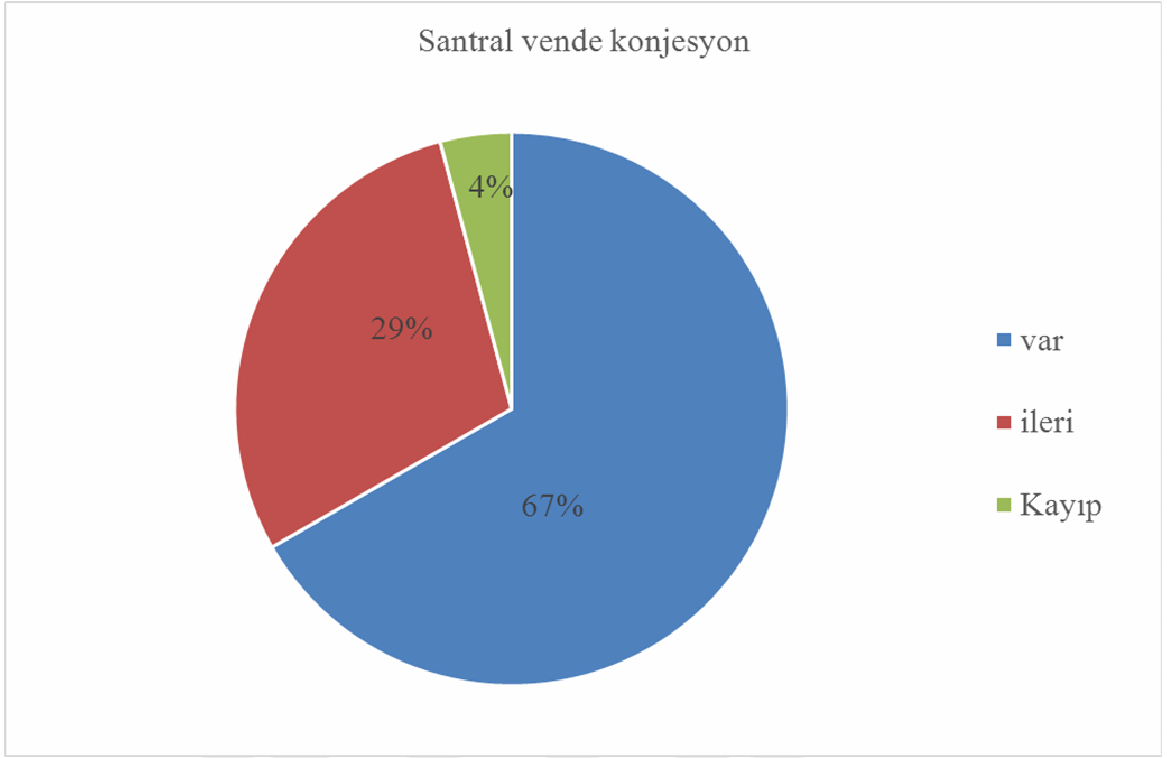
Grafik 6: Deney Gruplarının Sinüzoid Lümenlerinde Kupffer Hücre Artışı

Denek grupları ve Sinüzoid Lümenlerinde Kupffer Hücre Artış durumunu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Sinüzoid lümenlerinde kupffer hücre artışı durumu çok ileri görülenlerin tamamı Sarımsak grubundadır. Sham grubuna doğru Sinüzoid lümenlerinde kupffer hücre artışı durumunda azalma söz konusudur.



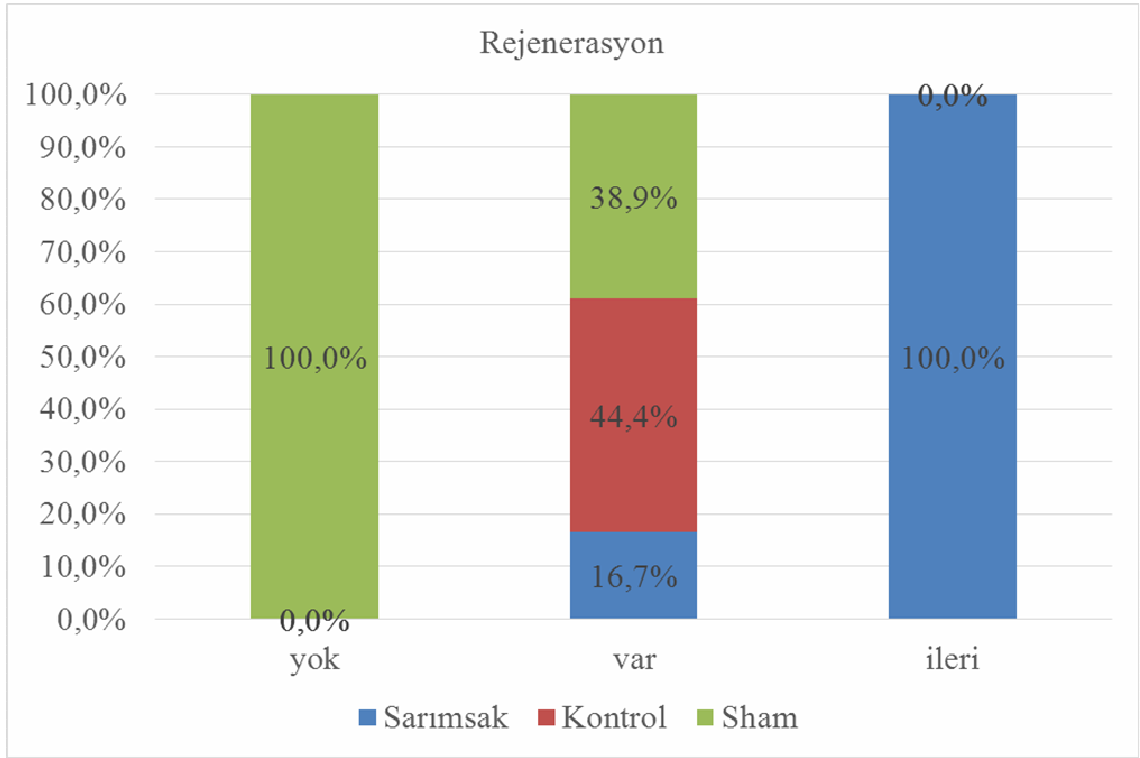
Grafik 7: İltihabi Hücre İnfiltrasyonu

Denek grupları ve İltihabi Hücre İnfiltrasyonu durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmedi.



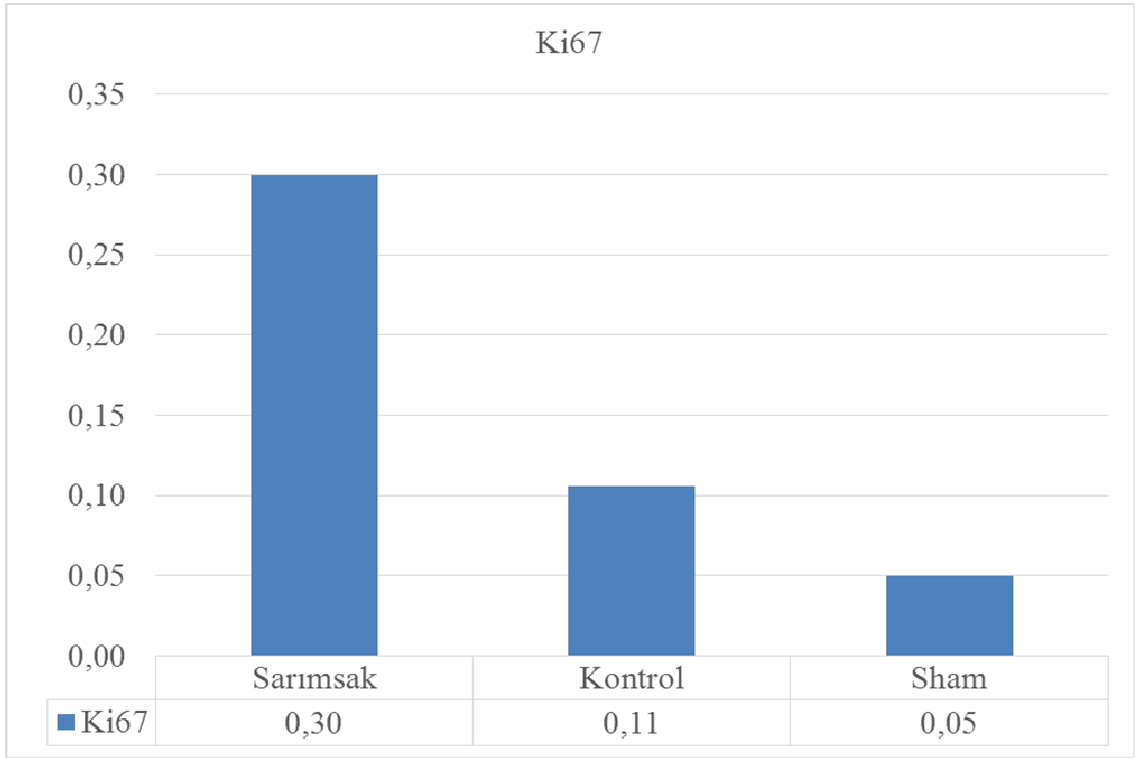
Grafik 8: Santral Vende Konjesyon Oranları

Denek grupları ve Santral vende konjesyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir.



Grafik 9: Deney Gruplarının Rejenerasyon Kapasitesi Oranları

Denek grupları ve Rejenerasyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. İleri rejenerasyon görülen deneklerin tamamı sarımsak grubundadır. Hiç rejenerasyon görülmeyen deneklerin tamamı Sham grubundadır.



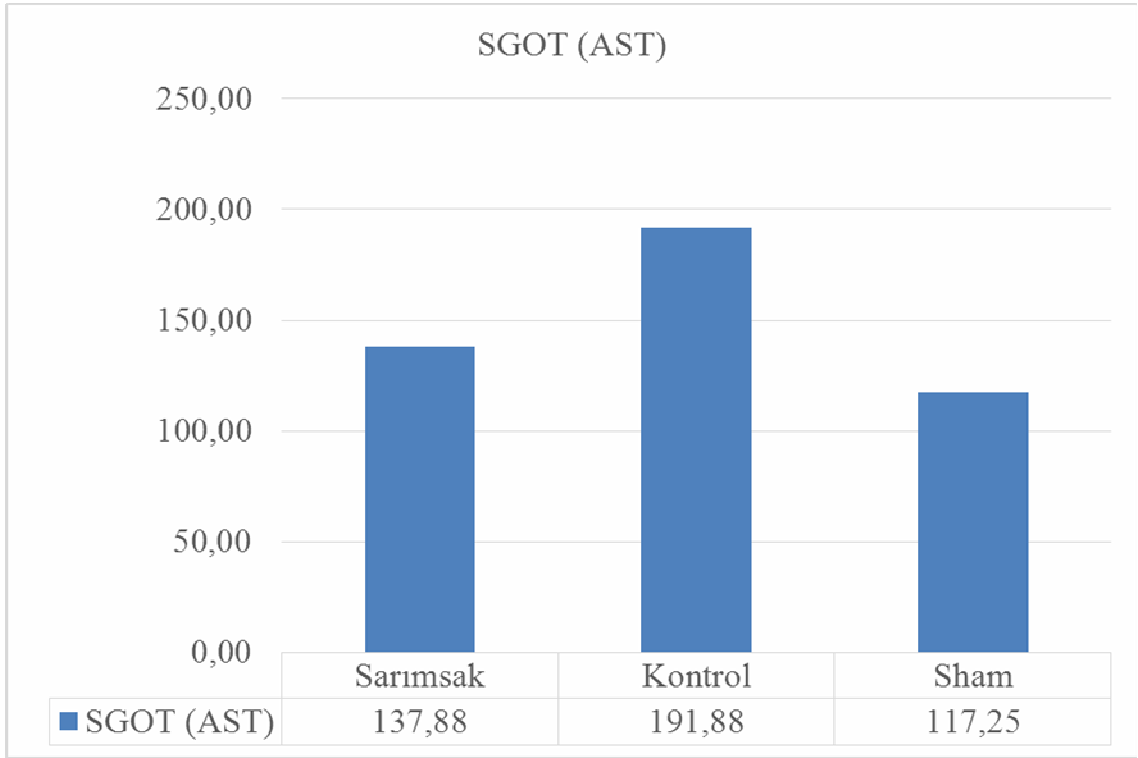
Grafik 10: Deney Gruplarının Kİ 67 Proliferasyon İndeksi Oranları

Sarımsak grubunda Ki67 proliferasyonu indeksi ortalama 0,30 kontrol grubunda 0,11 Sham grubunda ise 0,05 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da anlamlıdır. Sarımsak ekstresi ile beslenen deneklerde proliferasyon oranı anlamlı olarak diğer gruplardan yüksektir.

4.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

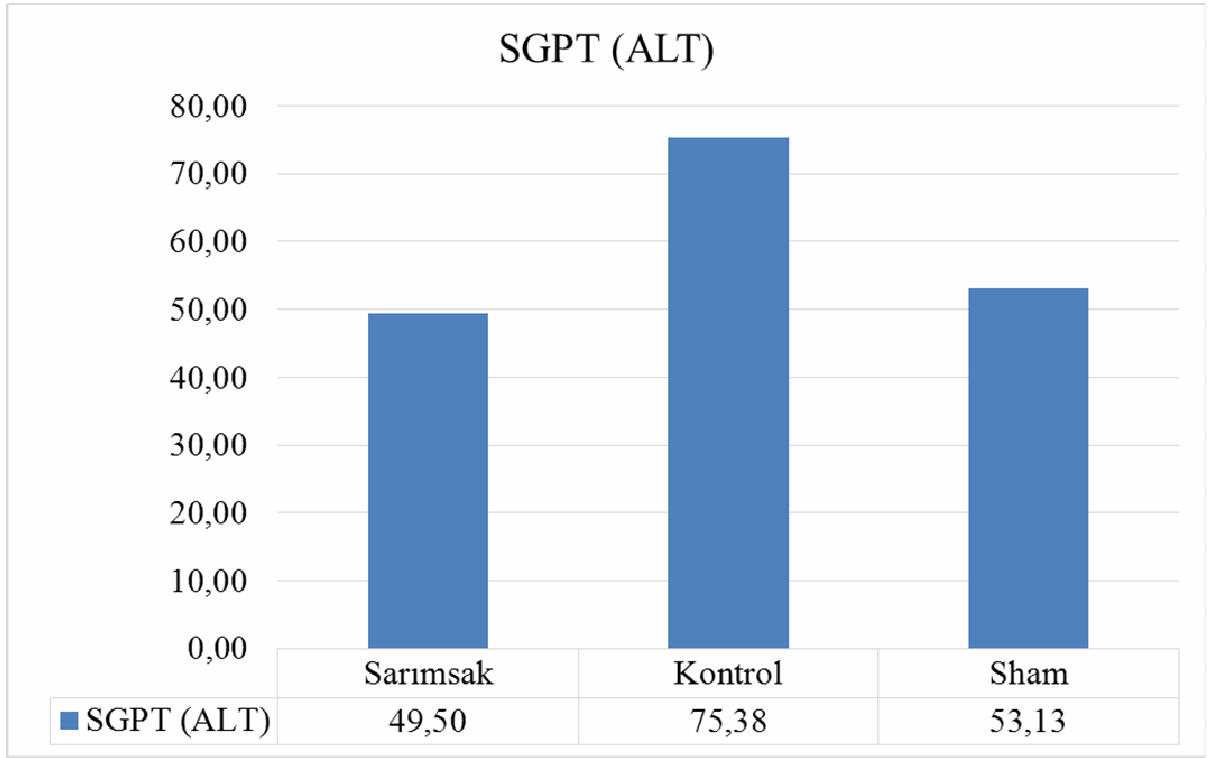
Tablo 2: Biyokimyasal Parametrelerim Özeti ve İstatistiği (p< 0.05 olması anlamlıdır)

	Grup						p
	Sarımsak		Kontrol		Sham		
	Mean	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation	
Ki67	0,30	0,09	0,11	0,02	0,05	0,01	0,000
SGOT (AST)	137,88	36,14	191,88	159,64	117,25	16,34	0,539
SGPT (ALT)	49,50	21,19	75,38	47,79	53,13	8,54	0,247
D.Bilirubin	0,06	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,001
T.Bilirubin	0,12	0,02	0,08	0,02	0,04	0,02	0,000
CRP	0,28	0,15	0,13	0,07	0,30	0,10	0,006
Plazma MDA	23,43	5,57	34,33	12,85	31,19	5,55	0,042
Doku MDA	35,32	11,23	31,70	8,21	30,93	9,33	0,720



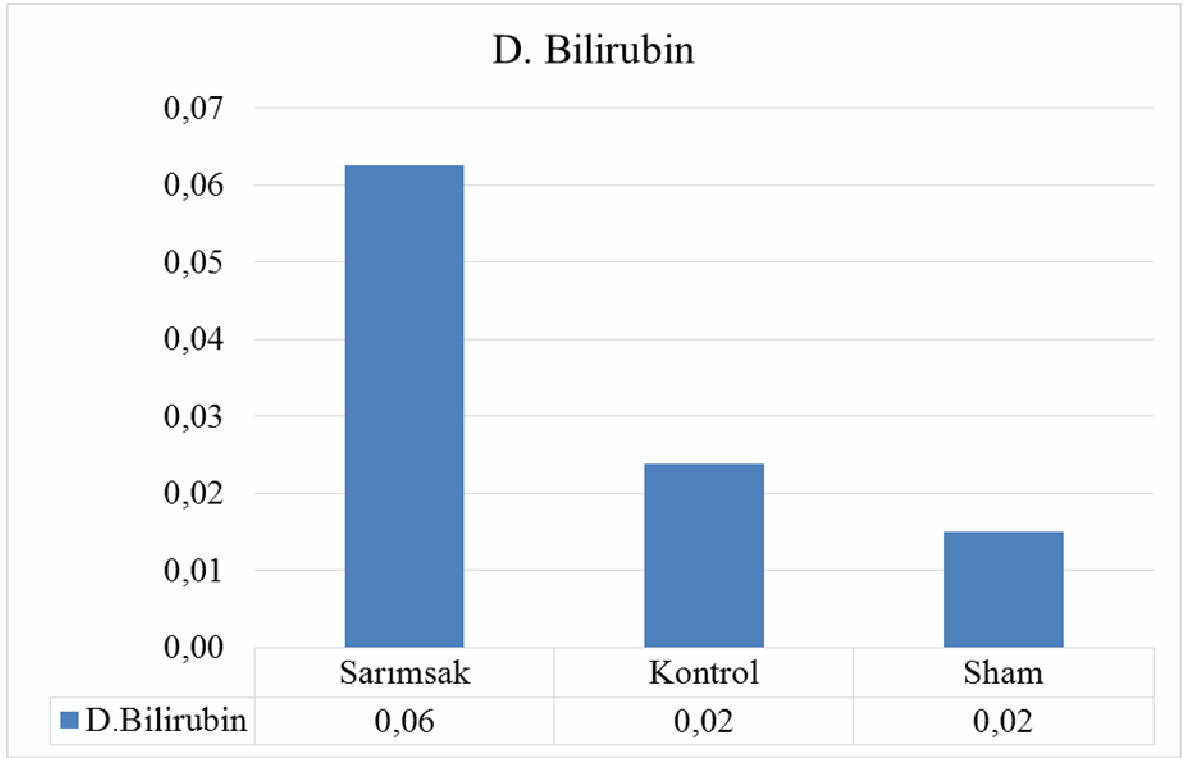
Grafik 11: Deney gruplarında SGOT (AST) Ölçüm Oranları

Sarımsak grubunda SGOT (AST) değeri ortalama 137,88 kontrol grubunda 191,88 Sham grubunda ise 117,25 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



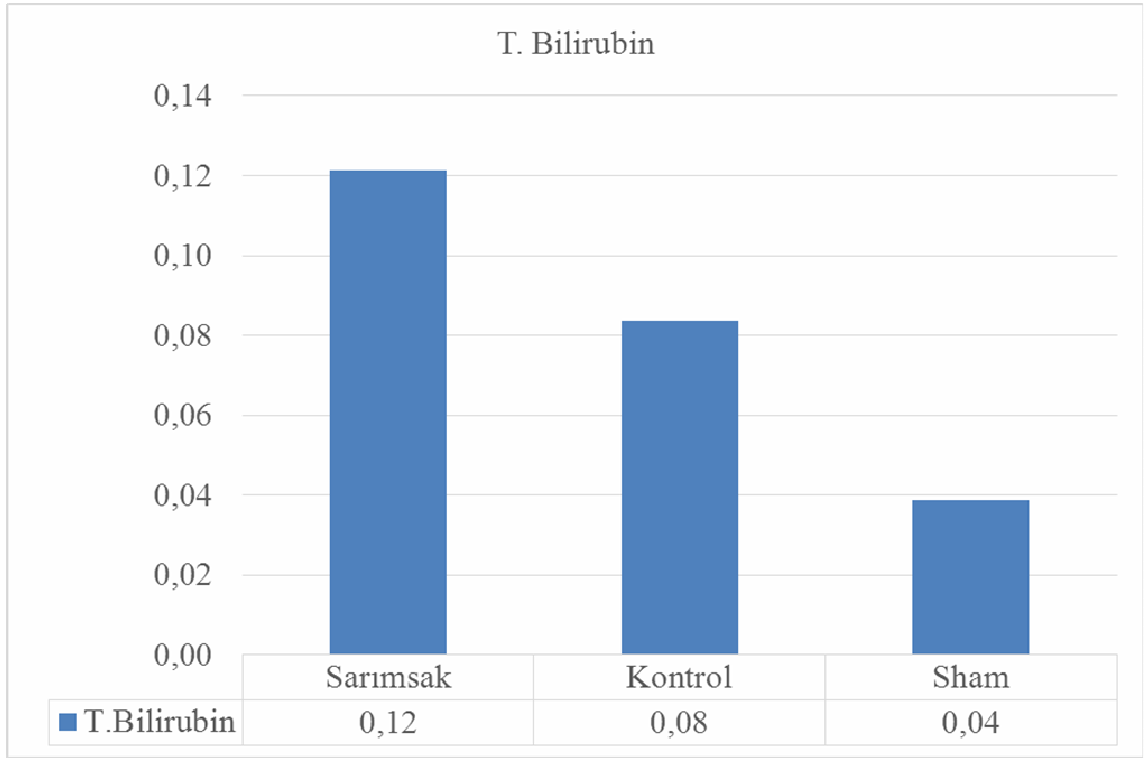
Grafik 12: Deney Gruplarında SGPT (ALT) Ölçüm Oranları

Sarımsak grubunda SGPT (ALT) değeri ortalama 49,50 kontrol grubunda 75,38 Sham grubunda ise 53,13 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



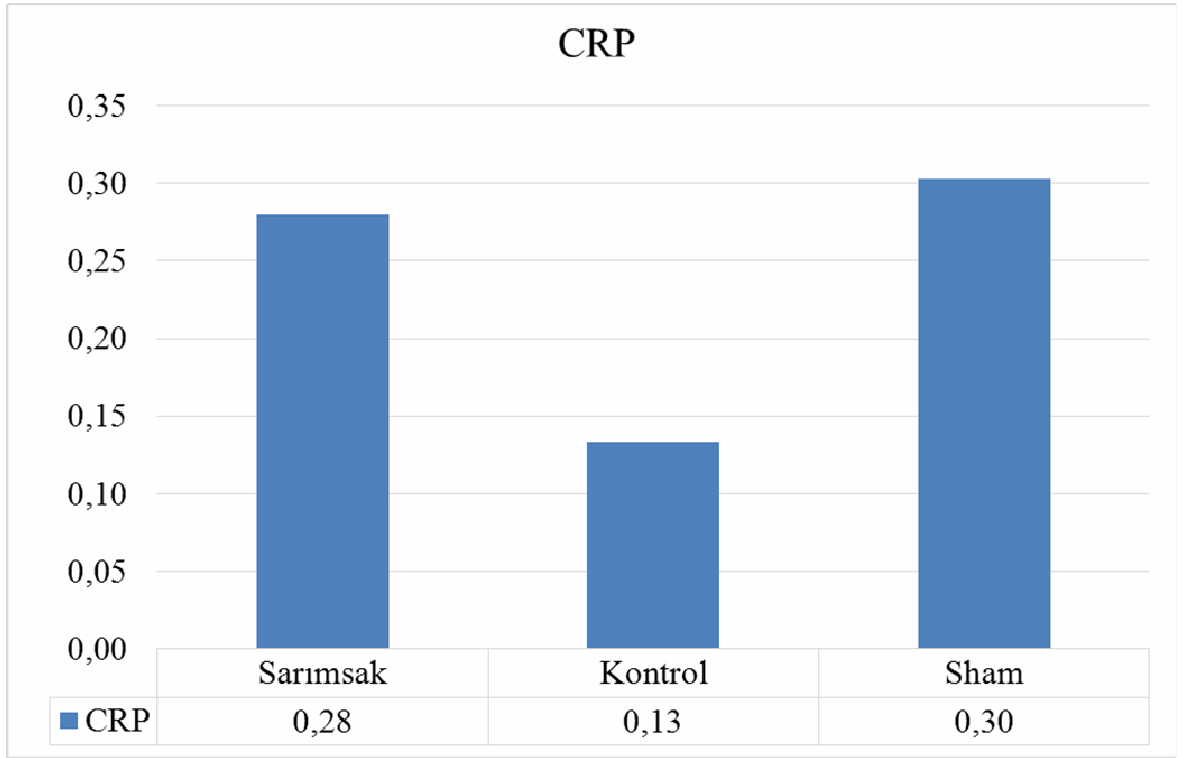
Grafik 13: Deney Gruplarında D. Bilirubin Ölçüm Oranları

Sarımsak grubunda D.Bilirubin değeri ortalama 0,06 kontrol grubunda 0,02 Sham grubunda ise 0,02 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da anlamlıdır.



Grafik 14: Deney Gruplarında T. bilirubin Ölçüm Oranları

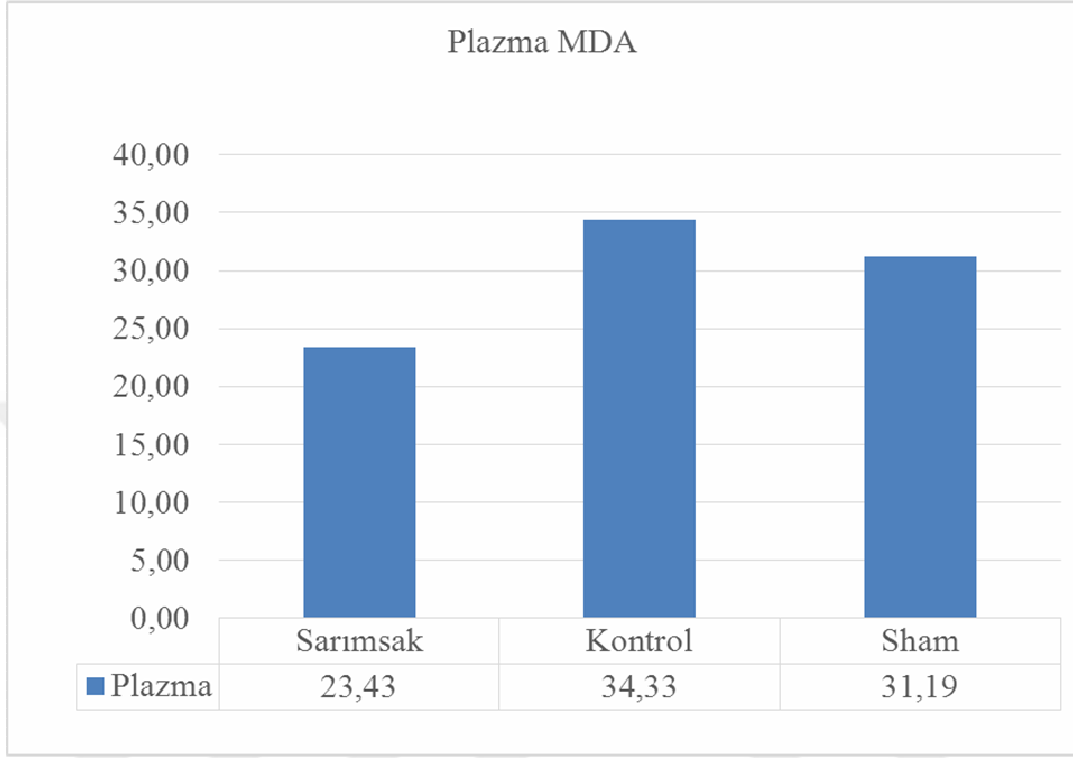
Sarımsak grubunda T.Bilirubin değeri ortalama 0,12 kontrol grubunda 0,08 Sham grubunda ise 0,04 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da anlamlıdır.



Grafik 15: Deney Gruplarında CRP Ölçüm Oranları

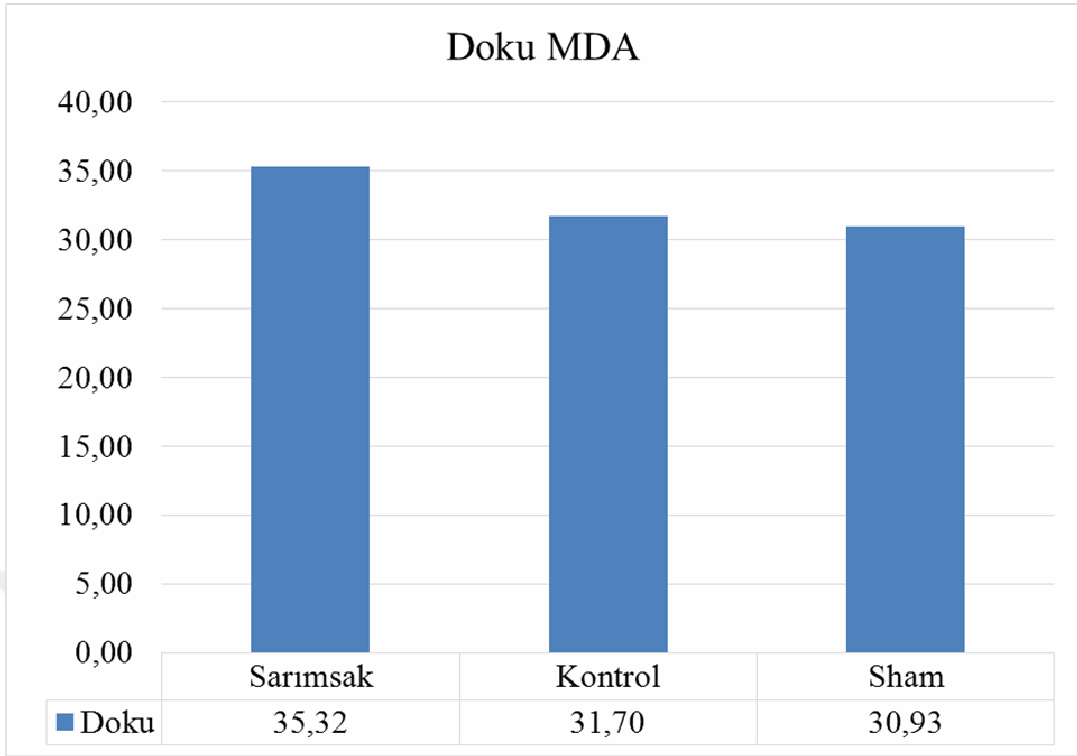
Sarımsak grubunda CRP değeri ortalama 0,28 kontrol grubunda 0,13 Sham grubunda ise 0,30 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da anlamlıdır.

4.3. MDA ANALİZİ



Grafik 16: Deney Gruplarında Plazma MDA (mikromol MDA/L) Ölçüm Oranları

Sarımsak grubunda Plazma MDA değeri ortalama 23,43 kontrol grubunda 34,33 Sham grubunda ise 31,19 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlıdır.



Grafik 17: Deney Gruplarında Doku MDA (nmol MDA/gram doku) Ölçüm Oranları

Sarımsak grubunda Doku MDA değeri ortalama 35,32 kontrol grubunda 31,70 Sham grubunda ise 30,93 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA

Sarımsak bitkisi Liliaceae (Zambakgiller) familyasındandır ve *Allium sativum* tür adı ile bilinir. Sarımsakta bulunan en önemli kimyasal bileşikler sülfür bileşikleridir. Bunlar aliin, allicin, thiosulfinatlar, gama-glutamylcysteine peptitleri ve çeşitli diğer sülfür bileşikleridir. Benzersiz bir tadı ve kokusu olan sarımsak(*Allivum sativum*) bitkisi, bazı tıbbi niteliklerinden dolayı yıllar boyunca önemli bir yiyecek olarak kullanılmıştır. Sarımsağın içindeki fitokimyasalların (bitkilerde doğal olarak bulunan biyolojik olarak aktif kimyasal bileşikler) bir çok fizyolojik olaya karşı potansiyel farmakolojik etkileri vardır. Bundan dolayı, sarımsağın kanseri ve kardiyovasküler hastalıkları önlediği düşünülerek, terapötik kullanımı yaygın olarak araştırılmıştır (77). Sarımsağa karakteristik lezzetini veren alkil sülfid bileşiğidir. Birçok deneysel kanser modelinde Allil sülfid bileşiklerinin hem tümörün oluşumunu hem de yayılımını önlediği gösterilmiştir (78). Ayrıca sarımsağın antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, immünstimülatör, antiagregan, kolesterol düzenleyici, re epitelizan, yara iyileştirici ve detoksifiye edici özellikleri iyi bilinmektedir.

Yaptığımız literatür araştırmasına göre deneysel hepatektomi modelinde sarımsak kullanımının hepatik rejenerasyon üzerine olan etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Bu çalışmada majör karaciğer rezeksiyonu sonrası sarımsak ekstraktlarının tüketilmesinin oksidatif hasar, karaciğer proliferasyonu ve rejenerasyonu üzerine olan rolü ve tedavideki etkisinin araştırılmasını amaçladık. Elde edilen bulgular doğrultusunda karaciğer hastalıkları, karaciğer transplantasyonu ve karaciğer rezeksiyonu sonrasında sarımsak özünün pratik kullanımı hakkında bilgi edinileceği düşünüldü.

Yüzde 70 hepatektomi modeli sonrası karaciğer rejenerasyonu hücre, doku ve organlarının rejenerasyonu için uygun bir modeldir (79). Yaptığımız deneysel çalışma sonuçlarına göre major hepatektomi sonrası sarımsak ile beslenen sıçanlarda kontrol ve sham grubuna oranla karaciğer rejenerasyon kapasitesinin anlamlı olarak yüksek

olduğunu saptadık. Bu durum sarımsağın diğer doku ve organlarda da benzer bir etkiye sahip olabileceğini düşündürüyor.

Yaptığımız çalışmada denek grupları ve rejenerasyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Kontrol grubunda da karaciğer dokusunda rejenerasyon görülmekle beraber, karaciğer dokusunda ileri düzeyde rejenerasyon görülen deneklerin tamamı sarımsak grubundadır (p :006).

Ayrıca, denek grupları ve Nükleer Pleomorfizm görülme durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. İleri seviyede Nükleer Pleomorfizm görülen tüm denekler sarımsak grubundan, Nükleer Pleomorfizm görülmeyenlerin tamamı Sham grubundadır (p:001). Kontrol grubunda yer alan deneklerde de nükleer pleomorfizm görülmekle beraber bu oran yüksek düzeyde değildir. Nükleer pleomorfizmin özellikle sarımsak grubunda yüksek olması, hepatektomi sonrası mitotik aktivitenin ve dolayısıyla karaciğer yenilenmesinin yüksek olması lehine yorumlandı.

Fibroblastlar, bağ dokusunun ana hücrelerindedir. Yara iyileşmesi sırasında lokal mezenkimal dokulardan farklılaşarak oluşurlar. Yara iyileşmesinin ilk 24 saatinde görülürler ve yaklaşık postop 10. günde baskın hale gelirler. Bağ dokunun ana maddesi olan ve yaraların iyileşmesinde işlevi olan kollajen adlı proteinin yapımından sorumlu hücrelerdendirler. Ayrıca fibroblastlar, glikoprotein, mukopolisakkarit ve diğer bir çok kontraktıl protein üreterek farklı hücre çeşitlerinin öncüllerine (osteoblastlar) dönüşebilirler (80). Yapılan deneysel çalışmalarda fibroblast büyüme faktörü(FGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü(VEGF) tarafından aktive olan proliferasyon ve anjiyogenezisin karaciğerin rejenerasyonu ve doku onarımı için hayati önemde olduğu bulunmuştur (81,82). Mehmet Uludağ ve ark. kolon anastomozu üzerine amniyotik membran ile yaptıkları deneysel çalışmada, yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını takip eden proliferasyon fazında fibroblast aktivitesinin ve yeniden damarlanmanın yarada kollajen ve mukopolisakkarid üretimini artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermişler ve bu durumun altıncı yada yedinci günde maksimum düzeye çıktığını belirtmişlerdir (83).

Bizim çalışmamızda denek grupları ve fibroblast aktivitesi durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Yoğun fibroblast aktivitesi görülenlerin tamamının sarımsak grubunda olduğu görülmüştür (p:0.001). Denek grupları ve sinusoid lümenlerinde kupffer hücre artışı ve dilatasyon, hiperemi durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılaşma tespit edilmiştir. Sinusoid lümenlerinde kupffer hücre artışı ve dilatasyon, hipereminin ileri düzeyde görüldüğü deneklerin tamamı sarımsak grubunda yer almıştır. Sham grubuna doğru bu durumda azalma söz konusudur. Yine denek grupları ve iltihabi hücre infiltrasyonu incelenmiş iltihabi hücre infiltrasyonunun sarımsak grubunda daha az olduğu fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bizim postop 7. Günde ulaştığımız bu sonuçlar sarımsağın fibroblastik aktiviteyi arttırarak kollajen sentezini indüklediği ve böylece sarımsak kullanımının yara iyileşmesi üzerine olumlu bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Nükleer bir antijen olan ve sadece proliferatif hücrelerde tespit edilen KI 67, en çok kullanılan proliferasyon belirteçidir. Yapılan detaylı çalışmalar KI67'nin hücre bölünmesinin G1, S ve G1-M safhalarında ekspres edildiğini, fakat G0 fazında hiç ekspres edilmediğini göstermiştir. HCC de KI67 ekspresyonunun tümör büyüme oranı ile yakın bir ilişkide olduğu ve hastalıklı sağkalım ve sürevinin bağımsız bir prognostik indikatörü olduğu bildirilmiştir (84).

KI 67 antikörünün prognostik olarak korelasyon gösterdiği durumlar arasında non hodgkin lenfoma, yumuşak doku sarkomları, santral sinir sistemi tümörleri (glioma, oligodendrio glioma, pineoblastoma, primer sinir sistemi lenfoması ve nörofibroma) ve meme kanseri sayılabilir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade hücredeki siklusun tüm büyüme evrelerinin (G0 hariç) sınıflandırılabilmesidir. Bu sınıflandırma, hücresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir.

Bu çalışmada da streptoavidin biotin boyama tekniği kullanılarak KI67 proliferasyon indeksine bakıldı. Sarımsak grubunda Ki67 proliferasyonu indeksi ortalama 0,30, kontrol grubunda 0,11, Sham grubunda ise 0,05 olarak tespit edildi. Sarımsak ekstresi ile beslenen deneklerde proliferasyon oranı diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da ileri

derecede anlamlıdır (p:0,000). Bu bulgular sarımsak kullanımının karaciğer rezeksiyonu sonrası hepatosit proliferasyonunu anlamlı olarak hızlandırdığını göstermektedir.

Çoğu oksidatif stres, serbest oksijen radikalleri üretir ve kontrolsüz lipid peroksidasyonuna neden olur. Serbest oksijen radikallerinden en yüksek oranda etkilenen bileşik lipidlerdir. Membranlarda bulunan fosfolipidlerdeki doymamış bağlar ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek, peroksidasyon ürünlerini meydana getirir. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir. Oluşan malondialdehit hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Ayrıca aktive nötrofillerin dolaşımından ayrılarak akut inflamasyonda doku hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipit mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur (85). MDA artışı dokularda lipit peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır (86).

Çalışmada sarımsak kullanımının karaciğer rezeksiyonuna bağlı oluşan doku hasarına ne gibi bir etkisi olduğunu anlamak amacıyla, hem karaciğerden alınan örnekten doku MDA seviyesi, hem de alınan kan örneklerinden plazma MDA seviyeleri ölçüldü. Lipit peroksidasyon belirteci olarak MDA derişimi Beuge ve Aust tarafından tanımlanan yöntemle göre analiz edildi. Hesaplanan sonuçlar doku için nmol MDA/gram doku olarak, plazma için mikromol MDA/L olarak ifade edildi.

Sarımsak grubunda Plazma MDA değeri ortalama 23,43, kontrol grubunda 34,33, Sham grubunda ise 31,19 olarak tespit edildi. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak da anlamlıdır (p:0,042). Sarımsak grubunda Doku MDA değeri ortalama 35,32 kontrol grubunda 31,70 Sham grubunda ise 30,93 olarak tespit edildi. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p:0,720).

Sarımsak ile beslenen deneklerde plazma MDA seviyesinin daha düşük olması, denekleri sarımsak ile beslemenin karaciğer rezeksiyonuna bağlı oluşan serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve buna bağlı olarak da doku hasarını anlamlı olarak azalttığını düşündürmektedir. Fakat bizim çalışmamızda eş zamanlı olarak ölçülen doku MDA seviyesi sarımsak grubunda diğer gruplara oranla daha yüksek ölçülmüştür. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber bizim beklediğimiz bir sonuç

değildir. Doku MDA seviyesinin de sarımsak kullanan grupta diğer gruplara oranla daha az olacağını tahmin ediyorduk. Sarımsak grubunda doku ve plazma MDA seviyelerinin farklı olması tarafımızca tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu durumun çeşitli sebepleri olabilir. Örneğin çalışma gruplarının ve denek sayılarının azlığı, cerrahi teknik, ölçüm yöntemleri, seçilen istatistik yöntemi, deneklere verilen sarımsak miktarı vb. sebepler sayılabilir.

CRP enflamatuvar reaksiyonlarda klasik akut faz proteindir. Karaciğer tarafından sentezlenir. CRP, akut fazda reaksiyon verenlerin en duyarlısıdır ve konsantrasyonu enflamatuvar süreçler sırasında hızla yükselir. CRP yanıtı sıklıkla ateş dahil olmak üzere klinik semptomlardan önce meydana gelir. Normal sağlıklı bireylerde CRP 5 mg/L (<47.6 nmol/L)'ye kadar bir aralıkta eser miktarda bir proteindir. Yapılan çalışmalarda CRP'nin karaciğer kanserinde ve kolanjiyo kanserlerde, hem erken postoperatif dönem, hem de uzun dönem prognoz ile ilişkili bir marker olduğunu göstermiştir (85,86). Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel bir fark olmakla beraber gruplarda CRP düzeyinde belirgin bir yükselme olmayıp normal laboratuvar değerleri içinde kalmıştır (tüm deneklerde <5 mg/L).

Transaminazlar hücre içindeki kimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Başlıca ALT kaynağı karaciğer olup, bu durum hepatik hastalıkların tanısı için ALT aktivitesinin ölçümüne yol açmıştır. Hepatit, siroz, obstrüktif sarılık, karaciğerde karsinoma ve kronik alkol bağımlılığında yükselmiş serum ALT değerleri bulunur. Hastalık süreçleri karaciğerde hücre bütünlüğünü etkilediğinde hem serum aspartat aminotransferaz (AST) hem de ALT yükselmesine rağmen, ALT karaciğere daha fazla spesifik olan enzimdir.

Aspartat aminotransferaz (AST) enzimi özellikle karaciğer, kalp, kas ve böbrek dokularında büyük ölçüde bulunur. Bu dokularla ilgili hastalıklarda serum seviyelerinin yükseldiği görülür. Her iki enzim de karaciğer hasarında yükselebilir ve karaciğer fonksiyonlarını yansıtan, karaciğer fonksiyon testleri olarak bilinirler (89-91).

Bizim çalışmamızda hepatektomi yapılan deneklerde sarımsağın karaciğer fonksiyonları üzerine olan etkilerinin anlaşılması amacıyla AST ve ALT ölçümü Roche Cobas c 701 cihazında Tris buffer yöntemiyle yapıldı.

Sarımsak grubunda SGPT (ALT) değeri ortalama 49,50 kontrol grubunda 75,38 Sham grubunda ise 53,13 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla beraber sarımsak grubunda ALT değerleri kontrol grubuna ve sham grubuna göre daha az yükselmiştir. Sarımsak grubunda SGOT (AST) değeri ortalama 137,88 kontrol grubunda 191,88 Sham grubunda ise 117,25 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılaşma da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır fakat yine sarımsak grubunda ölçülen AST değerleri kontrol grubuna oranla daha az yükselmiştir. Bulduğumuz bu sonuçlar hepatektomi sonrası sarımsak ile beslenen deneklerin yapılan işlemde daha az etkilendiğini, karaciğer fonksiyonlarının daha iyi olduğunu düşündürmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız deneysel çalışmada major hepatektomi sonrası sarımsak ile beslenen sıçanlarda kontrol ve sham grubuna oranla karaciğer rejenerasyon kapasitesinin anlamlı olarak yüksek olduğunu saptadık.

Sarımsak ile beslenen deneklerde Nükleer pleomorfizm ve hepatositlerde çift nükleus görülmesinin yüksek olması, hepatektomi sonrası mitotik aktivitenin ve dolayısıyla karaciğer yenilenmesinin yüksek olması lehine yorumlandı.

Sarımsak ekstresi ile beslenen deneklerde KI 67 proliferasyon oranı diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu bulgular sarımsak kullanımının karaciğer rezeksiyonu sonrası hepatosit proliferasyonunu arttırdığını göstermektedir.

Sarımsak ile beslenen deneklerde MDA seviyelerinin daha düşük olması, denekleri sarımsak ile beslemenin karaciğer rezeksiyonuna bağlı oluşan serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve buna bağlı olarak da doku hasarını azalttığını düşündürmektedir.

Deney sonucunda plazma AST ve ALT değerlerinin, sarımsak ekstresi ile beslenen deneklerde normal değerlere daha yakın olması, sarımsağın hepatosit fonksiyonları üzerine olumlu etkisini göstermektedir.

Sonuç olarak; sarımsak ekstresi ile beslenen sıçanlarda yapılan majör hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonunun ve proliferasyonunun olumlu olarak etkilendiği ve sarımsak ekstrelerinin denekleri hepatektomi sonrası oluşan oksidatif stresten koruduğu görüldü. Bu sonuçlardan yola çıkarak çeşitli nedenlerle karaciğer rezeksiyonu yapılması planlanan(HCC, karaciğer metastazları, kolanjiyo kanserler vb.) hastaların diyetlerine ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası dönemde sarımsak eklenmesinin faydalı olacağını söyleyebiliriz. Fakat sarımsak ekstrelerinin hangi dozda optimal etkiye sahip olduğu ve ameliyat gerektirmeyen karaciğer hastaları (toksik hepatit, viral hepatit, karaciğer yağlanması vb.) üzerinde nasıl bir etkisi olabileceği açıklığa kavuşturulması gereken diğer konulardır.

7. KAYNAKLAR

1. Borek C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J. Nutr.* 2001; 131:1010-1015.
2. Donald LM, Dale RR. Enhanced immunocompetence by garlic: Role in bladder cancer and other malignancies. *J. Nutr.* 2001;131: 1067–1070.
3. Guyonnet D, Belloir C, Suschetet M, Siess MH, Le Bon AM. Mechanisms of protection against aflatoxin B(1) genotoxicity in rats treated by organosulfur compounds from garlic. 2002; *Carcinogenesis*.23(8):1335-41.
4. Iimuro M, Shibata H, Kawamori T, Matsumoto T, Arakawa T, Sugimura T, Wakabayashi K. Suppressive effects of garlic extract on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Cancer Lett.* Dec 2001; 187(1-2): 61-8.
5. Hu X, Cao BN, Hu G, He J, Yang DQ, Wan YS. Attenuation of cell migration and induction of cell death by aged garlic extract in rat sarcoma cells. *Int J Mol Med.*2002; 9(6):641-643.
6. Tatara MR, Sliwa E, Dudek K, Gawron A, Piersiak T, Dobrowolski P, Mosiewicz J, Siwicki AK, Studzinski T. Aged garlic extract and allicin improve performance and gastrointestinal tract development of piglets reared in artificial sow. 2008; *Ann Agric Environ Med* 15: 63–69.
7. Borek C. Garlic reduces dementia and heart disease risk. *J. Nutr.* 2006; 136: 810–812.
8. Zhang XH, Lowe D, Giles P, Fell S, Connock MJ, Maslin DJ. Gender may affect the action of garlic oil on plasma cholesterol and glucose levels of normal subjects. *J. Nutr.* 2001; 131: 1471–1478.
9. Seki T, Hosono T, Fukao TH, Inada K, Tanaka R, Ogihara J, Ariga T. Anticancer effects of daily trisulfide derived from garlic. *J Clin Nutr* 2008;17 (S1):249-252.
10. Xiang L, Tan JW, Huang LJ, Jia L, Liu YQ, Zhao YQ, Wang K, Dong JH. Inhalation of hydrogen gas reduces liver injury during major hepatectomy in swine. *World J Gastroenterol* 2002; 18(37): 5197-5204.
11. Teke T, Maden E, Kiyııcı A, Korkmaz C, Gök M, Özer F, İmecik O, Uzun K. Cigarette smoke and bleomycin-induced pulmonary oxidative stress in rats. *Exp and Therapeutic Med.* 2012; 4: 121-124.

12. Singh DK, Porter TD. Significance of garlic and its constituents in cancer and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 2006; 136: 759S–764S.
13. Kim SG, Choi SH. Gadolinium chloride inhibition of rat hepatic microsomal epoxidehydrolase and glutathione s- transferase gene expression. *Drug Metabolism and Disposition.* 1997; 25: -1416–1423.
14. Perek S, Kapan S, Ed: Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y. *Cerrahi Gastroenteroloji.* s.194-208. 5. Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2000.
15. Ratych RE, Smith GW. Anatomy and physiology of the liver. GD Zuidema. (Ed). *Shackelford's Surgery Of The Alimentary Tract.* Fourth ed. Philadelphia: Saunders,1996: Vol.3;357-73.
16. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:30-9.
17. Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. *World J Surg* 1982;6:10-17.
18. Akgül H, Kaya S. Karaciğer. *Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi.* 2. Baskı. Ankara. Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1985:533-537.
19. Ethier C, Kestekian R, Christine B, Dube C. Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in the rat. *Endocrinology* 1990;126: 2947-2959.
20. Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA, et al. A hundred years of the hepatotrophic controversy. *Ciba Found Symp* 1977;111-129.
21. Fausto N, Webber EM. Liver regeneration. In:Arias I, Boyer J, Fausto N, et al. eds. *The liver:biology and pathobiology.* New York: Raven Pres; 1994:1059-1084.
22. Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, Brems JJ. Hepatic resections. *Arch Surg* 2000;135:1353-1358.
23. Higgins GM and Anderson RM. Experimental pathology of the liver - restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1931; 7: 187-202.
24. Hamanoue M, Kawaida K, Takao S et al. Rapid and marked induction of hepatocyte growth factor during liver regeneration after ischemic or crush injury. *Hepatology* 1992; 16:1485-92.
25. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y et al. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:30-9.
26. Wheatley J, Rosenfield NS, Berger L et al. Liver regeneration in children after major hepatectomy for malignancy. *J Surg Res* 1996;61:183-189.

27. Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992;15:149-55.
28. Lindroos PM, Zornegor R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (Hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* 1991;13:743-50.
29. Nishizaki T, Takenaka K, Yoshizumi T et al. Alteration in levels of human hepatocyte growth factor following hepatectomy. *J Am Coll Surg* 1995;181:6-10.
30. Kinoshita T, Tashiro K, Nakamura T. Marked increase of HGF mRNA in nonparenchymal liver cells of rats treated with hepatotoxins. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165:1229-34.
31. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanism of growth control. *FASEB J* 1990;4:176-87.
32. Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* 1997;276:60-66.
33. Noguchi S, Ohba Y, Oka T. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Endocrinol* 1991;128:425-31.
34. Hashimoto M, Kothary BC, Raper S. The effects of transforming growth factor alpha and somatostatin on regenerating hepatocytes in the rat. *Regulatory peptides* 1993;44:49-59.
35. Strazl TE, Porter KA, Kashiwagi N et al. Portal hepatotrophic factors, diabetes mellitus and acute liver atrophy, hypertrophy and regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1975;141:843-58.
36. Francavilla A, Polimeno L, Barone M et al. Hepatic regeneration and growth factors. *J Surg Oncol* 1993;13:1-7.
37. Ekberg S, Luther M, Nakamura T et al. Growth hormone promotes early initiation of hepatocyte growth factor gene expression in the liver of hypophysectomised rats after partial hepatectomy. *J Endocrinol* 1992;135:59-67.
38. Gerdes J, Lemke H, Barsch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunology* 1984;133(4): 1710-1715.
39. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a Mouse monoclonal antibody reactive with a human antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983;31:13-20.
40. La Brecque DL, Feigenbawn A, Bachur NR. Diurnal rhythm: Effects on hepatic regeneration and hepatic regenerative stimulator substance. *Science* 1978;199:1082-1084.

41. Maruyama H, Harada A, Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T, Nakao A. Duration of liver ischemia and hepatic regeneration after hepatectomy in rats. *J Surg Res* 1995; 58:290-294.
42. Chijiwa K, Nakano K, Kameoka N, Nagai E, Tanaka M. Proliferating cell nuclear antigen, plasma fibronectin, and liver regeneration rate after seventy percent hepatectomy in normal and cirrhotic rats. *Surgery* 1994; 116:544-549.
43. Kamel OW, Franklin WA, Ringus, Meyer JS. Thymidine labeling index and Ki-67 growth fraction in lesions of the breast. *Am J Pathol* 1989;134(1):107-113.
44. Hopf NJ, Brem J, Bohl J, Perneczky A. Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system:an immunohistological study with the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1994; 35(5): 917-923.
45. Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R, Dieterich H, Feichter GE. MIB-1 (Ki-67) immunostaining cancer cells in cytologic smears. *Acta Cytol* 1997;41(2): 229- 237.
46. Batman F, Aydınli M, Sayek İ. Karaciğer Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi. *Temel Cerrahi*. 2004;1295-1301.
47. Chalmers- Redman R, Franser A.D, Ju W. Mechanisms of nerve cell death: Apoptosis or necrosis after cerebral ischemia, Neuroprotective agents and cerebral ischemia. *Academia Press Lmt*. 2-25, 1997.
48. Clarke, P.G. Developmental cell death: Morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat. Embryol*. 181: 195-213, 1990.
49. Hwang WYK, Koh LP, Ng HJ, Tan PHC, Chuah CTH, Fook SC, Chow H, Tan KW. A randomized trial of amifostine as a cytoprotectant for patients receiving myeloablative therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Hepatology*. 1986; 5: 388-395.
50. Nagano T, Yamamoto K, Matsumoto S, Okamoto R, Tagashira M, Ibuki N, Matsumura MK, Yabushita K, Okano N, Tsuji T. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol*. 1999; 19: 422-427.
51. Majno G. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am. J. Pathol*. 1995; 146: 3-15.
52. Patel T, Gores GJ. Apoptosis and hepatobiliary disease. *Hepatology*. 1995; 21: 1725-1741.
53. Hwang WYK, Koh LP, Ng HJ, Tan PHC, Chuah CTH, Fook SC, Chow H, Tan KW. A randomized trial of amifostine as a cytoprotectant for patients receiving myeloablative therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Hepatology*. 1986; 5: 388-395.

54. Nagano T, Yamamoto K, Matsumoto S, Okamoto R, Tagashira M, Ibuki N, Matsumura MK, Yabushita K, Okano N, Tsuji T. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol.* 1999; 19: 422-427.
55. Preisler HD, Li B, Yang R. Suppression of telomerase activity and cytokine Messenger RNA levels, in acute myelogenous leukemia cell in vivo in patients by amifostine and interleukin 4. *J Clin Invest.* 2001; 101:746-754.
56. Rust C, Gores GJ. Apoptosis and liver disease. *Am J Med.* 2000; 108: 567-574.
57. Zvi Symon, M.D, Micha Levi, M. Sc., William D. Ensminger, M. D., Selective Radioprotection Of Hepatocytes By Systemic And Portal Vein Infusions Of Amifostine In A Liver Tumor Model. *Virchows Arch.* 1997; 431: 119-124.
58. Strasser A. DNA damage can induce apoptosis in proliferating lymphoid cells via p53- independent mechanisms inhibitable by Bcl-2. *Cell.* 1994; 79: 189-192.
59. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and the treatment of disease. *Science.* 1995; 267:1456-62.
60. Tsuyama H, Shimizu K, Yoshimoto K, Nezuka H, Ito H, Yamamoto S, Hasebe K. Protective Effect of Ischemic Preconditioning on Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Mice: Transplantation Proceedings. 2000; 32: 2310-2313.
61. Micha L, James A, William D, Susan J, Chunzhi D, Susan M, Heather S, Leslie M. Regional Pharmacokinetics Of Amifostine in Anesthetized Dogs: Role Of The Liver, Gastrointestinal Tract, Lungs, And Kidneys. *Anti- cancer Drugs.* 2002; 13: 181-209.
62. Gavrielli Y. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell. Biol.* 1992; 119: 493-501.
63. Gold R. Differentiation between cellular apoptosis and necrosis by combined use of insitu tailing and nick translation techniques. *Lab. Invest.* 1994; 71: 219-225.
64. Loo DT, Rillema JR. Measurement Of Cell Death. *Methods Cell Biol.* 1998; 31: 1-9.
65. Careceni P, Rosenbloom E.R., Van Thiel D. H., Reoxygenation Injury in Isolated Rat Hepatocytes: Relation to Oxygen Free Radicals and Lipid Peroxidation *Am J. Physiol.* 1994; 266-806.
66. Foschi D, Castoldi L., Lesma A., Musazzi M., Effects of Ischemia and Reperfusion on Liver Regeneration in Rats. *Eur J Surg.* 1993; 159:393-398.
67. Niki E. Antioxidant in Relation to Lipid Peroxidation. *Chem. Phys Lipids.* 1987; 44, 227-253.

68. Sherwin JE. Liver function. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation*. St. Louis: Mosby 1984; 420-438.
69. Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987;346-421.
70. McPherson RA, Pincus MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods*. 21st ed. Saunders Elsevier, 2007;1405.
71. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem* 1937;119:481-490.
72. Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. *Pathology* 1991; 23: 118-124.
73. Wasunna A, Whitelaw A, Gallimore R et al. C-reactive protein and bacterial infection in preterm infants. *Eur J Pediatr* 1990;149:424-427.
74. Mackenzie I, Woodhouse J. C-reactive protein concentrations during bacteraemia: a comparison between patients with and without liverdysfunction. *Intensive Care Medicine* 2006;32: 1344-1351.
75. Eda S, Kaufmann J, Roos W et al. Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamicrange. *J Clin Lab Anal* 1998;12:137-144.
76. Buege JA, Aust SD. Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52: 303-310.
77. Taiichiro S, Takashi H, Tomomi HF, Kahoru I, Rie T, Anticancer effects of diallyl trisulfide derived from garlic *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17 (S1):249-252.
78. Ariga T, Seki T. Antithrombotic and anticancer effects of garlic-derived sulfur compounds: a review. *Biofactors.* 2006; 26:93-103.
79. Aguiar LRF, Nassif Pan, Liver Regeneration After Partial Hepatectomy in Rats Submitted to post - Hepatic Portal Hypertension *abcd Arq Bras Cir Dig* 2011;24(2):144-151.
80. Doillon CJ, Dunn MG, Bender E, Silver FH Collagen fiber formation in repair tissue: development of strength and toughness. *Coll Relat Res.* 1985;5(6):481.
81. Bönninghoff R, Schwenke K, Keese M, Effect of different liver resection methods on liver damage and regeneration factors VEGF and FGF-2 in mice. *Can J Surg.* 2012 ;55(6):389-93.
82. Sun YL, Yin SY, Zhou L, Hepatocyte differentiation of human fibroblasts from cirrhotic liver in vitro and in vivo. *Hepatobiliary Pancreat Dis. Int.* 2011;10:55-63.

83. Uludag M, Citgez B, Yetkin G, Polat N, Isgör A, Effects of amniotic membrane on the healing of normal and high-risk colonic anastomoses in rats *Int J Colorectal Dis* 2009; 24:809–817.
84. Stroescu C, Dragnea A, Ivanov B, Pechianu C, Herlea V, Sgarbura O Expression of p53, Bcl-2, VEGF, Ki67 and PCNA and Prognostic Significance in Hepatocellular Carcinoma *J Gastrointestin Liver Dis* 2008; (17) 4: 411-417.
85. Drapper H., Hadley M., Malondialdehyde determination as index of lipit peroxidation. *Methods, Enzymol* 1990;186; 421.
86. Millar AD, Rampton DS, Chander CL. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996; 39(3):407–415.
87. Morris-Stiff G, Gomez D, Prasad KR. C-reactive protein in liver cancer surgery. *Eur J Surg Oncol.* 2008;34 (7):727-9.
88. Chun JM, Kwon HJ, Sohn J, Kim SG, Park JY, Bae HI, Yun YK, Hwang YJ. Prognostic factors after early recurrence in patients who underwent curative resection for hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol.* 2011;103(2):148-51.
89. Salomão LS, Young SB, Galhardo MA, Pereira LA, Pires AR, Boaventura GT, Ferreira AM, Martinho JM. Evaluation of liver regeneration by modulation with ischemic preconditioning after ischemia and reperfusion and partial hepatectomy. *Rev Col Bras Cir.* 2012; 39(3):211-5.
90. Jin LM, Jin SF, Zheng SS. Ischemic preconditioning enhances hepatocyte proliferation in the early phase after ischemia under hemi-hepatectomy in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2012;11(5):521-6.
91. Teixeira AR, Machado MC, D'Albuquerque LA. A new experimental model for acute hepatic failure in rats. *Acta Cir Bras.* 2010;25(3):269-74.

8. EKLER

8.1. EK 1- HADYEK UYGUNLUK BELGESİ



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012 155

01/11/2012

Sr: Doç.Dr. Adem AKÇAKAYA
SB Şişli Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi

Karar No :2012 155
Basuru :18.10.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen "Deneysel Hepatektomi Modelinde Sarımsak (Allivum Sativum) Kullanımının Karaciğer Rejenerasyonu ve Oksidatif Hasar Üzerine Olan Etkileri" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	24
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	Kasım/2012-Aralık 2012	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIK
İ.Ü.HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç.Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Mak.Yük.Müh. Yard.Doç.Dr.Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye