



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KOCAELİ DERİNCE SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA
MERKEZİ**

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**Y ÖZDE YETMİş PARşİYEL HEPATEKTOMİ YAPILAN
RATLARDA KALSİYUM DOBESİLATIN KARACİĞER
REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Gizem Fırtına

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KOCAELİ/2020



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
KOCAELİ DERİNCE SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA
MERKEZİ**

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**YÜZDE YETMİŞ PARSİYEL HEPATEKTOMİ YAPILAN
RATLARDA KALSİYUM DOBESİLATIN KARACİĞER
REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Gizem Fırtına

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Hamdi Taner Turgut

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KOCAELİ/2020

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile yetişmemde büyük emeği geçen, bana her konuda destek olan değerli hocam sayın Doç. Dr. S.Yiğit YILDIZ'a,

Tezimin hazırlanması aşamasında bilgisini, zamanını ve desteğini esirgemeyen başta tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hamdi Taner TURGUT olmak üzere, Uzm. Dr. Adem YÜKSEL, Uzm. Dr. Murat COŞKUN, Uzm. Dr. Abdullah GÜNEŞ'e; Ayrıca Sakarya Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı'nın tüm imkanlarını önümüze sermekten çekinmeyen başta Vet. Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ÇAKIROĞLU olmak üzere tüm çalışanlarına, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.B.D. Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK'a, Ege Üniversitesi Biyoistatistik A. B. D. Arş. Gör. Ömer Faruk DADAŞ'a,

Genel Cerrahi eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini paylaşarak üzerimde büyük emekleri olan değerli uzmanlarım Uzm. Dr. M. Burç Yazıcıoğlu, Dr. Öğr. Üyesi Ali ÇİFTÇİ, Uzm. Dr. Mehmet ASLAN'a,

Berber çalıştığım başta Dr.Tuğbay ŞAFAK olmak üzere tüm asistan arkadaşlarım ve özellikle kıdemlilerim Uzm. Dr. Musa İLGÖZ ve Uzm. Dr. Özkan SUBAŞI'ya; Gece gündüz demeden özveriyle çalışan, ikinci ailem olan tüm servis, ameliyatane hemşire ve personellerine,

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım, hekimlik mesleğini hakkıyla icra eden başta Uzm. Dr. Hakan ÖZEROL, Uzm. Dr. Kemine UZEL, Uzm. Dr. N. Doğuş UZUN, Dr. Ali Alparslan UYAR, Dr. Ali Ulvi ÖLÇ olmak üzere adını sayamadığım tüm asistan ve mezun uzman arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, eğitimim süresince benden fazla özveride bulunan, destekleriyle, varlıklarıyla yoluma ışık olan canımdan öte aileme canıgönülden teşekkür ederim.

Dr. Gizem Fırtına

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Karaciğer tüm sistemleri ilgilendiren önemli metabolik fonksiyonları olan bir organdır. Parsiyel hepatektomi(PH), karaciğerin primer ve sekonder tümörlerinin tedavisinde ayrıca canlı vericili karaciğer transplantasyonunda yaygın olarak uygulanmaktadır. Rezeksiyon sonrası karaciğer yetmezliği insidansı %0-32 arasında değişmektedir. Prosedüre bağlı mortalitede ana nedenlerden biri, postoperatif karaciğer yetmezliğidir(%18-75). PH sonrası karaciğer rejenerasyonu, inflamatuvar sinyal moleküllerinin aktivasyonu ve oksidatif stresin indüklenmesi ile ilişkilidir. Rejenerasyona destek mekanizmalarından biri de antioksidan savunma sistemleridir. Daha önce antioksidan özellikleri olan ajanlarla yapılan çalışmalarda hepatik rezeksiyon sonrası karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkılarının olduğu bildirilmiştir. Anjioprotektif ve antioksidan etkili kalsiyum dobesilatın(KD), karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkileri olabileceği düşünüldü. Bildiğimiz kadarıyla KD'nin hepatektomi sonrası rejeneratif kapasite üzerine etkileri hakkında yapılmış bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, PH sonrası KD'nin karaciğer rejenerasyon kapasitesi ve antioksidan yol üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmada ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen, 36 adet Spraque Dawley erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar randomize olarak her biri 9 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu: PH + Salin(2 gün)

Grup 2: Kontrol grubu: PH + Salin(7 gün)

Grup 3: Çalışma grubu: PH + KD(100mg/kg/gün) (2gün)

Grup 4: Çalışma grubu: PH + KD(100mg/kg/gün) (7gün)

Parsiyel hepatektomi sonrası çıkarılan karaciğer ağırlıkları tartılarak kaydedildi. Belirtilen günlerin sonunda relaparotomi uygulandı, abdominal aortadan biyokimyasal inceleme için kan alındıktan sonra sıçanlar sakrifiye edildi. Remnant karaciğer dokuları

tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Oksidatif hasar ve karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmek için biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemler kullanıldı.

BULGULAR: Serum süperoksit dismutaz(SOD) düzeyi kontrol grupları(2. ve 7.gün) arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu(Sırasıyla $3,69 \pm 0,48$ vs $4,75 \pm 2,75$; $p:0,13$). Tedavi ve çalışma grupları karşılaştırıldığında hem 2 hem de 7 gün KD verilen gruplarda serum SOD düzeyi düşük ölçülmesine rağmen aradaki fark istatistiksel anlamlı değildi($p:0,50$). Karaciğer doku SOD düzeyi ölçümünde kontrol grupları(2. ve 7.gün) arasında istatistiksel anlamlı farklılık vardı.(Sırasıyla $2,20 \pm 0,59$ vs $1,20 \pm 0,30$; $p:0,001$). Tedavi verilen(2. ve 7.gün KD) gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı farklılık olacak şekilde doku SOD düzeyi daha yüksekti($p:0,03$). Serum glutatyon(GSH) düzeyi açısından kontrol, tedavi grupları ve bu grupların birbirleriyle karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı(sırasıyla $p:0,14$ vs $0,66$). Karaciğer doku GSH değeri kontrol gruplarında ve bu grupların çalışma gruplarıyla karşılaştırılmasında tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit(MDA) düzeyinin serumdaki ölçümlerinde kontrol grupları arasında istatistiksel farklılık yoktu($p:0,73$). KD verilen gruplarda kontrol gruplarına göre gündən bağımsız olarak serum MDA düzeyi daha düşük saptandı. Ancak aradaki fark istatistiksel anlamlı değildi($p:0,22$). Doku MDA düzeyinin kontrol gruplarında 2.günden 7.güne azaldığı gösterildi($p:0,001$). Hem 2.gün hem de 7.günde çalışma gruplarında kontrol gruplarına göre MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olmak üzere yüksekti($p:0,001$)

Kontrol grupları arasında 7.günde rejenerasyon oranı(RO) daha yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel anlamlı değildi($p:0,66$). 2.günde KD verilen grupta kontrol grubuna göre RO yüksek ve istatistiksel olarak da bu farklılık anlamlı saptandı($p<0,001$). 7.gündeki çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında yine KD tedavisi verilen grupta kontrol grubuna göre yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark saptanmadı($p:0,667$). RO, KD verilen 2.gün grubunda 7.gün grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek bulundu($p<0,001$).

Histopatolojik değişiklikler Suzuki Skorum Sistemi'ne göre derecelendirildiğinde; sinüzoidal konjesyon çalışma gruplarında yok(%56,5) veya hafif(%44,4), kontrol gruplarında ise orta(%50) veya şiddetli(%50) düzeyde gözlemlendi($p<0,001$). KD verilen gruplarda vakuolizasyon ve nekroz hiç gözlenmedi(Sırasıyla $<0,001$ vs $0,034$).

Apopitotik indeks(Aİ), kontrol gruplarında çalışma gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksekti($p<0,001$). Kontrol grupları arasında Aİ için 2. ve 7.günde anlamlı farklılık saptanmazken($p:0,667$), çalışma grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde 7.günde Aİ istatistiksel anlamlı olmak üzere daha düşük bulundu($p:0,006$).

Proliferasyonu değerlendirmek için kullanılan Ki67 ekspresyonu hem 2.günde hem de 7.günde KD tedavisi verilen gruplarda verilmeyen gruplara göre; tedavi alan gruplarda ise 7.günde 2.güne göre istatistiksel anlamlı yüksekti($p:0,006$).

SONUÇ: PH'de KD verilmesi ile artan doku SOD düzeyi, bu tedavinin kısmen antioksidan sisteme destek verdiğini göstermektedir. Ancak çalışmamızda oksidatif hasarı değerlendirmede kullanılan diğer parametrelerin(GSH,MDA) doku ve serum düzeyinin, antioksidan maddelerle elde edilen bilinen sonuçlara göre kısmen zıt olduğu görülmüştür. Bu farklı bulguların nedeni çalışmamızda ortaya konulamamıştır. Gruplar arası RO farkının KD'dan kaynaklandığı ve KD'nin karaciğer rejenerasyonuna katkısı olduğunu düşündürmektedir. Işık mikroskopisi altında histopatolojik incelemede sinüzoidal konjesyonun ve vakuolizasyonun KD tedavisi ile azaldığı, KD tedavisinin PH sonrası karaciğerin daha normal histolojiyle rejenerasyonunda faydalı olabileceğini ve karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini desteklemektedir. KD'nin, PH sonrası meydana gelen apopitoz eğilimini baskılamada etkin olduğu ve böylece rejenerasyona belirgin katkısı olduğu görülmüştür. KD tedavisi ile Ki67 ekspresyonu artmaktadır. Bu nedenle KD; doku onarımını, hücre proliferasyonunu arttırmakta ve rejenerasyonu desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum dobesilat, karaciğer rejenerasyonu, oksidatif hasar, parsiyel hepatektomi, deneysel.

ABSTRACT

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: The liver is an organ with important metabolic functions that involve all systems. Partial hepatectomy (PH) is widely used for the treatment of primary and secondary tumors of the liver, as well as living-donor liver transplantations. The incidence of liver failure after resection ranges between 0-32%. One of the main causes of procedural mortality is postoperative liver failure (18-75%). Liver regeneration after PH is associated with activation of inflammatory signaling molecules and induction of oxidative stress. One of the support mechanisms for regeneration is antioxidant defense systems. Studies on agents that previously had antioxidant properties have reported that they positively contribute to liver regeneration after hepatic resection. Angioprotective and antioxidant calcium dobesilate (Cd) have been thought to have positive effects on liver regeneration. To the best of our knowledge, there is no study on the effects of Cd on regenerative capacity after hepatectomy. In our study, we aimed to evaluate the effects of Cd on liver regeneration capacity and antioxidant pathway after PH.

MATERIALS AND METHODS: The study employed 36 Sprague Dawley male rats weighing between 250-350 grams. The rats were randomly divided into 4 groups of 9 rats each.

Group 1: Control group: PH + Saline (2 days)

Group 2: Control group: PH + Saline (7 days)

Group 3: Study group: PH + Cd (100mg/kg/day) (2 days)

Group 4: Study group: PH + Cd (100mg/kg/day) (7 days)

The liver weights removed after partial hepatectomy were weighed and recorded. Relaparotomy was performed at the end of the specified days and the rats were sacrificed after blood was collected from the abdominal aorta for biochemical analysis. The remnant liver tissues were weighed and recorded. Biochemical, histopathological and immunohistochemical methods were used to evaluate oxidative damage and liver regeneration.

RESULTS: There was no statistically significant difference between the serum superoxide dismutase (SOD) levels of the control groups (2nd and 7th days) (3.69 ± 0.48 vs 4.75 ± 2.75 , $p = 0.13$, respectively). When the treatment and study groups were compared, the difference was not statistically significant although the serum SOD level was low in the Cd groups on both 2 and 7 days ($p = 0.50$). There was a statistically significant difference between the control groups (2nd and 7th days) in the measurement of liver tissue SOD levels. (2.20 ± 0.59 vs 1.20 ± 0.30 respectively; $p = 0.001$). The tissue SOD level was statistically significantly higher in the treatment groups (2nd and 7th day Cd) compared to the control groups ($p = 0.03$). In terms of serum glutathione (GSH) level, there was no statistically significant difference between the control groups and the treatment groups, and in the comparison of these groups with each other ($p = 0.14$ vs. 0.66 , respectively). There was no statistically significant difference in liver tissue GSH value between the control groups and in the comparison of these groups with the study groups. There was no statistical difference between the control groups in the measurements of malondialdehyde (MDA) level, which is an indicator of lipid peroxidation ($p = 0.73$). The serum MDA levels were lower in the Cd groups than in the control groups, regardless of the day. However, the difference was not statistically significant ($p = 0.22$). The tissue MDA level was shown to decrease in the control groups from the 2nd day to the 7th day ($p = 0.001$). On both the 2nd and 7th days, the MDA level was statistically significantly higher in the study groups compared to the control groups ($p = 0.001$).

Although the regeneration rate (RR) was higher on the 7th day among the control groups, the difference was not statistically significant ($p = 0.66$). On the 2nd day, the RR was higher in the Cd group compared to the control group, and the difference was statistically significant ($p < 0.001$). When the study and control groups were compared on the 7th day, the RR was higher in the Cd group than in the control group, although the difference was not statistically significant ($p = 0.667$). The RR was statistically significantly higher in the 2nd day Cd group than in the 7th day group ($p < 0.001$).

When histopathological changes were graded by the Suzuki Scoring System, the study groups (56.5%) had no sinusoidal congestion or had mild sinusoidal congestion (44.4%), while the control groups had moderate (50%) or severe (50%) sinusoidal congestion ($p < 0.001$). Vacuolization and necrosis were not observed in the Cd groups (<0.001 vs. 0.034 , respectively).

The apoptotic index (AI), was significantly higher in the control groups compared to the study groups ($p < 0.001$). Although there was no significant difference between the control groups for AI on the 2nd and 7th days ($p = 0.667$), when the study groups were evaluated among themselves, the AI was statistically significantly lower on the 7th day ($p = 0.006$).

The Ki-67 expression, which is used to evaluate proliferation, was statistically significantly higher in both the 2nd and 7th day groups compared to the non-Cd groups, and was also higher on the 7th day compared to the 2nd day in the Cd groups ($p = 0.006$).

CONCLUSION: The increased tissue SOD level with the administration of Cd in PH indicates that this treatment partially supports the antioxidant system. However, in our study, it was observed that the tissue and serum levels of other parameters (GSH, MDA) used for evaluating oxidative stress were partially contrary to the known results obtained with antioxidant substances. The reason for these different results could not be revealed in our study. This suggests that the RR difference between the groups is due to Cd and that Cd contributes to liver regeneration. Decreased sinusoidal congestion and vacuolization with Cd treatment on the histopathological examination under light microscopy supports that Cd treatment may be beneficial for the regeneration of the liver to normal histology after PH and may have a protective effect on liver tissue. It was found that Cd was effective in suppressing the tendency to apoptosis after PH, thus significantly contributing to regeneration. The expression of Ki-67 increases with Cd treatment. Therefore, Cd increases tissue repair, cell proliferation and promotes regeneration.

Keywords: Calcium dobesilate, liver regeneration, oxidative damage, partial hepatectomy, experimental.

SİMGE VE KISALTMALAR

| | |
|-------|---|
| AP-1 | Aktivatör protein 1 |
| Aİ | Apopitotik indeks |
| C/EBP | CCAAT/enhancer-bağlayıcı proteinler |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| EGF | Epidermal büyüme faktörü |
| ESM | Ekstrasellüler matriks |
| FGF | Fibroblast Büyüme Faktörü |
| GSH | Glutasyon |
| HE | Hemotoksilen-Eozin |
| HGF | Hepatosit büyüme faktörü |
| HPH | Hepatosit progenitör hücre |
| IHPBA | Uluslararası Hepatopankreatobiliyer Derneği |
| IL-1 | İnterlökin 1 |
| IL-6 | İnterlökin 6 |
| İ/R | İskemi/Reperfüzyon |
| İMV | İnferior Mezenterik Ven |
| İVC | İnferior vena kava |
| KD | Kalsiyum dobesilat |
| LPO | Lipit Peroksidasyonu |
| LPS | Lipopolisakkarit |
| M | Mitoz evresi |

| | |
|-------|---|
| MDA | Malondialdehit |
| MTT | Masson Trikrom |
| MI | Mitotik indeks |
| NFκB | Nükleer faktör kappa B |
| NO | Nitrik oksit |
| NOS | Nitrik oksit sentaz |
| NR | Nükleer reseptör |
| PAF | Trombosit aktive edici faktör |
| PCNA | Proliferatif hücre çekirdek antijeni |
| PH | Parsiyel hepatektomi |
| PV | Portal ven |
| RO | Rejenerasyon oranı |
| S | Sentez evresi |
| Sg | Segment |
| SMV | Süperior Mezenterik Ven |
| SOD | Süperoksit dismutaz |
| SOR | Serbest Oksijen radikali |
| SS | Standart sapma |
| STAT3 | Sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 3 |
| SV | Splenik ven |
| TGF-α | Transforme edici büyüme faktörü alfa |
| TGF-β | Transforme edici büyüme faktörü beta |

UPA Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü

PBS: Fosfat Buffer Solüsyonu

İHK İmmünohistokimyasal



TABLÖLAR

- Tablo 1.** Suzuki Skorlaması Sistemi
- Tablo 2.** Serum SOD Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 3.** Karaciğer Doku SOD Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 4.** Serum GSH Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 5.** Karaciğer Doku GSH Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 6.** Serum MDA Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 7.** Karaciğer Doku MDA Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 8.** Rejenerasyon Oranı için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 9.** Tek Yönlü Varyans Analizi ile Gruplar arası Karşılaştırma, Grupların Rejenerasyon Oranı Ortalama ve Standart Sapma Değerleri
- Tablo 10.** Grupların Bonferroni Düzeltmesi Yapılarak Değerlendirilmesi
- Tablo 11.** Histopatolojik Bulguların Pearson Ki-Kare Testi ile Değerlendirilmesi
- Tablo 12.** Kontrol ve Çalışma Gruplarının Pearson Ki-Kare Testi ile Değerlendirilmesi
- Tablo 13.** Apoptotik İndeks için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 14.** Tek Yönlü Varyans Analizi ile Grupların Karşılaştırılması
- Tablo 15.** Ki67 Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi
- Tablo 16.** Ki67 Düzeyi için Tek Yönlü Varyans Analizi ile Grupların Karşılaştırılması

ŞEKİLLER

- Şekil 1.** Prometheus(Peter Paul Rubens-1610/1611)
- Şekil 2.** Karaciğer Topografik Anatomisi
- Şekil 3.** Çölyak Aks ve Hepatik Arteriyal Sistem
- Şekil 4.** Portal Ven Anatomisi
- Şekil 5.** Sıçan karaciğer anatomisi
- Şekil 6.** Hepatik Lobül, Hepatosit, Sinüzoid, Portal Triad Yapısı
- Şekil 7.** Couinaud isimlendirmesine göre karaciğerin segmentel anatomisi
- Şekil 8.** Primer Bölüm Anatomisi ve Rezeksiyonlar için İsimlendirme
- Şekil 9.** Sekonder Bölüm Anatomisi ve Rezeksiyonlar için İsimlendirme
- Şekil 10.** Tersiyer Bölüm Anatomisi ve Rezeksiyonlar için İsimlendirme
- Şekil 11.** Diğer Karaciğer Rezeksiyonları
- Şekil 12.** Karaciğer Rejenerasyonunda Hayvan Modelleri
- Şekil 13.** Sıçanlarda Hepatik Rezeksiyon Modelleri
- Şekil 14.** Hepatektomi ile Başlatılan Karaciğer Rejenerasyon Yolları
- Şekil 15.** Karaciğer Rejenerasyon Sürecinde *Priming* ve *Progresyon* Fazları
- Şekil 16.** Hepatik Progenitör/Prokürsör Hücreler ve Rejenerasyon
- Şekil 17.** Parsiyel Hepatektomi Sonrası Rejenerasyonun Gen Aktivasyon Zinciri
- Şekil 18.** Transkripsiyon Faktör Aktivasyonuna ve DNA Sentezine Yol Açan Olaylar
- Şekil 19.** Karaciğer Rejenerasyonunda Hücre Siklusu
- Şekil 20.** Kupffer Hücreleri ve Bağışıklık Sistemi Bileşenleri
- Şekil 21.** Karaciğer Rejenerasyonunda Hücre İçi Yolaklar
- Şekil 22.** Rejenerasyon ve Karaciğer Fonksiyonlarının Sürdürülmesi Arasındaki Metabolik Denge
- Şekil 23.** Laparotomi
- Şekil 24.** PH'de Eksize Edilecek Karaciğer Lobları
- Şekil 25.** Parsiyel Hepatektomi
- Şekil 26.** Serum SOD Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi
- Şekil 27.** Karaciğer Doku SOD Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi
- Şekil 28.** Serum GSH Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi
- Şekil 29.** Karaciğer Doku SOD Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi

- Şekil 30.** Serum MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalama Değerleri
- Şekil 31.** Karaciğer Doku MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalama Değerleri
- Şekil 32.** Rejenerasyon Oranının Gruplarda Günlere göre Değişimi
- Şekil 33.** Karaciğer Dokusu Histopatolojik Değerlendirme
- Şekil 34.** TUNEL Hücre Boyama
- Şekil 35.** Ki67 İmmunohistokimyasal Boyama



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| TEŞEKKÜR | i |
| ÖZET..... | ii |
| ABSTRACT | v |
| SİMGE VE KISALTMALAR..... | viii |
| TABLolar | xi |
| ŞEKİLLER | xii |
| İÇİNDEKİLER | xiv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. TARİHÇE | 3 |
| 2.2. KARACİĞER..... | 4 |
| 2.2.1. Topografik Anatomisi..... | 4 |
| 2.2.2. Vasküler Anatomi..... | 5 |
| 2.2.3. Sıçanın Karaciğer Anatomisi..... | 7 |
| 2.3. KARACİĞER EMBRİYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ | 7 |
| 2.4. KARACİĞER REZEKSİYONU | 9 |
| 2.4.1. Rezeksiyon Endikasyonları | 9 |
| 2.4.2. Cerrahi Anatomi ve Rezeksiyon Sınırları..... | 9 |
| 2.4.3. Rezeksiyon Komplikasyonları..... | 11 |
| 2.5. KARACİĞER REJENERASYONU | 12 |
| 2.5.1. Karaciğer Rejenerasyonunun Klinik ile İlişkisi..... | 12 |
| 2.5.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Temel Özellikleri | 12 |
| 2.5.2.1. Karaciğer Rejenerasyon Modelleri | 12 |
| 2.5.2.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Genel Özellikler | 14 |
| 2.5.2.3. Karaciğer Kök Hücreleri..... | 17 |
| 2.5.2.4. Proliferasyonun İndüksiyonu | 18 |
| Acil/Gecikmiş Erken Genler ve Hücre Döngüsü Genleri: | 18 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 2.5.2.5. | Hepatik Rejenerasyonu Başlatıcı ve Aktivatörleri | 21 |
| | Karaciğer Rejenerasyonunu Aktive Eden Faktörler:..... | 22 |
| | Karaciğer Rejenerasyonunu İnhibe Eden Faktörler | 24 |
| 2.5.2.6. | Karaciğer Rejenerasyonunda Hücre İçi Yollar | 24 |
| 2.5.2.7. | Karaciğerin Yeniden Şekillendirilmesi | 26 |
| 2.5.2.8. | Rejenerasyon Sırasında Karaciğer Fonksiyonunun Korunması..... | 27 |
| 2.5.2.9. | Rejenerasyonun Sona Ermesi..... | 29 |
| 2.6. | KALSİYUM DOBESİLAT | 30 |
| 3. | GEREÇ VE YÖNTEM..... | 31 |
| 3.1. | DENEY HAYVANLARI..... | 31 |
| 3.1.1. | Çalışma Grupları..... | 31 |
| 3.2. | ANESTEZİ VE CERRAHİ PROSEDÜR | 32 |
| 3.3. | ARAŞTIRMA PARAMETRELERİ | 33 |
| 3.3.1. | Biyokimyasal Parametreler..... | 33 |
| 3.3.2. | Rejenerasyon Oranı | 34 |
| 3.3.3. | Histopatolojik Parametreler | 34 |
| 3.3.3.1. | Işık Mikroskopik İnceleme..... | 34 |
| 3.3.3.2. | TUNEL Boyama ile Apoptotik İndeks:..... | 35 |
| 3.3.3.3. | İmmünohistokimyasal inceleme | 36 |
| 3.4. | İSTATİSTİK | 37 |
| 4. | BULGULAR..... | 38 |
| 4.1. | BİYOKİMYASAL PARAMETRELER | 38 |
| 4.1.1. | Serum SOD..... | 38 |
| 4.1.1. | Doku SOD | 39 |
| 4.1.2. | Serum GSH..... | 40 |
| 4.1.3. | Doku GSH | 40 |
| 4.1.4. | Serum MDA | 41 |
| 4.1.5. | Doku MDA | 42 |
| 4.2. | REJENERASYON ORANI :..... | 43 |
| 4.3. | HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER | 45 |
| 4.3.1. | Histopatolojik Bulgular | 45 |
| 4.3.2. | Apoptotik indeks | 46 |

| | |
|----------------------------------|-----------|
| 4.3.3. Ki 67 | 48 |
| 5. TARTIŞMA | 51 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 59 |
| KAYNAKÇA | 61 |



1. GİRİŞ

Karaciğer, büyüme ve yenilenme kapasitesine sahip benzersiz bir organdır. Karaciğer rezeksiyonu karaciğerdeki iyi huylu kitlelerin (kist hidatik, adenom v.b.), kötü huylu tümörlerin (Hepatosellüler karsinom, metastatik tümörler v.b.) tedavisinde, travmaya bağlı cerrahi girişim gerekliliğinde ve karaciğer transplantasyonunda uygulanır. Karaciğer rezeksiyonu karaciğer anatomisinin ve fizyolojisinin daha iyi anlaşılması, preoperatif tanı yöntemlerinin gelişmesi, cerrahi tekniklerde gelişme ve iyileşme, postoperatif bakımın gelişimi ile daha güvenli yapılabilir hale gelmiş ve mortalite %5'in altına düşmüştür (1).

Karaciğer rejenerasyonu, hepatositlerin, matris yapıların ve endotelyumun kombine hipertrofi ve hiperplazileriyle gerçekleşen, genlerin, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin kontrolü altında olan bir yapılanmadır (2; 3). Genel olarak karaciğerde rejenerasyonun başlaması, ilerlemesi ve kontrolü tüm karaciğer hücreleri tarafından sağlanır. Bölünmekte olan hepatositler, Kupffer hücreleri, endotel hücreleri, ito hücreleri ve hücre dışı maddeler arasındaki ilişki de rejenerasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynar (4). Karaciğer rejenerasyonunun kontrol edilebilir yaygın bir işlem haline gelmesi modern cerrahideki en önemli aşamalardan birisidir. Ancak karaciğer rezeksiyonu sonrası gelişen karaciğer yetmezliği ise cerrahlar için korkutucu bir komplikasyondur. Cerrahi rezeksiyon sonucu oluşan hasar büyüme faktörlerini ve sitokin kaskadını tetikleyerek karaciğer kütesinin orijinal boyutuna geri dönmesini düzenler. Karaciğer rejenerasyonunun efektif olmaması ya da tamamen yokluğu durumunda karaciğer yetmezliği meydana gelir. Karaciğer hasarının, inflamatuvar sitokinlerin ve oksidatif ürünlerin aşırı üretimi gibi birçok faktör tarafından daha da şiddetlendirilmiş olduğu düşünülür. Serbest oksijen radikalleri(SOR) karaciğer rejenerasyonunu etkileyebilen çeşitli sinyal yollarını değiştirir. SOR, hücre büyümesini durdurmaya ve hücre siklusunu inhibe eden proteinleri aktive etmeye aracılık eder; geride kalan karaciğerde rejenerasyonu negatif yönde etkiler. Bu yüzden rejenerasyon aşamasında karaciğerdeki hücrel redoks dengesinin ve inflamatuvar yanıtın sıkı regülasyonu önemlidir (5).

Parsiyel hepatektomi (PH), karaciğer tümörlerinin tedavisinde ve organ transplantasyonu için donörlerde sıklıkla kullanılır (6). PH modelindeki çalışmalarda

rejeneratif cevabın oluşmasında pek çok faktörün etkili olduğu gösterilmiştir (7). PH sonrası karaciğer rejenerasyonu, inflamatuvar sinyal moleküllerinin aktivasyonu ve oksidatif stresin indüklenmesi ile ilişkilidir (5). Geride kalan karaciğer dokusunda rejenerasyonun ilk günden itibaren başladığı ve deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin, hepatektomi sonrasında ilk 24-48 saatte maksimuma ulaştığı gösterilmiştir. Normalde hepatositlerde mitoz çok nadirdir. Fakat PH'den sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Standart PH terimi %70 hepatektomi tanımlar. Karaciğer rejenerasyon kapasitesini en net gösteren model olan PH, karaciğer rejenerasyonunun en güçlü uyarıcısı olarak kabul edilir. Aynı zamanda PH kolay uygulanması ve en önemlisi de remnant karaciğer dokusunun doğrudan manipüle edilmemesi nedeniyle eş zamanlı karaciğer nekrozu veya inflamasyonun etkisine maruz kalmadan karaciğer dokusunun yenilenebilmesine olanak sağlaması bu modelin avantajıdır. PH, DNA replikasyonunu uyarır ve hemen ardından da mitoz hızlanır. İnsandan farklı olarak sıçan karaciğerinin rejenerasyonuna normal hale dönmesi 7-10 gündür (8).

Kalsiyum dobesilat (2,5 dihidroksi-benzensülfonat)(Doxium® Abdi Ibrahim, Istanbul, Turkey)(KD) anjiyoprotektif, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri olan farmakolojik bir ajandır. KD, anjiyoprotektif ve antioksidan özelliklerinden dolayı kronik venöz staz, diyabetik retinopati ve hemoroidal hastalıkların tedavisinde kullanılır. KD'nin antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri, SOR'un neden olduğu azalmış lipid peroksidasyonu (LPO) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) gibi inflamatuvar sitokin salınımında azalma ile ilişkilidir. Ayrıca KD'nin mikrovasküler disfonksiyonları düzelttiği, SOR'u azalttığı, endotelial nitrik oksit (eNO) sentezini arttırdığı ve endotel hücrelerinde deskuamasyonu önlediği gösterilmiştir (9). Daha önce antioksidan özellikleri olan ajanlarla yapılan çalışmalarda hepatik rezeksiyon sonrası karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkılarının olduğu bildirilmiştir (10; 11). Anjiyoprotektif, antioksidan etkili ve endotelial NO'yu artırdığı bilinen KD'nin karaciğer rejenerasyonuna olumlu etkileri olabilir. Bildiğimiz kadarıyla KD'nin hepatektomi sonrası rejeneratif kapasite üzerine etkileri hakkında yapılmış bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, PH sonrası KD'nin karaciğer rejenerasyon kapasitesi ve antioksidan yol üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Karaciğerin rejeneratif kapasitesi ile ilgili ilk bilgilere Hesiodos'un Theogoni'sinde rastlanılır. Buna göre Prometheus, ateşi çalarak insana verdiği için, Zeus tarafından cezalandırılıp Kafkas dağlarının en yüksek noktasına zincirlenir. Karaciğerinin bir kısmı her gün bir kartal tarafından yenir ve her gece eski halini alır (12; 13) (Şekil 1).



Şekil 1 . Prometheus (Peter Paul Rubens-1610/1611) (12)

Karaciğerin yüzey anatomisi M.Ö 2000'lerde Babiller tarafından tanımlanmıştır. Frach Glisson ise 1654'te karaciğer kan damarlarının anatomisini doğru biçimde tanımlayan ilk hekim olmuştur. Bir bıçak yarısından dışarı çıkmış karaciğer porsiyonunu ampute etmiş olan Bertha kayıtlı ilk parsiyel hepatektomiye 1716'da yapmış kabul edilir (12). 1800'lerin sonlarında Avrupa'da karaciğer cerrahisi imkânsız olarak değil fakat tehlikeli olarak değerlendirilmiştir. 1883'de yine Almanya'dan Themisocles Gluck ve sonra Emil Ponfick hayvanlarda major rezeksiyon sonrası karaciğer rejenerasyonunu göstermişlerdir. 1888'de Alman araştırmacı Carl Langenbuch ilk kolesistektomiye uygulamış, ilk elektif ve başarılı karaciğer rezeksiyonunu bildirmiştir. J.W. Elliot 1897'de travma sonrası karaciğer cerrahisi ile ilişkili makalesinde şöyle yazmıştır: “Karaciğer çok frajil, bir sürü damar içeren ve sütüre edilmesi belirgin bir şekilde olanaksız bir dokudur ve yapısının büyük kısmını içeren yaraları başarılı bir şekilde tedavi etmek hemen her zaman imkansızdır” (14). 1908'de Pringle, *Annals of Surgery*'de şimdi adını taşıyan bir manevra olan porta hepatis'in sıkıştırılmasıyla “travmaya bağlı hepatik kanamanın kontrolünü” tanımladı. 1950 yılında Japon araştırmacı

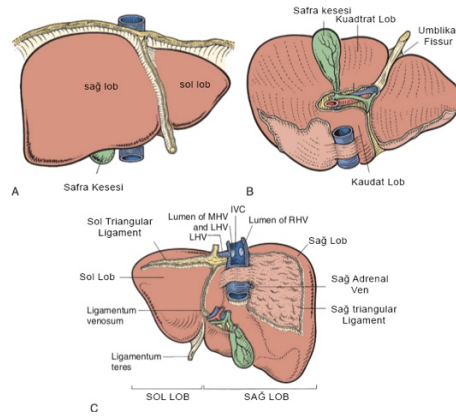
İchio Hongo ilk anatomik karaciğer rezeksiyonunu gerçekleştirmiştir. Jean Louis Lortat Jacob 1952 yılında metastatik kolon kanseri tedavisi olarak ilk sağ hepatektomiği gerçekleştirmiştir. Buna rağmen planlı major hepatektomiler 1980'lere kadar yaygınlaşmamıştır. Aynı zamanda George T. Pack major hepatektomi sonrası insan karaciğerinin rejenerasyon kabiliyetini belgelemiştir (1).

2.2. KARACİĞER

2.2.1. Topografik Anatomisi

Karaciğer vücuttaki en büyük solid organdır ve yetişkinde yaklaşık 1400-1700 gram ağırlığındadır. Vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturur. Karın boşluğunda sağ üst kadranda yer almaktadır.

Karaciğerin diafragmatik ve visseral olmak üzere iki yüzü vardır. Diafragmatik yüzü, üstte diafragma aracılığı ile sağdan sola sağ plevra ve sağ akciğer, perikard ve kalp, sol plevra ve sol akciğer ile komşudur. Önde diyafragma, sternumun ksifoidi ve ön karın duvarına komşuluk gösterir. Arka bölümü diyafragma, alt kostalar ile komşu olup inferior vena kava sulkusu ve çıplak alan (*area nuda*) bu bölgededir (15). Visseral yüz, sağdan kolonun hepatic fleksurası, transvers kolonun sağ yarısı, safra kesesi, duodenum, solda mide ve özofagusla komşuluk gösterir. Sağda periton aracılığı ile sağ böbrek ve sağ sürrenal glanda komşudur. Sürrenal gland ile karaciğer, peritonsuz kısımda doğrudan temas halindedir. Karaciğeri falsiform, yuvarlak (*ligamentum teres hepatis*) ve koroner ligamanlar ön karın duvarına ve diafragmaya bağlı tutar. Karaciğeri örten periton (*Glisson kapsülü*) iki yaprağa ayrılarak diafragmaya yapışır. Bu iki periton yaprağı anterior ve posterior koroner ligamanlar adını alır. Bu ligamanlar sağda ve solda triangüler ligamanları oluşturur, önde birleşerek falsiform ligamanı meydana getirir. Falsiform ligaman karaciğeri karın ön duvarına asar. Falsiform ligaman içinde, umblikustan sol portal ven dalına giden sol umblikal ven kalıntısının oluşturduğu *ligamentum teres hepatis* vardır. Falsiform ligaman ve *ligamentum ters hepatis* karaciğeri yüzeysel olarak sağ ve sol iki loba ayırır. Gastrohepatik ligaman ve hepatoduodenal ligaman karaciğeri yerinde tutan diğer anatomik oluşumlardır (15) (Şekil 2).

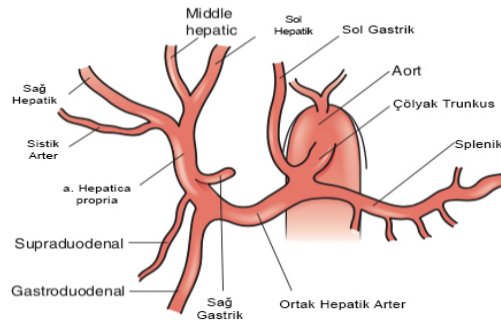


Şekil 2. Karaciğerin Topografik Anatomisi **A.** Üstten görünüm **B.** Alttan görünüm **C.** Arkadan görünüm (16)

2.2.2. Vasküler Anatomi

Karaciğer hem portal sistemden hem de santral sistemden beslenen bir organdır. Dolaşımının %75'i vena porta ile %25'i ise hepatik arterle sağlamaktadır.

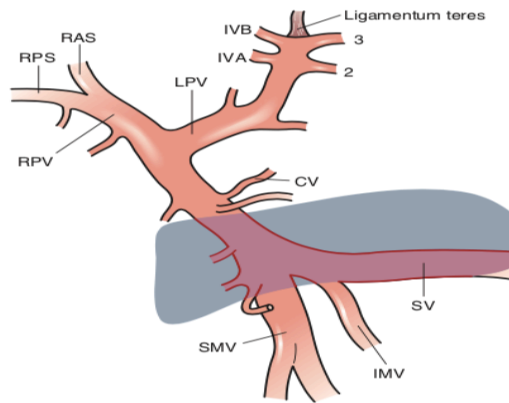
Hepatik arter: Çölyak trunkus; a. lienalis, a. gastrica sinistra ve a. hepatica communis'den oluşmaktadır. A. Hepatica communis'in dalı olan hepatik arter, omentum minus içerisinde seyrederek karaciğer hilusunda pediküllere ayrılıp karaciğere girmektedir (17) (Şekil 3). Hepatik arter öncelikle karaciğer pedikülü içinde sağ ve sol, sonrasında da karaciğerin segmentlerine göre dallara ayrılarak interlobüler arterleri oluşur. İnterlobüler arterlerden bazıları portal yapılarak akarken, bazıları da portal alanlardan farklı uzaklıklarda sinüzoidler içinde direkt olarak sonlanan arteriyollerini oluşturur. Bu sayede sinüzoidler içinde arteriyel ve portal venöz kan karışır.



Şekil 3. Çölyak Aks ve Hepatik Arteriyel Sistem (18)

Hepatik venler: Karaciğerin venöz drenajı üç ana hepatik venle sağlanır. Sol hepatik ven, ikinci ve üçüncü segmentlerin kanını alır. Sağ lobun kanı ise sağ hepatik ven ile inferior vena kava(İVK)'ya boşalır. İnsanların %50'sinde üçüncü ve dördüncü segmentten kan alıp sol hepatik vene getiren ve "umbikal fissür veni" adı verilen bir ven daha vardır. Orta hepatik ven genellikle sol hepatik venle birleşip tek trunkus halinde İVK'ya açılır. Ayrıca %25 oranında sağ karaciğerden doğrudan İVK'ya ulaşan hepatik venler vardır.

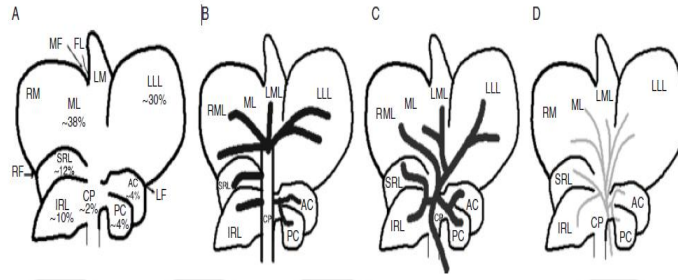
Portal Ven: Splenik ven(SV) ve superior mezenterik ven(SMV) pankreas boynu hizasında birleşirler. İnférieur mezenterik ven(İMV) bu venlere katılır ve portal veni(PV) oluşur. İçerisinde valv sisteminin olmadığı PV; mide, ince ve kalın barsaklar, pankreas ve dalaktan gelen venöz kanı karaciğere taşır. Hepatoduodenal ligamentin içinde, duodenum birinci kısmının arkasından geçer, porta hepatis'e ulaşır ve orada sağ ve sol olmak üzere iki dala ayrılır. PV, karaciğer hilusuna gelmeden sol gastrik veni(koronar ven) ve bazı küçük dalları alır. PV dalları karaciğer içinde segmentlere göre dağılım gösterir (15). PV dallanarak portal triadlara portal venüller verir. Portal venüller lobülün periferinde seyreden dağıtıcı venleri oluştururlar. Dağıtıcı venlerden çıkan küçük giriş venülleri sinüzoidlere açılır. Sinüzoidler lobülün merkezinde sentral veni oluşturmak üzere birleşirler. Sentral ven, lobül boyunca ilerledikçe daha fazla sinüzoid alır ve çapı giderek artar. Sonunda lobülü terkeder ve daha büyük olan sublobüler ven ile birleşir. Böylece iki ya da daha fazla sayıdaki büyük hepatik venler oluşur ve İVK'ya açılır (19) (Şekil 4).



Şekil 4. Portal Ven Anatomisi (18)

2.2.3. Sıçanın Karaciğer Anatomisi

Sıçan karaciğeri toplam vücut ağırlığının yaklaşık %5'ini oluştururken yetişkin bir insanda bu oran %2'dir. Sıçanın karaciğer ağırlığı ortalama 13,6 gramdır (20). Sıçan karaciğeri dört ana lobdan oluşur: Sağ lateral lob (%22), median lob (%38), sol lateral lob(%30) ve kaudat lob(%10). İnsan karaciğerinde olduğu gibi portal dallardan beslenmesine göre isimlendirilir. Sağ lateral lob, transvers fissür ile superior ve inferior segmentlere ayrılır. Median lob, hepatik ligamana ait olan derin bir longitudinal fissür ile sağ ve sol santral segmentlere ayrılır. Sol lateral lob ise tek segmenttir. En derin planda özofagus çevresinde yer alan kaudat lob kaudat proses, anterior ve posterior kaudat lob şeklinde üçe ayrılır (20; 21) (Şekil 5).



Şekil 5. Sıçanın Karaciğer Anatomisi **A.** Lob ağırlık yüzdesi **B.** Hepatik ven dağılımı **C.** Portal ven dallanması **D.** Biliyer sistem

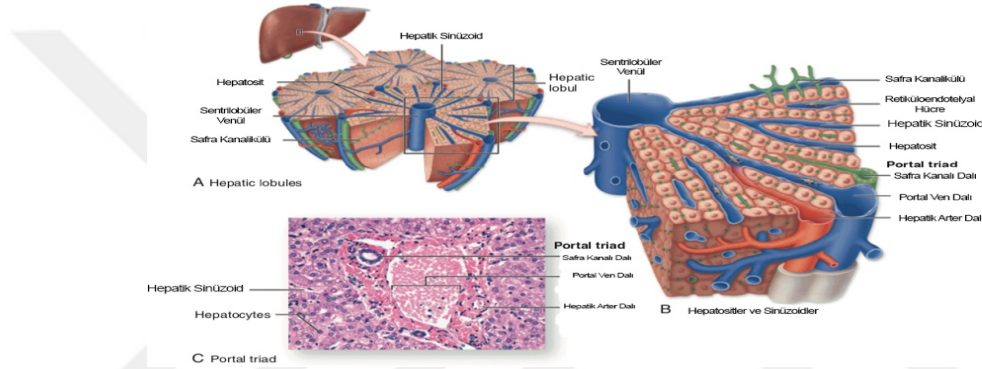
CP: kaudat lob, **AC:** anterior kaudat lob, **PC:** posterior kaudat lob, **SRL:** süperior sağ lateral lob, **IRL:** inferior sağ lateral lob, **ML:** median lob, **RML:** sağ medial lob, **LML:** sol medial lob, **LLL:** sol lateral lob, **MF:** median fissür, **LF:** sol fissür, **RF:** sağ fissür, **FL:** falsiform ligaman (21).

2.3. KARACİĞER EMBRİYOLOJİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları dördüncü haftanın başında, preenteron'un kaudal parçasının öne doğru bir çıkıntısı olarak belirir. Divertikulum hepaticum, mesenterium ventrale'nin iki yaprağı arasında hızla büyüyerek ikiye ayrılır; daha büyük olan kranial parçası *primordium hepaticum* adını alır. Çoğalan endodermal hücreler hepatik hücre kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epiteli oluşturur. Bu hepatik hücre kordonları, endotel döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak karaciğer

sinüzoidlerinin taslaklarını meydana getirir. Karaciğer fibröz dokusu, hematopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversum'daki mezektimden gelişir. Altıncı haftada başlayan hematopoiesis, karaciğere parlak kırmızı bir renk verir; karaciğerin yedinci ve dokuzuncu haftalar arasındaki büyüklüğünden de bu hematopoetik aktivite sorumludur (22).

Karaciğerin işlevsel birimi karaciğer lobülüdür (23; 24). Klasik lobül yapısında ortada bir hepatik ven dalı(sentral ven), bu hepatik ven dalından periferine doğru ışınal biçimde sinüzoidler ve parankim hücreleri uzanır. Klasik lobül altıgen şeklindedir. Altıgenin köşelerinde, içinde PV, hepatik arter ve safra kanalının uç dallarının bulunduğu portal triadlar yerleşmiştir. Her lobülde 3-6 portal triad bulunur (Şekil 6).



Şekil 6. A. Hepatik lobül yapısı, B. Hepatosit ve sinüzoid yapısı C. Portal triad(hemotoksilen eozin boyama) (25).

Sinüzoidler, endotelial hücre tabakasıyla çevrili, düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. PV ve hepatik arterin uç dalları sinüzoidlerle temas halindedir. Kan terminal portal triaddan sinüzoidler aracılığıyla terminal hepatik venüle doğru akar. Terminal hepatik venüller sonunda birleşerek hepatik venleri oluşturur. Safra hepatositlerin içinde oluşur ve hücreler arası mesafede yan duvarların oluşturduğu terminal kanaliküllere dökülür, bu kanaliküller birleşerek safra kanalcıklarını oluşturur ve portal triada doğru akarlar. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasındaki “Disse aralığı” denilen kısımda karaciğer lenfi oluşur. Endotel tabakası hücreleri arasında Kupffer hücreleri ve stellat(ito) hücreleri bulunur. Karaciğerin diğer hücreleri(%20); Kupffer hücreleri, stellat hücreleri, endotelial hücreler ve lenfosit gibi parankimal olmayan hücrelerden oluşur. Kupffer hücreleri yabancı partiküllerin, enfekte organizmaların fagositozunda ve sitokinlerin üretiminde önemlidir. Stellat hücreleri vitamin A'nın depolanmasını, ekstraselüler matriksin(ESM) üretimini ve hepatik fibrozis faktörlerinin çoğunun sentezini sağlar.

Endotelyal hücreler sinüzoidlerde bulunur ve besin emilimi için geniş bir alan sağlar. Hepatik bir hasarlanmaya cevap olarak bu hücre tiplerinin hepsi aktive olur ve karaciğer rejenerasyonunda rol alırlar (26).

2.4. KARACİĞER REZEKSİYONU

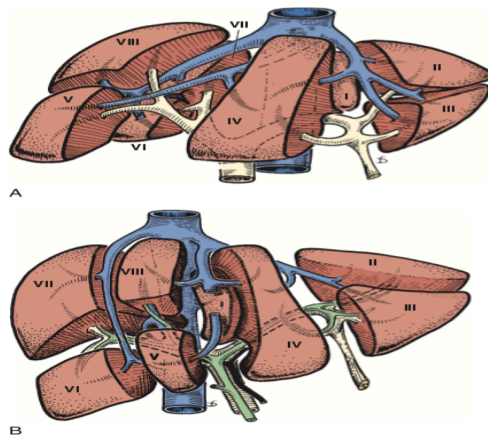
2.4.1. Rezeksiyon Endikasyonları

Karaciğer rezeksiyonu endikasyonları malign tümörler, benign hastalıklar, travma ve canlıdan yapılan karaciğer nakillerinde donör hepatektomilerdir (27).

2.4.2. Cerrahi Anatomi ve Rezeksiyon Sınırları

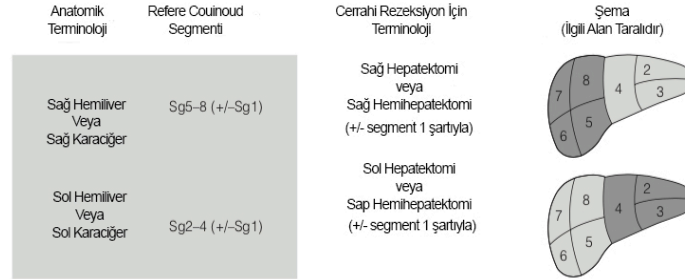
Karaciğerin segmental anatomisinin anlaşılması, karaciğer rezeksiyonlarının anlaşılması için de önemlidir. 1998 yılında Uluslararası HepatoPankreatoBiliyer Derneği (IHPBA) tarafından, hepatic anatomi ve karaciğer rezeksiyonlarını tanımlamak için kullanılan terminolojiyi standartlaştırmak için Terminoloji Komitesi kuruldu. Ortaya çıkan fikir birliği, Avustralya'nın Brisbane kentindeki IHPBA toplantısında 2000 yılında onaylandı ve Brisbane 2000 terminolojisi olarak adlandırıldı (28; 29). Bu terminoloji hem anatominin hem de rezeksiyonların tanımlanmasında yararlıdır.

PV ve safra yollarının anatomisini takiben, karaciğer 8 segmente(sg) ayrılır. Bu segmentlerin tanımları, Couinaud, Healey ve ark. (30) çalışmasının sonucudur (Şekil 7) (31).



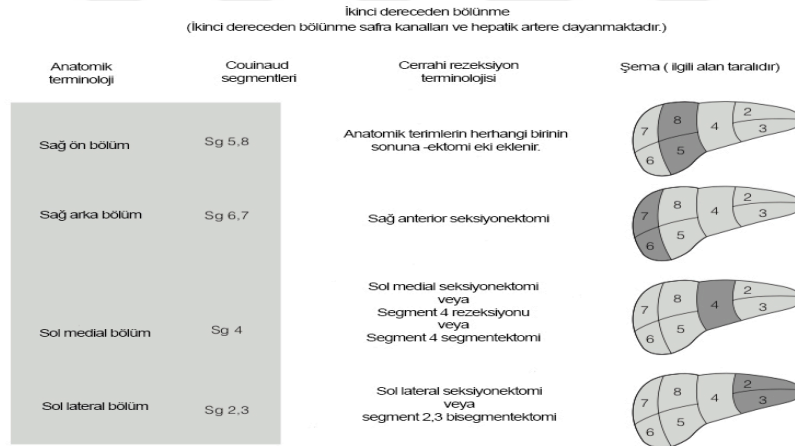
Şekil 7. Couinaud'un isimlendirmesine göre karaciğer segmentleri **A.** Hastada görüldüğü gibi **B.** Ex vivo pozisyonda (32)

Karaciğer anatomisi primer, sekonder ve tersiyer bölümlerle tanımlanmaktadır. İVK ile safra kesesi fossası arasındaki düzlemlerle sol ve sağ hemiliver veya sol ve sağ karaciğere bölünür. Cerrahi rezeksiyon terminolojisi ise sağ / sol hepatektomi veya hemihepatektomidir (Şekil 8).



Şekil 8. Primer bölüm anatomisi ve rezeksiyonlar için isimlendirme (33).

Sekonder bölümde, safra yolu ve hepatik arter anatomisine dayanarak karaciğer 4 bölüme ayırır. Sağ karaciğer; sağ ön bölüm(Sg 5,8) ve sağ arka bölüme(Sg 6,7) ayrılmıştır. Sol karaciğer; sol medial bölüme(Sg 4) ve sol lateral bölüme(Sg 2,3) ayrılır. Rezeksiyon için terminoloji anatomik terime -ektomi eklenerek elde edilir(Şekil 9).

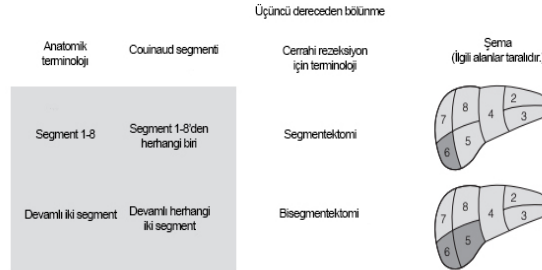


Şekil 9. Sekonder bölüm anatomisi ve rezeksiyonlar için isimlendirme (33)

Brisbane 2000 sistemi, safra ve arteriyel anatomiden ziyade PV anatomisine dayanan ve sektör teriminin kullanıldığı alternatif bir sekonder bölünme tanımlamıştır. Sg 5 ve 8, sağ ön sektör veya sağ paramedian sektör; sg 6 ve 7, sağ arka sektör veya sağ lateral sektör olarak adlandırılır. Sg 3 ve 4, sol medial sektör veya sol paramedian sektör ve sg 2, sol lateral sektör veya sol posterior sektör olarak adlandırılır.

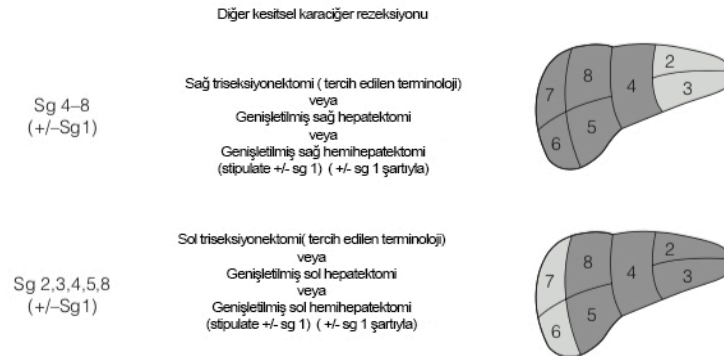
Tersiyer bölünme, karaciğerin segmentlerini ifade eder. Geleneksel Couinaud sınıflandırması sadece 8 segment içerir ve kaudat lobu sg 1 olarak adlandırır. Kaudat lob

yeni adlandırmada sg 1'e (Spiegel lob) ve sg 9'a (kaudat işlemleri ve parakaval kısım) ayrılır (30). Tek bir segmentin rezeksiyonu segmentektomi ve herhangi bitişik 2 segmentin rezeksiyonu ise bisegmentektomi olarak adlandırılır (Şekil 9).



Şekil 10. Tersiyer Bölüm Anatomisi ve rezeksiyonlar için isimlendirme (33).

Sg 4 ila 8'e(+/- Sg1) rezeksiyon, sağ triseksiyonektomi/genişletilmiş sağ hepatektomi/genişletilmiş sağ hemihepatektomi; Sg 2 ila 5 ve 8'e(+/- Sg1) rezeksiyon, sol triseksiyonektomi/genişletilmiş sol hepatektomi/genişletilmiş sol hemihepatektomi olarak adlandırılır(Şekil 11).



Şekil 11. Diğer karaciğer rezeksiyonları (33).

2.4.3. Rezeksiyon Komplikasyonları

Postoperatif komplikasyonlar en sık safra drenajı ile ilgili olan komplikasyonlar olmakla birlikte ateş, pnömöni, yara enfeksiyonu, tromboflebit, sepsis, batin içi ve subdiafragmatik apse gibi komplikasyonlar gelişmektedir. Özellikle siroz ve koagülopatisi olan hastalarda kanama önemli komplikasyonlar arasındadır.

2.5. KARACİĞER REJENERASYONU

İnsan karaciğeri toksik hasar, kronik inflamasyon ve cerrahi rezeksiyondan sonra rejenerasyon yeteneğine sahiptir (34).Rejenerasyon, çok sayıda hücre tipi, ekstrahepatik sinyaller, karmaşık moleküler yollar ve hücrel etkileşimleri içeren karmaşık bir süreçtir. Bu sürecin sürdürülememesi, karaciğer fonksiyon bozukluğuna ve sonuçta karaciğer yetmezliğine yol açar.

2.5.1. Karaciğer Rejenerasyonunun Klinik ile İlişkisi

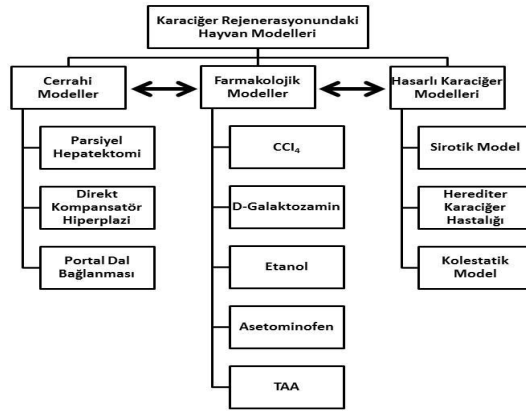
Günümüzde, karaciğer cerrahisi(hepatektomi,transplantasyon) rutin ve güvenli bir şekilde malign ve benign hastalıkların tedavisinde uygulanmaktadır. Canlı vericili karaciğer nakli ve majör hepatektomi de prosedürün başarısı hepatic rejenerasyon kapasitesine bağlıdır. Başarılı nakil için veya donörde güvenli iyileşme için gerekli minimum fonksiyonel karaciğer miktarı dikkatle değerlendirilmesi gereken bir durumdur. Donör greft büyüklüğü, portal hipertansiyon, İ/R hasarı ve alıcının hastalık şiddeti, nakil sonrası rejenerasyon kapasitesini etkileyen önemli faktörlerdir.

2.5.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Temel Özellikleri

2.5.2.1. Karaciğer Rejenerasyon Modelleri

Karaciğer rejenerasyonu 1931'de Higgins ve Anderson (35) tarafından öncülük edilen sıçanlardaki deneysel modelde gösterilmektedir. Bu modelde, geride kalan loblara zarar vermeden basit üçte iki kısmi hepatektomi yapılır. Deneysel hayvan rezeksiyon modelinde rejenerasyon cevabı karaciğerin 2/3'ü rezekte edildiğinde maksimumdur. Daha küçük miktarda parankim çıkarıldığı zaman restorasyon daha yavaş ilerler. 2/3'ü aşan rezeksiyonlarda DNA sentezi ve mitotik aktivitede bozulma olur.

Bilinen diğer karaciğer rejenerasyon modelleri; geniş doku hasarı ve inflamasyon ile ilişkilidir ve etanol, karbon tetraklorür(CCl₄), galaktozamin gibi hepatic toksinlerin kullanımını ayrıca safra kanalı ligasyonu veya PV ligasyonu ve İ/R hasarı gibi prosedürleri içerir (Şekil 12).



Şekil 12. Karaciğer Rejenerasyonu Hayvan Modelleri (31).

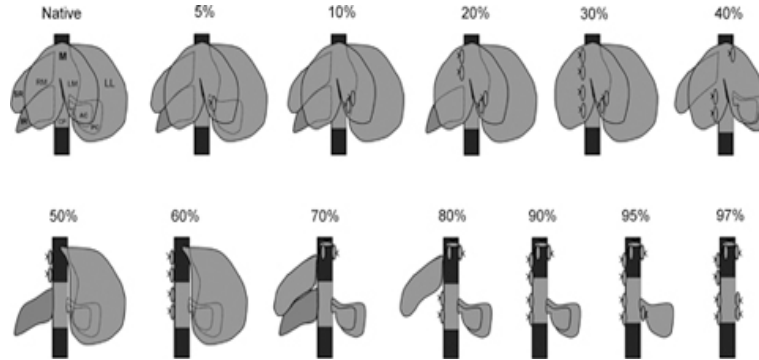
Her modelde, farklı toksik ajanlar spesifik karaciğer hücresi alt grubuna zarar verir. Bu nedenle rejeneratif yanıtı incelemek için PH tercih edilen in vivo modeldir. Sıçanlarda karaciğer rezeksiyon modelleri ise şunlardır:

%70 hepatektomi: Median lob ve sol lateral lob çıkartılır (Şekil 13). Kolay uygulanabilmesi ve kalan karaciğer dokusunun hasarsız olması bu modelin önemli avantajlarıdır.

%90 hepatektomi(subtotal): Median lob, sol lateral lob ve sağ lateral lob çıkartılır.

%95 hepatektomi: Median lob, sol lateral lob ve sağ lateral lob ve anterior kaudat lob çıkartılır (21).

%97 hepatektomi (total): Median lob, sol lateral lob, sağ lateral lob, anterior kaudat lob ve posterior kaudat lob çıkartılır. Sadece kaudat proses kalır (Şekil 13).



Şekil 13. Sıçanlarda Hepatik Rezeksiyon Modelleri (21).

Siçanlarda başlıca karaciğer rezeksiyon teknikleri şunlardır (21) :

Klasik teknik (lobun tabanını en blok bağlama): En çok kullanılan teknik olmasına rağmen diğer pedikülleri bağlama olasılığı ve özellikle vena kava stenozu ve karaciğer konjesyonu oluşturma açısından risklidir.

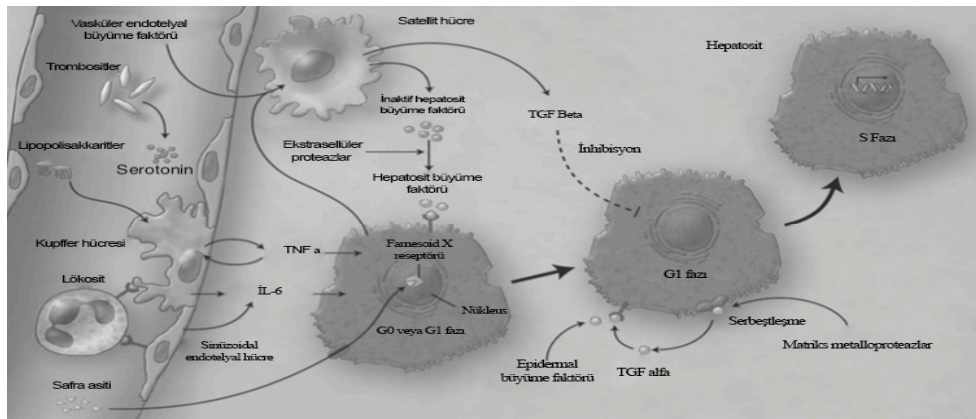
Hemostatik klip tekniği: Klasik tekniğin titanyum kliplerle yapılan bir modifikasyonudur.

Damara yönelik parankim koruyucu teknik: Vasküler anatomiye göre klemlenen damarın proksimaline devamlı sütür koyulur.

Damara yönelik mikrocerrahi teknik: Klinik hepatektomilere benzer şekilde lob rezeksiyonu öncesi portal ven, hepatik arter dalları bağlanırken, parankim rezeksiyonu sırasında da hepatik venler bağlanır. Bu teknik kanama ve vena kavanın daralma riskini azaltarak avantaj sağlar. Ayrıca segmental hepatektomiler açısından daha uygun bir tekniktir. Dezavantajları ise mikrocerrahi yapabilecek yetenek ve ekipman gerekliliği, diseksiyon sırasında portal ven yaralama riski ve işlemin uzun sürmesidir.

2.5.2.2. Karaciğer Rejenerasyonunun Genel Özellikler

Karaciğer rejenerasyonu, mevcut olgun hücrelerin çoğalmasıyla gerçekleştirilir. Bunlar arasında hepatositler, biliyer ve fenestre edilmiş endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve Ito hücreleri bulunur (Şekil 14).



Şekil 14. Hepatektomi ile Başlatılan Karaciğer Rejenerasyon Yolları (36).

Karaciğer rejenerasyonunu incelemek için in vitro hepatosit hücre kültürleri veya in vivo modeller kullanılmıştır. İn vitro hepatosit kültürlerinde DNA sentezini tek başlarına

uyarabilen faktörlere mitojenler denilmektedir. Komitojenler ise ancak bir mitojen varlığında DNA sentezini kolaylaştırırken tek başlarına etkileri yoktur. Hücre proliferasyonunun kinetiği ve hepatositlerin çoğalmasıyla üretilen büyüme faktörleri, hepatositlerin, diğer hücrelerin proliferasyonuna yol açan mitojenik uyarınları sağladığını gösterir. Hepatosit proliferasyon derecesi, hasar derecesi ile doğru orantılıdır. Kaybolan karaciğer kütleini yerine koymak için üç mekanizma tanımlanmıştır:

- 1) Mevcut farklılaşmış hücrelerin çoğalması
- 2) Kök hücrelerin farklılaşması ve çoğalması
- 3) Peripoortal hepatositlerin çoğalması

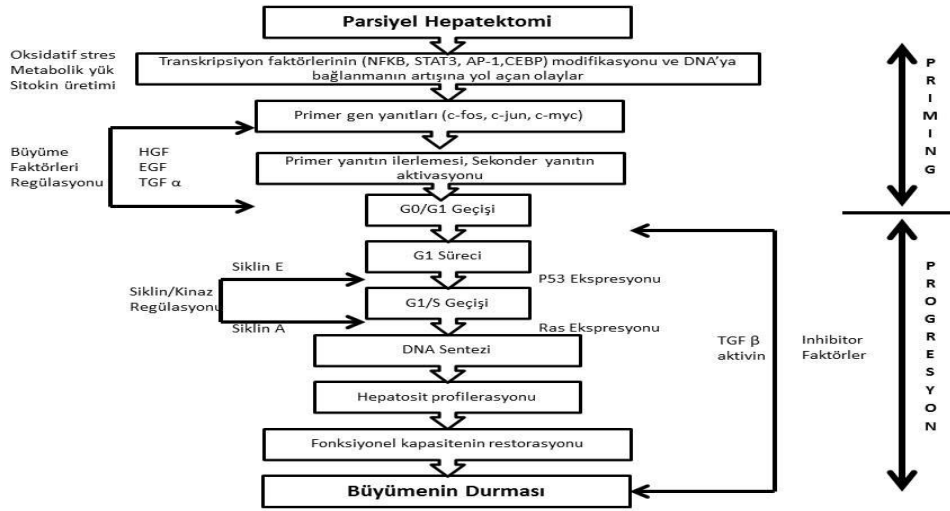
Hücre kaybını hepatosit çoğalması telafi edemediği takdirde farklılaşmakta olan kök hücrelerden yeni hepatositler üretilecektir. Bu mekanizma da yetersiz olursa veya engellenirse peripoortal hepatositlerin hipertrofisi söz konusu olacaktır. Mitojenik uyarı sonrası rejenerasyon, öncelikle karaciğer lobüllerinin peripoortal bölgelerindeki hepatositlerde başlar. Sonra sırasıyla safra duktus hücreleri, Kupffer hücreleri, ito hücreleri ve sinüzoidal endotel hücrelerinde mitoz görülür. Sonuçta mevcut lobüllerin genişlemesi ve yeni lobüllerin eklenmesiyle karaciğer eski büyüklüğüne ulaşır (37; 38).

Rejenerasyon hücre düzeyinde başlar. Karaciğer rejenerasyonunda 3 temel faz mevcuttur: G0, G1(gap 1-ara 1), S(sentez), G2(gap2- ara 2), M(mitoz)'dur. Hepatositlerin replikasyon göstermediği(DNA/RNA sentezinin olmadığı) sessiz dönem G0 fazı olarak adlandırılır. PH sonrası tüm hepatik hücreler eş zamanlı hızlıca G1 fazına geçerler. DNA sentezi, G1 evresiyle başlar. PH sonrasında hepatosit replikasyonunda türler arasındaki başlangıç ve pik zamanlarındaki farklılıklar(sıçanlarda 24 saat, farelerde 42 saat) G1 fazı süresindeki değişiklikleri yansıtır (39). Hepatositler yaklaşık 12-15 saat içinde S fazına (DNA sentez fazı) girerler. DNA sentezini 6-8 saat sonra G2 fazı ve M fazı takip eder. Hepatosit dışındaki hücrelerin replikasyonu G1 fazlarının uzaması sonucunda 24 saat sonra gerçekleşir. Rejenerasyonun bu ilk aşamasında hepatositlerin çoğu en az bir kez replike olurlar. Karaciğer orijinal kütle-hacim oranına eriştiği zaman hepatositler G0 fazına geri döner. PH sonrası 48 saat içinde sıçan karaciğeri neredeyse 2 katına çıkar. Orijinal karaciğer kütleini eski haline döndükten sonra, karaciğer rejenerasyonu aniden durur. Sağlıklı karaciğerdeki düşük turnover toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda %3

veya daha yüksektir (34). DNA sentezinin uyarılması daha sonra parankimal olmayan hücrelerde(Kupffer ve safra epitel hücreleri için yaklaşık 48 saatte ve endotelial hücreler için yaklaşık 96 saatte) meydana gelir. DNA sentezinin ilk zirvesi kemirgenlerde rezeksiyondan 40 saat sonra ortaya çıkar. Deneysel çalışmalar göstermiştir ki, rat hepatositleri fare karaciğerine transplante edildiğinde aynı doku ortamında olmasına rağmen her bir türün hepatositleri kendi türünün replikasyon saatlerine uygun olarak hücre siklusunu sürdürmektedir. Yani replikasyon zamanları hücre otonomisinin kontrolündedir (39; 40). Küçük hayvanlarda, rejeneratif cevapla karaciğer 7-10 gün içinde rezeksiyon öncesi kütesine geri döndürülür. Canlı donör transplantasyonundan elde edilen klinik çalışmalar, rezeksiyondan sonraki 2 hafta içinde insanda önemli miktarda rejenerasyon meydana geldiğini ve rezeksiyonu izleyen 3 ayda neredeyse tamamlandığını göstermektedir.

Hepatosit proliferasyonu lobüllerin periportal bölgelerinde başlar ve daha sonra 36 ila 48 saatte perisentral alanlara ilerler. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. PH sonrası 3-4. günlerde karaciğer histolojisi, gerçek hepatik sinüzoidlere dönüşen kılcal damarları çevreleyen küçük hepatosit kümeleri ile karakterizedir (36).

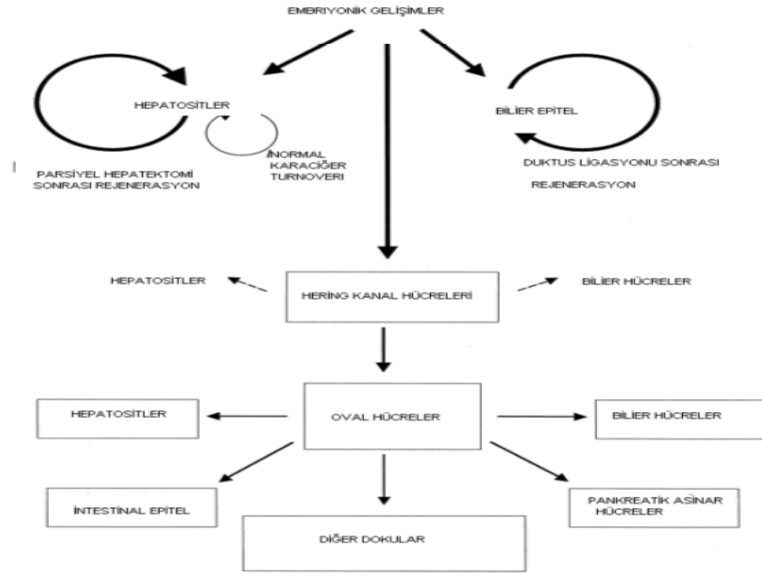
PH sonrası hücrelerin G0 fazından G1 fazına geçmesine sebep olan olaylar "priming" daha sonra hücre döngüsünün tamamlanması ise "progresyon" olarak adlandırılmaktadır. "Priming" ve "progresyon" fazlarındaki olaylar ve birbirleriyle olan ilişkileri, transkripsiyon faktörleri, gen yanıtları, büyüme faktörleri, sitokin etkileri, kinaz kaskadları sadeleştirilmiş haliyle Şekil 15'de gösterilmiştir (41).



Şekil 15. Karaciğerin Rejenerasyon Sürecinde Priming ve Progresyon Fazları (41)

2.5.2.3. Karaciğer Kök Hücreleri

PH sonrası karaciğer rejenerasyonunda büyümeden sorumlu iki dizi hücre grubu olup bunlar hepatositler ve oval hücreler olarak bilinen progenitor(kök) hücrelerdir (Şekil 16). Oval hücreler rezerv kompartmanı olarak görev yaparken karaciğerde yaralanma veya rezeksiyon durumunda ilk olarak hepatositler devreye girer. Bununla birlikte, galaktozamin gibi ajanların neden olduğu karaciğer hasarına yanıt olarak, hepatositler çoğalamaz. Bu durumda, oval hücreler hepatik parankim yerine geçer (42). Normal şartlarda uykuda olan hepatositler rejeneratif bir uyarı alması durumunda ise çok yüksek bir proliferatif kapasiteye sahiptir. İnsanda, hepatik progenitor hücreler(HPH) akut masif nekrozdan sonra karaciğerin yapısına katılır ve ayrıca kronik karaciğer hastalığında da tanımlanmıştır. İnsan HPH'si Hering kanallarından kaynaklanmaktadır (36).



Şekil 16 . Hepatik Projenitör/Prekürsör Hücreler ve Rejenerasyon (42)

Hepatosit proliferasyonunun inhibe olduğu durumlarda rezerv kompartmandaki oval hücreler aktive olurlar. Akut karaciğer yetmezliği sonrasında alınan seri biyopsilerde bu progenitör hücrelerin hepatositlerin rejenerasyonundan büyük ölçüde sorumlu oldukları gösterilmiştir. α -Fetoprotein(AFP), karaciğerde kök hücreler tarafından üretildiğinden, karaciğer yaralanmasında ortaya çıkan AFP miktarı karaciğerdeki progenitör hücre proliferasyonunun düzeyini gösterir (43) .

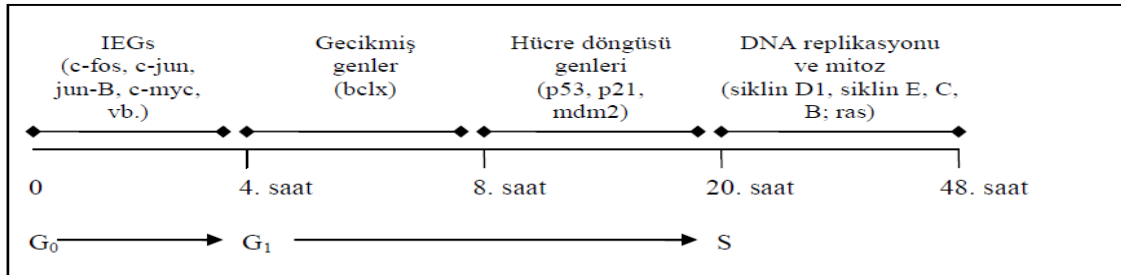
2.5.2.4. Proliferasyonun İndüksiyonu

Acil/Gecikmiş Erken Genler ve Hücre Döngüsü Genleri:

PH'den sonraki birkaç dakika içinde, kalan hepatositlerde spesifik erken genler aktive edilir. Bu genler arasında JUN, FOS, MYC ve KRAS gibi normal hücre döngüsü ilerlemesinde önemli rol oynayan protoonkogenler ve nükleer faktörü Kappa-B(NF- κ B), sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 3(STAT3), aktivatör protein-1(AP-1) ve CCAAT arttırıcı-bağlayıcı protein(C/EBP) transkripsiyonel faktörleri yer alır. Bu transkripsiyon faktörleri rejenerasyonda rol alan birçok genin aktivasyonuna yol açmaktadır. Sonuçta SOR'un üretimi, proinflamatuvar sitokinler, tümör nekroz faktör alfa(TNF- α) ve interlökin 6(IL-6)'nın artışı, mitojen, komitogen ve inhibitörlerin artışına ve birbirleriyle karmaşık ilişkilerinin devamına yol açmaktadır. Bu süreçteki karmaşık ilişki yumağının

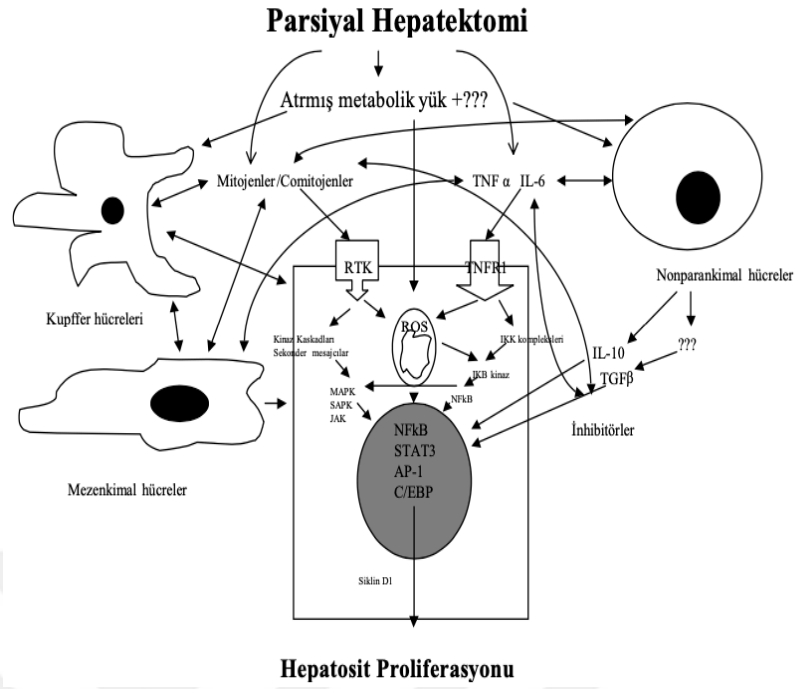
herhangi bir adımının etkilenmesi potansiyel olarak karaciğer rejenerasyon sürecini etkileyebilir.

PH sonrası gen üretiminin ilk fazı acil erken faz olarak adlandırılmakta ve operasyon sonrası hemen başlayıp yaklaşık 4.saatte sonlanmaktadır. Bu grupta c-fos, c-jun ve c-myc protoonkogenleri ilk tanımlananlardır. Gecikmiş erken genler, parsiyel hepatektomi sonrası birkaç saat içerisinde tetiklenir ve G₀'dan G₁ fazına geçiş sürecinde(progresyon fazı) eksprese olurlar. Bunlar, hepatosit rejenerasyonunun kritik düzenleyicileri olup Bcl-2, p53, H-ras ve K-ras genlerini içerir. Bu genlerden en iyi bilineni Bcl-XL'dir. Hücre döngüsü genleri p53, p21, siklinler ve siklin bağımlı kinazlardan oluşmakta ve PH sonrası aktive olmaktadır. Bunlardan siklin D1'in hücre siklusunda hepatosit progresyonu için en güvenli belirleyici olduğu hem in vivo hem de in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Bir diğer hücre siklus geni olan p21 ise siklin D1 tarafından stimüle edilmektedir. Siklin D1'in aşırı üretimi primer hepatositlerde DNA replikasyonunu büyüme faktörlerinin yokluğunda bile sağlayabilmektedir. Hücre siklusu için inhibitör olan bu p21 geninin düzeyinde başlangıçta paradoks olarak bir artış görülmektedir. Bu durum parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonunun karakteristik bir özelliği olup rezeksiyon sonrası sadece aktivatörler değil supresörler de aktive olmaktadır. PH sonrası aktive olan hücre siklus supresörlerine TGF- β , aktivin, p 21 ve p 53 örnek verilebilir. Belki de bu stimülan ve supresörlerin ikili aktivasyonu karaciğer rejenerasyonunun ve büyümenin önceden belirlenen bir noktada durmasını sağlamaktadır (34; 44). (Şekil 17)



Şekil 17. Parsiyel Hepatektomi Sonrası Rejenerasyonun Gen Aktivasyon Zinciri (34).

Transkripsiyon faktörleri genler üzerinde spesifik bağlanma noktaları olan ve onların aktivasyonuna neden olan proteinlerdir. Bu faktörlerin aktivasyonu protein sentezi için gerekli değildir ancak hepatosit replikasyonu için sitokin sinyalinde NF κ B ve STAT 3 özellikle önemli rol oynamaktadır (Şekil 18).



Şekil 18. Transkripsiyon Faktör Aktivasyonuna ve DNA Sentezine Yol Açan Olaylar
(41)

STAT3; “*Signal Transduction and Activators of Transcription*” olarak bilinen transkripsiyon ailesinin bir üyesidir. Bir dizi olay sonucunda fosforile ve transloke olan STAT3 inflamasyon, akut faz yanıtı ve proliferasyona katılan çok sayıda genin üretimini regüle etmektedir. NFκB, karaciğer rejenerasyonunda öncü bir transkripsiyon faktörüdür. NFκB aktivasyonu proteinlerin DNA’nın okunması sonrası aktivasyonunu sağlar. NFκB aktivasyonu endotoksinler, TNF-α, interlokin-1(IL-1), interlokin-2(IL-2), ultraviyole ışığı ve oksidanlar gibi birçok uyarı tarafından sağlanır. Parsiyel hepatektomi sonrası NFκB hızla aktive olmaktadır. Bu aktivasyon rejeneratif cevabın önemli bir parçasıdır (45; 44; 46)

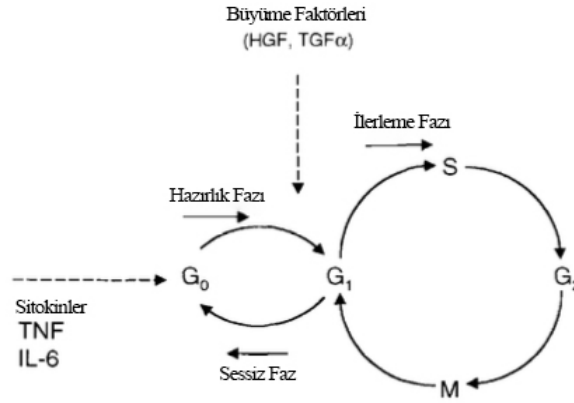
Karaciğer rejenerasyon uyarısı gelmeden önce hepatositlerin hemen hemen hepsi G₀ fazında bulunurlar. Hücre döngüsünün, uyarının gelmesinden sonra başlama fazında büyüme faktörlerine gereksinimi vardır. Transkripsiyon faktörü olan NF-κB, STAT3, AP-1 ve sitokin düzenleyici olabileceği düşünülen C/EBP karaciğer rejenerasyonunun başlamasında önemli rol oynar. Bu moleküller başlangıçta TNF-α tarafından uyarılırlar. PH ya da kimyasal maddeler ile oluşturulan karaciğer hasarından sonra kupffer ve endotel

hücreleri tarafından TNF- α ve IL- 6 üretimi başlatılır. IL- 6 üretimi TNF- α tarafından uyarılmaktadır. IL-6 ve özellikle TNF- α ile birlikte karaciğerden HGF(hepatosit büyüme faktörü) ve çevre organlardan gelen büyüme faktörlerinin (pankreas-HGF; duodenum-EGF(Epidermal büyüme faktörü); adrenal bez-norepinefrin) etkisiyle SOR üretimi sağlanır. Birçok hücre tipinde bulunduğu gibi hepatositlerde de bulunan NF- κ B molekülü normalde inaktiftir. SOR aracılığıyla hepatosit sitoplazmasında fosforilasyondan sonra aktivasyon kazanan NF- κ B hücre çekirdeğine geç eder. Molekülün çekirdeğe geçişi engellendiğinde karaciğerde apoptozis başlar. Parsiyel hepatektomiden sonra öncelikle transkripsiyon faktörlerinden NF- κ B, AP-1, C/EBP ve bunların hemen arkasından da STAT₃'ün DNA'ya bağlanmalarında artış olur. NF- κ B operasyondan 10-15 dakika sonra ölçülebilir ve 1-2 saat içinde de normal seviyeye döner. STAT₃ ise operasyondan sonraki 1-2 saat içinde belirlenebilir ve aktivasyonunu 4-6 saat kadar sürdürebilir (34; 47; 48).

Gecikmiş erken genler, parsiyel hepatektomi sonrası birkaç saat içerisinde tetiklenir ve G₀'dan G₁ fazına geçiş sürecinde(progresyon fazı) eksprese olurlar fakat protein sentezine bağımlıdırlar. Bu genler, rejenere olan karaciğerde G₁ fazı sırasında geç erken gen yapımını düzenlerler. En iyi bilineni Bcl-xL'dir. Bcl-xL'nin karaciğer rejenerasyonunda, erken dönemde hepatositleri apoptozdan koruduğu gösterilmiştir. Bcl-xL'nin bir diğer olası görevi ise mitokondri tarafından üretilen SOR'dan kaynaklanan hasara karşı hücreleri korumaktır.

2.5.2.5. Hepatik Rejenerasyonu Başlatıcı ve Aktivatörleri

Karaciğer regenerasyonunun bir takım stimülatör ve inhibitör maddelerin karşılıklı kompleks ilişkileri sonucu regüle edildiği kabul edilmektedir. Sitokinler ve büyüme faktörleri hepatik rejenerasyon ile ilişkili olan biyolojik maddeler olup, hepatik rejenerasyonu uyarıp tetikleyenler ve durduranlar olarak gruplandırılırlar. Sitokinler karaciğer rejenerasyonunun erken fazında rol alarak istirahat halindeki hepatositlerin hücre siklusuna girmesini sağlarlar. Bundan sonra döngünün devam etmesinde, geç G₁ fazının bir noktasında devreye giren büyüme faktörleri etkilidir. G₁ fazından S fazına geçiş ribozom fosforilasyonu ile gerçekleşir (34) (Şekil 19).



Şekil 19. Karaciğer Rejenerasyonu Hücre Siklusu (34).

Büyüme yanıtının başlaması hepatositler ve non-parankimal hücreler, ekstrasellüler matriks(ESM), endokrin, otokrin, parakrin ve nöroregülatuar faktörler, SOR, metabolitler ve besinler arasındaki karmaşık etkileşimler sonucu olmaktadır. Başlatıcı sinyaller EGF, TNF, IL-6, insülin ve matriks değişiklikleri; ilerletici sinyaller ise HGF, TGF, EGF, insülin olarak görülmektedir. Karaciğer kitlesinin yeniden oluşumunu ve büyümeyi sonlandıran mekanizmalar son yıllarda apoptozise doğru yönlendirilmektedir (49).

Karaciğer Rejenerasyonunu Aktive Eden Faktörler:

HGF: Karaciğer rejenerasyonunun kontrol ve düzenlenmesinde yüksek düzeyde mitojenik etki ile önemli rol oynar. Mezenkimal hücreler tarafından üretilir ve hepatositler üzerine endokrin ve parakrin etki gösterir. En çok karaciğer ito ve kupffer hücrelerinde olmak üzere akciğer, dalak, plasenta, beyin gibi birçok dokuda ve plazmada bulunan protein yapısında bir büyüme faktörüdür. Hepatektomiye takiben beş dakika içinde ürokinaz aktive olur ve plazminojenin plazmine dönüşümünde rol alır. Plazmin, matriks yıkıcı metalloproteinazları uyarır. Matriks yıkımı sonucu HGF salgılanır. Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar. İnsanlarda karaciğer rezeksiyonunu takiben 1-3.günler arasında plazma HGF seviyesi maksimuma ulaşır (50). HGF'nin mitojen etkisi sadece hepatositler ile sınırlı olmayıp farklı hücre tipleri üzerine de benzer etkiler yapar (8)

TNF: TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki formu vardır. TNF- α başlıca makrofajlardan salınan klasik formdur ve kaşektin olarak bilinir. TNF β ise lenfosit kaynaklıdır. Lenfotoksin- α olarak anılır. Reseptörleri(TNFR I ve TNFR II) ve etki mekanizmaları aynıdır. TNF, doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma

ve apoptozis süreçlerinde önemli rollere sahip, polipeptid yapıda bir sitokindir. IL-1 ve IL-6, TNF ekspresyonunu inhibe eder. TNF, koşullara bağlı olarak NF- κ B tarafından aktivasyonları düzenlenen hücreler üzerinde promitojenik etkiye sahiptir. Hepatositler için direkt mitojen değildir. HGF gibi direkt mitojenlerin etkilerini artırır. Hepatektomi sonrası TNF plazma düzeyleri artar (51).

IL-6 : Kaynağı T ve B hücreleri, makrofajlar, endotelial hücreler, fibroblastlar, hepatositlerdir. Akut travma ve stres sırasında kan düzeyi yükseldiği için genellikle sistemik inflamatuvar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak kullanılır. Salgılanmasında major etkiyi IL-1 ve TNF- α sağlar, IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından baskılanır. IL-6 sıçanlarda parsiyel hepatektomiden sonra karaciğer rejenerasyonunu uyaran önemli bir mitojen ve antiapoptotik faktördür (52; 34). Rejenerasyon uyarısına cevap verirken, TNF- α aktivasyonu ile etkinlik kazanan IL-6, farklı hedef hücre tipleri üzerine çok yönlü biyolojik aktiviteler gösteren pleiotropik bir sitokindir. Sıçanlarda parsiyel hepatektomiden sonraki 24-48 saatler arasında IL-6'nın serum konsantrasyonu artar (42; 53). IL-6'nın fizyolojik miktarı rejenerasyon için gereklidir ancak, fazla IL-6 büyüme durdurucu onkogenleri uyararak rejenerasyonun bozulmasına neden olabilir (54). İnflamatuvar sitokinlerin önemli kaynağı kupffer hücreleri ve sinüzoidlerdeki endoteldir.

IL-6 ve TNF- α rejenerasyon sırasında çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetikleyen en erken faktörler olarak tanımlanmıştır. IL-6-eksik veya TNF- α reseptörü eksik farelerde, hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonu ertelenir (55) ancak tamamen durmaz (56). Bu nedenle, HGF gibi diğer mitojenler, karaciğer rejenerasyonu sırasında varsayılan hepatik büyüme faktörleri olarak tanımlanmıştır (36).

EGF : Hepatositlerde DNA sentezini uyardığı belirlenen ilk faktördür. Hepatektomi sonrası artan noradrenalin uyarısıyla submandibular bezlerden ve Brunner bezlerinden salınımı artmaktadır (8; 57).

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.

Norepinefrin: α_1 -adrenerjik reseptörler yoluyla direkt EGF'yi arttırarak indirekt yoldan karaciğer rejenerasyonunu artırır.

İnsülin : Primer mitojen olmamasına karşın hücre kültürlerinde diğer büyüme faktörlerinin etkisini arttırmaktadır .

Hepatosit uyarıcı madde(HSS): İn vitro ve in vivo olarak hepatotrofik etkisi vardır (36).

Seks hormonları: Hepatektomi sonrası hepatositlerde östrojen reseptörleri artarken androjen reseptörleri azalmaktadır. Östrojenin hücre kültürlerinde hepatosit bölünmesini artırıcı etkisi vardır (58).

Granülosit Makrofaj Koloni Stimülan Faktör(GM-CSF): Deneysel çalışmalarda hepatic rejenerasyonu arttırdığı, kupffer hücrelerinin diferansiasyon ve proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (36).

Diğerleri : Vasküler endotel büyüme faktörü(VEGF), triiyodotironin(T₃), fibroblast büyüme faktör(FGF), retinoik asit, bazı ilaçlar(barbitüratlar, diazepam, hipolipidemik ajanlar, antiepileptik ajanlar), büyüme hormonu, PGE₂, siklosporin, FK506, vazopressin gibi faktörlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir (59).

Karaciğer Rejenerasyonunu İnhibe Eden Faktörler

TGF- β 1: Bilinen en önemli rejenerasyon inhibitörüdür. İto hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece α_2 makroglobuline bağlı inaktif formdadır, zamanı geldiğinde rejenerasyonu sonlandırır (36).

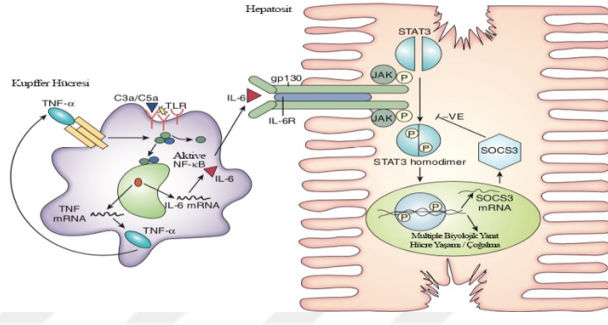
IL-1: Sentezinin kaynağı makrofajlar, B ve T hücreleri, NK hücreleri, endotelial hücreler, epitelyal hücreler, fibroblastlar, osteoblastlar ve dendritik hücrelerdir. TNF α biyosentezini ve salınımını indükler. IL-1'in etkileri TNF- α 'ya benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olur.

2.5.2.6. Karaciğer Rejenerasyonunda Hücre İçi Yollar

Büyüme faktörü ilişkili yolak: Hücre siklusunun G₁ ve S fazları boyunca ilerlemesini sağlar.

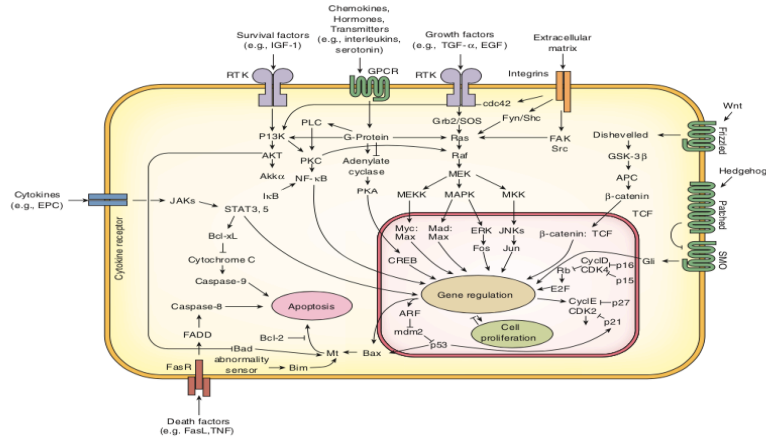
Sitokin yolu: Bu yol sessiz hepatositlerin hücre siklusuna(G₀ fazından G₁ fazına) girişinden sorumludur. TNF- α ve IL-6 gibi sitokinler kendi hücrese reseptörlerine bağlanarak hücre içi sinyallerini iletir. Bu sayede transkripsiyon faktörleri aktiflenir. Büyüme faktörlerinden farkları ise selektif hücre içi sinyal yollarını aktive etme yetenekleridir. Ayrıca bazı hormonların da transkripsiyon faktörlerini etkileyerek rejenerasyonu arttırdığı bilinmektedir. Bunlar: norepinefrin,insülin,seks steroidleridir (Şekil 20).

Metabolik sinyal yolu: Ribozom sentezi ve DNA sentezi gerçekleşir.



Şekil 20. Bağışıklık Sisteminin Bileşenleri ile Uyarılan Kupffer Hücreleri (36).

Tüm bu yollar birbiriyle sıkı bir etkileşim içindedir. IL-6, gp130/IL-6R kompleksi aracılığıyla JAK/STAT3 ve MAPK sinyal yollarını aktive eder. STAT3, hücrelerin G₁'den S fazına ilerlemesi ve hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli olan myc genini aktive etmek için önemlidir. Hücre döngüsü boyunca ilerleme siklinler ve sikline bağlı kinazlar tarafından düzenlenir. Bu işleme feedback sinyalleri, IL-6 tarafından da düzenlenen sitokin sinyalleme 3(SOCS 3) ve TGF- β ' nin baskılanması ile sağlanır (36) (Şekil 21).



Şekil 21 . Karaciğer Rejenerasyonunda Hücre İçi Yolaklar (36)

Yukarıda gösterildiği gibi karaciğer rejenerasyonunun başlatılması güçlü inflamatuvar hücre sinyalleri ile ilişkilidir. Bu inflamasyonun rejeneratif yolakların ilerlemesine izin vermek için kontrol edilmesi gerekir. NF-κB inhibitörü ve ubiquitin düzenleyici A20 proteini(TNFAIP3), karaciğerin yaralanmaya, özellikle de antiinflamatuvar silahlanmaya karşı koruyucu tepkisinde kilit bir rol oynar. A20 proteini, PH sonrasında karaciğerde önemli ölçüde upregüle edilir; NF-κB'yi inhibe ederek hepatositleri apoptozdan ve devam eden inflamasyondan korur (36). A20 temelli tedaviler, karaciğer rezeksiyonu sonrası karaciğer yetmezliğinin önlenmesi ve tedavisinde faydalı olabilir.

Sitokin kaynaklı NOS formunun(iNOS), IL-6 ve TNF-α aracılı kontrolsüz bir inflamatuvar reaksiyonun neden olduğu SOR'un atılmasında ve apoptozdan korunmada da önemli bir rol oynadığı görülmektedir (51).

2.5.2.7. Karaciğerin Yeniden Şekillendirilmesi

Rejenerare karaciğer dokusunun yeniden modellenmesi, endotel hücreler, stellat hücreler ve safra epitelyal hücreleri gibi parankimal olmayan hücrelerin yeniden toplanması ve olgunlaşması ile başlar. Yeni oluşan hepatositler, çoğalan endotel hücrelerinin yeni sinüzoidler oluşturmak için istila ettiği kümeler oluşturur. Yıldız hücreleri, endotel hücreleri ve hepatositler arasında bulunan normal mimariyi, karaciğer ESM üretimini düzenleyebilen ESM proteinlerini ve TGF-β1' i sentezler. VEGF, anjiyopietinler 1 ve 2, TGF-α, FGF-1,2 ve HGF'nin tümü anjiyojenik sürece dahil olabilir. ESM'nin yeniden modellenmesi

ürokinaz/plazminojen yolunun ve membrana bağlı MMP yolunun aktivasyonu ile ilişkilidir. MMP-9, karaciğer yeniden modellenmesi ve rejenerasyonu sırasında en aktif proteinlerden biridir. HGF, EGF ve TGF-21 ile kombinasyon halinde MMP' ler, kollajen, fibronektin, laminin ve entaktin gibi birkaç ESM proteininin seviyelerini değiştirerek ESM'yi yeniden modelleme görevi görür. ESM'nin olgunlaşması ve kalınlaşması, hepatositlerin çoğalması üzerinde potansiyel olarak hızlı rejenerasyonun sona erdiğine işaret eden inhibe edici bir etkiye sahip gibi gözükmektedir.

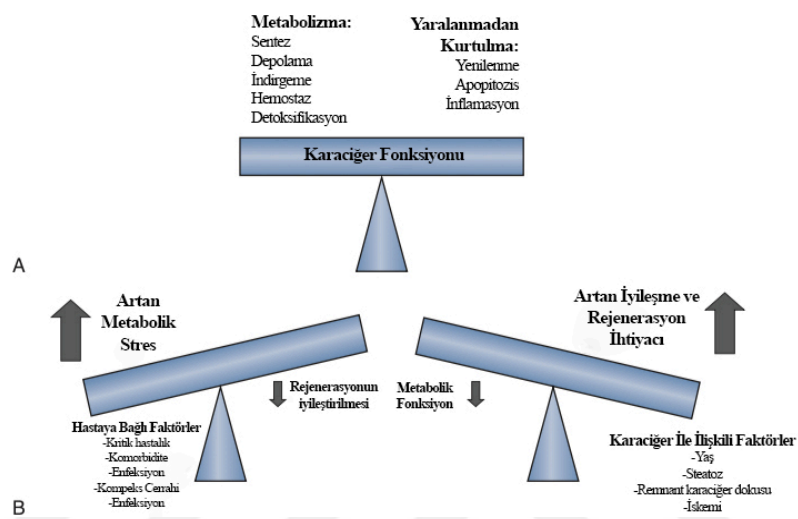
ESM stromal hücreleri çevreleyen kompleks makromoleküler yapıda bir ağ örgüsü olup çoğunluğu endotelial ve epitelial hücrelerin altında bulunur. Sadece fiziksel bir platform olmayıp hücre bağlantıları, migrasyon, diferansiasyon ve onarım modülatörüdür. Hepatik lobül içinde bulunan üç hücre tipi ESM komponentlerini sentez ve sekresyon yeteneğine sahiptir. Bunlar hepatositler, endotel hücreleri ve İto hücreleridir. Hepatositler kollajen sentezi için gerekli olan mRNA'yı içermektedir. Sinüzoidal endotel hücrelerinin kollajen tip I, III, IV ve laminin antijenlerini içerdiği gösterilmiştir. İto hücrelerinin ise ESM komponentlerini sentez ve sekrete etme yeteneğine sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (36).

ESM, karaciğer rejenerasyonunda hücre/ESM etkileşimleri nedeniyle yaşamsal öneme sahiptir. Buna karşın parsiyel hepatektomi sonrası ilk 24 saatte ESM'de kayda değer bir değişiklik saptanmamıştır (36). Mitotik aktivite; lamininin depolandığı posthepatektomi dördüncü günde azalmaya başlamaktadır. ESM, hepatektomi sonrası 10.günde matür karaciğer karakteristiklerine ulaşmakta, normal dağılımı ve yeni sinüzoid oluşumları tamamlanmaktadır (36) .

2.5.2.8. Rejenerasyon Sırasında Karaciğer Fonksiyonunun Korunması

Hacim kaybından sonra, hepatositler hızla adapte olmalıdır. Kayıp karaciğer kütlelerinin geri kazanılması, doku hasarını onarma ve inflamasyonu çözme başarısı, karaciğerin normal metabolik fonksiyonunu destekleme yeteneğini belirler ve karaciğerin rejenerasyon yeteneğini etkiler. Bağlı sesisizlik zamanında, karaciğerde metabolik fonksiyon ve gerektiğinde yeniden yapılanma arasında bir denge vardır. Stres/yaralanma/rezeksiyon

sonrası metabolik fonksiyon, rejenerasyon ve iyileşmeye artan bir ihtiyaç vardır. Hastadaki koşulların bir sonucu olarak metabolik ihtiyaç büyükse, karaciğerde yeterince yenilenmesi için yeterli enerji dengesi olmayabilir ve karaciğer iyileşmeyebilir. Rejenerasyon ve onarım gereksinimleri çoksa, metabolik fonksiyon azalabilir ve bu da hastanın sonucunu etkiler(Şekil 22)



Şekil 22. Rejenerasyon ve Karaciğer Fonksiyonunun Sürdürülmesi Arasındaki Metabolik Denge **A.** Bağlı Sessizlik Zamanlarında **B.** Stres/Yaralanma/Rezeksiyon Sonrası (36).

Eksprese edilen erken genlerin birçoğu, kayıp glikojen içeriğini telafi etmek ve tüm organizma için yeterli glikozu üretmek için PH'dan sonra önemli bir süreç olan glukoneogenezin düzenlenmesinde rol oynayan enzimleri ve proteinleri kodlar. Glukoneogeneze karşı çıkan genlerin ekspresyonunda azalma hepatektomi sonrası hızla ortaya çıkar. İnsülin, insülin reseptörünün aracılık ettiği güçlü bir büyüme faktörü olabilir. Karaciğere özgü transkripsiyon faktörleri, hepatosit nükleer faktörleri; glikoz üretimi, yağ asidi metabolizması ve karaciğere spesifik salgılanan proteinlerin seviyesini belirlemede önemli bir role sahiptir.

Erken rejenerasyon sırasında karaciğerde yağ birikimi gözlenir. Geçici steatozdan sorumlu mekanizmalar ve bunun fonksiyonel önemi belirlenmemiştir. Hepatoselüler yağ birikiminin baskılanması, PH sonrası bozulmuş hepatoselüler proliferasyon ile ilişkilidir. Hepatosellüler yağ birikiminin normal karaciğer rejenerasyonu sırasında spesifik olarak düzenlendiğini ve gerekli olabileceğini gösterir. PH sonrası vitamin tedavisi ile lipid peroksidasyon seviyelerinin azaltılmasının hücrel apoptozda bir zayıflama ve

proliferasyon sürecinde belirgin bir artışa yol açtığını göstermektedir, bu da lipit peroksidasyonunun(LPO) modülasyonunun karaciğer rejenerasyon sürecinde rol oynadığını düşündürmektedir (9).

PH sonrası bölünen ve çoğalan periportal bölgelerdeki hepatositlerde mitokondriyal yağ asidi beta-oksidasyonu gözlenir. PPAR-a, karaciğer hasarı ve rejenerasyonunun onarımı için gerekli ve enerji akışını kontrol eden önemli bir modülatör olabilir.

SIRT1, düşük enerji mevcudiyeti durumlarında etkinleştirilir ve beslenme durumunu metabolik homeostazı sağlar. Adenozin monofosfatla(AMP) aktive edilmiş protein kinazı (AMPK) düzenler. SIRT1'in aksine, rapamisinini memeli hedefi(mTOR) yüksek enerji koşullarında aktive edilir; hücre büyümesini ve proliferasyonunu kontrol eder. mTOR protein sentezini artırır ve PH sonrası karaciğer rejenerasyonu sırasında hücre döngüsünü düzenlemek için gereklidir.

2.5.2.9. Rejenerasyonun Sona Ermesi

Karaciğerde en iyi bilinen rejenerasyonu önleyici faktörler TGF- β ve aktivin gibi ilgili aile üyeleridir. TGF- β esas olarak hepatik stellat hücreler tarafından üretilir, ancak erken safhada, SKI proto-onkogen(SKI) ve SKI benzeri protoonkogen(SnoN) ile inhibe edici kompleksler oluşturur ve hepatositleri başlangıçta TGF- β dirençli hale getirir. Smad2/3/4 kompleksi çekirdeğe yerleşir ve hücre döngüsünü negatif olarak düzenleyen hedef genleri aktive eder. SOR, İ/R sonrası azalmış rejenerasyona neden olabilecek TGF- β 'nin sentezini ve aktivasyonunu artırır. Benzer şekilde aktivin A, hepatosit mitogenezini bloke eder. Aktivin reseptör mRNA ekspresyon seviyesinin, PV ligasyonu ve PH'te rejenerasyon büyüklüğünde önemli bir belirleyici olduğu gösterilmiştir.

SOCS'ler, STAT proteinlerinin tirozin fosforilasyonunu önleyen sitokin sinyalleşmesinin önemli negatif düzenleyicileridir. Ayrıca, karaciğer proliferasyonunun önemli bir düzenleyicisi olan C/EBP'nin rejenerasyonun sona ermesindeki rolü gösterilmiştir. C/EBP ve kromatin yeniden modelleme proteinlerinin uygun iş birliği, ameliyattan sonra karaciğer rejenerasyonunun sona ermesi ve karaciğer fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli görülmektedir (36).

2.6. Kalsiyum Dobesilat

Kalsiyum Dobesilat(KD); sentetik bir sülfobenzen derivesi olup 2,5-dihidroksi benzen sülfonik asidin kalsiyum tuzudur. Diyabetik retinopati, kronik venöz yetmezlik ve çoklu mikroanjiyopatik hastalıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Anjiyoprotektif bir ajan olarak kabul edilir. Prostaglandinlerin ve tromboksanların sentezini inhibe ederek trombosit ve eritrosit agregasyonunun yanı sıra kan viskozitesini azaltır. Adenilat siklazın aktivasyonu yoluyla trombosit cAMP seviyelerini artırır ve bu yolla trombosit agregasyonunu önler. Antioksidan özelliklere sahiptir (60). KD'nin oksijensiz bir radikal temizleyici olduğu ve hem in vitro hem de in vivo hayvan modellerinde serbest radikal üretimini engellediği kanıtlanmıştır. Bu nedenle kılcal hücrelerdeki ve inflamatuvar kaskadlardaki oksidatif hasarı önlediğine inanılmaktadır. Sadece bir antioksidan görevi görmekle kalmaz, aynı zamanda endotel nitrik oksit üretimini de uyarır (61). Serotonin, bradikinin ve histaminin neden olduğu kılcal geçirgenliği inhibe eder (62). KD'nin ayrıca inflamatuvar hücrelerin yüzeylere yapışmasını azalttığı ve NF-KB ve p38 MAPK aracılı lökosit adezyonunu retinal damarlarda inhibe ettiği gösterilmiştir. Apoptoz ve inflamatuvar faktörlerin inhibe edilmesinde de rol oynar (63).

Oral yolla alımını takiben 6 saatte pik seviyesine ulaşır. KD'nin yarılanma ömrü 5 saattir. Metabolize olmadan idrar yolu ile atılır (64; 65).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmaya Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'undan 02/10/2019 tarih 36 sayılı kararı ile uygunluk alındıktan sonra başlandı. Çalışma süresince Helsinki deklarasyonunda yer alan laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımı ile ilgili prensipler uygulandı.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen, 36 adet Spraque Dawley erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar optimum laboratuvar koşulları (12 saat aydınlık/karanlık döngüsü ile 21 °C'lik sabit bir sıcaklıkta) altında normal standart yem ile ad libitum olarak beslendi. Hiçbir sıçana deney süresince parenteral veya enteral antibiyotik uygulanmadı. Deneyden önceki gece su serbest olmak üzere sıçanlar 12 saat aç bırakıldı. Anesteziden 2 saat önce suya erişimleri durduruldu.

3.1.1. Çalışma Grupları

Sıçanlar randomize olarak her biri 9 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grupları:

Grup 1 : Grup 3'ün kontrol grubu olarak planlandı. Operasyondan 2 saat önce ilk doz olacak şekilde 2 ml/gün salin oral gavaj yoluyla verildi.

Grup 2 : Grup 4'ün kontrol grubu olarak planlandı. Operasyondan 2 saat önce ilk doz olacak şekilde 2 ml/gün salin oral gavaj yoluyla verildi.

Çalışma Grupları:

Grup 3: 2 günlük çalışma grubu olarak planlandı. Operasyondan 2 saat önce 100 mg/kg/gün dozunda KD oral gavaj yoluyla verildi.

Grup 4: 7 günlük çalışma grubu olarak planlandı. Operasyondan 2 saat önce 100 mg/kg/gün dozunda KD oral gavaj yoluyla verildi.

3.2. Anestezi ve Cerrahi Prosedür

2 saatin sonunda tüm sıçanlara intraperitoneal 50 mg/kg ketamin(Ketalar®, Parke Davis and Co. Inc.) ve 10 mg/kg Xylazine(Rompun®, Bayer Ag, Leverkusen, Germany) ile anestezi sağlanıp, deney süresince spontan solunuma bırakıldı. Anestezi ve cerrahi müdahale aynı ekip tarafından steril koşullar altında gerçekleştirildi. Anestezi sonrası sıçanlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Karın tüyleri cilde hasar vermemeye özen gösterilerek traş edildi. Sıçanlar supin pozisyonda yatırıldı. Karın bölgesine povidon iyot ile cerrahi alan temizliği yapıldıktan sonra steril delikli cerrahi örtü serilerek işleme başlandı. 15 numara bisturi kullanılarak ortalama 2 cm uzunluğunda üst orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı(Şekil 23). Karaciğerin sol lateral ve median lob pedikülleri bulundu(Şekil 24). Karaciğer dokusu hasarlanmadan batın dışına alındı ve 3/0 poliglaktin(Vicryl®) suturele bağlanarak Higgins ve Anderson tarafından tanımlandığı şekilde %70 PH gerçekleştirildi (35) (Şekil 25). Çıkarılan karaciğer dokusu tartılarak ağırlığı kaydedildi. Kanama kontrolünün ardından batın 3/0 poliglaktin(Vicryl®) suture ile devamlı tek kat üzerinden kapatıldı. İşlem sonrası 24. saatten itibaren oral su ve diyet alımına izin verildi.



Şekil 23. Laparotomi



Şekil 24. Karaciğerde eksize edilecek sol lateral ve medial lob



Şekil 25. Parsiyel hepatektomi

Postoperatif 2 gün devam edecek şekilde Grup 1'e 2 ml/gün salin, Grup 3'e 100mg/kg/gün KD oral gavaj yoluyla verildi. Postoperatif 7 gün devam edecek şekilde Grup 2'ye 2 ml/gün salin, Grup 4'e 100 mg/kg/gün dozunda KD oral gavaj yoluyla verildi.

Grup 1-3'e, 2.günün sonunda, Grup 2-4'e, 7.günün sonunda intraperitoneal anestezi sonrası relaparotomi uygulandı. Önce abdominal aorta bulundu. Kelebek setli intraket yerleştirildi. Biyokimyasal parametreler için ortalama 1.5 ml standart biyokimya tüpüne kan alındı. Alınan kan örnekleri 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Sonrasında karaciğer perfüzyonu için intraket yardımıyla aortaya yüksek volümlü %0.09 NaCl verildi. Karaciğer perfüzyonu sağlandıktan sonra abdominal aortadan yüksek volümde kan alınıp hipovolemi yoluyla sakrifikasyon sağlandı. Kalan karaciğer dokusu bütünlüğü bozulmadan çıkarıldı. Darası alınmış hassas terazide tartılarak ağırlığı not edildi. Karaciğer doku örnekleri alınarak SOD(süperoksit dismutaz), GSH(Glutatyon) ve MDA(Malondialdehit) ölçümleri için analiz gününe kadar -80°C'de saklandı. Kalan karaciğer doku örnekleri histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalinde tespit edildi.

3.3. Araştırma Parametreleri

3.3.1. Biyokimyasal Parametreler

Biyokimyasal değerlendirme Sakarya Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Tüm sıçanlardan sakrifikasyon öncesi standart biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Sakrifikasyon sonrası alınan karaciğer doku örneklerinde ve serumda GSH,

SOD, MDA düzeyleri ölçülerek oksidatif hasar değerlendirildi. Hem doku hem de serumda değerlendirilecek parametreler için *Rat Süperoxidase Dismutase Elisa Kit*, *Rat Malondialdehyde Elisa Kit*, *Glutathione Elisa Kit*(YLBiont®) kullanıldı. Ölçülen sonuçlar serumda SOD ve GSH için ng/ml, MDA için nmol/ml; dokuda SOD ve GSH için ng/mgdoku, MDA içinse nmol/mgdoku olarak ifade edildi.

3.3.2. Rejenerasyon Oranı

Hepatektomi sırasında rezeke edilen %70'lik karaciğer dokusu tartıldı ve tüm karaciğer ağırlığı şu şekilde hesaplandı; “**Rezeke edilen doku (gram)** = 0.70 x başlangıçtaki tüm karaciğer ağırlığı(gram)”. Bu formül ile tüm sıçanların karaciğerlerinin rezeke edilmeden önceki ağırlıkları tahmini olarak hesaplandı. PH'den 2 ve 7 gün(gruplara göre) sonra remnant karaciğer dokusu sakrifikasyon sonrası çıkarılarak tartıldı.

“**Karaciğer rejenerasyon oranı (%)** = Remnant karaciğer ağırlığı / Tüm karaciğer ağırlığı x 100” formülüyle hesap edildi. Bu formül, *Kwon Formülü* (66) olarak adlandırılmaktadır.

3.3.3. Histopatolojik Parametreler

Alınan karaciğer dokularının ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal incelemeleri Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Değerlendirilen parametreler; karaciğer dokusunda Hemotoksilen Eozin(HE) ve Masson Trikrom(MTT) boyama ile karaciğerdeki histopatolojik değişiklikler, TUNEL boyama ile apoptotik indeks(Aİ) ve immünohistokimyasal boyama ile Ki67 ekspresyonu olarak belirlendi.

3.3.3.1. Işık Mikroskopik İnceleme

Deneklerden karaciğer doku örnekleri alındı ve karaciğer dokuları 48 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 dokuları

şeffaflaştırmak için ksilol serilerinden geçirildi. Ksilol takibinden sonra parafin kabında tutulan dokular parafin gömme işlemine alındı. Mikrotom kullanılarak 4 mikronluk kesitler alındı. Karaciğerdeki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler HE ve MTT ile boyandı. Işık mikroskopunda(Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

Çalışmada histopatolojik incelemeleri yaparken, *Suzuki Skorum Sistemi* (67) kullanıldı. Bu skorum sisteminde; sinüzoidal konjesyon, karaciğer hücre vakuolizasyonu ve hepatosit nekroz derecesi 0'dan 4'e kadar skorlanmaktadır.

Tablo 1. Suzuki Skorum Sistemi (67)

| Skor Değeri | Sinüzoidal konjesyon | Nekroz | Vakuolizasyon |
|-------------|----------------------|-------------------|---------------|
| 0 | Yok | Yok | Yok |
| 1 | Hafif | Tek Hücre Nekrozu | Hafif |
| 2 | Orta | %30 | Orta |
| 3 | Şiddetli | %60 | Şiddetli |
| 4 | Aşırı | >%60 | Aşırı |

3.3.3.2. TUNEL Boyama ile Apoptotik İndeks:

Parafin bloklardan lam üzerine alınan 5 µm'lik kesitler bir saat 37°C'lik etüvde tutulduktan sonra toluolde 3 kez 5 dakika bekletilerek parafinden iyice arındırılarak azalan alkol serilerinden(%100, %95, %70) üçer dakika geçirilip distile suya aktarıldı. Beş dakika distile suda tutulan kesitlere daha sonra antijen uygulaması öncesi 15 dakika oda ısısında proteinaz K(20 µg/ml, Chemicon, 21627) uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitler endojen peroksidazı bloklamak için metanolde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit(H₂O₂)'de 5 dakika bekletildi. Distile su ve fosfat buffer solüsyonu(PBS) ile çalkalandıktan sonra lam üzerinde kesitlerin etrafı hidrofobik kalem(Zymed,00-8899) ile çizilerek havuz oluşturuldu ve kesitlere 5 dakika oda ısısında dengeleme tamponu uygulandı. Daha sonra kesitler 37°C'de terminal deoksiniükleotidil transferaz enziminde 1 saat bekletildikten sonra durdurma/yıkama tamponuyla 15 saniye çalkalandı ve oda ısısında 10 dakika bekletildi. Üç kez PBS'de yıkanan kesitlere antidigoksinin konjugatı uygulandı ve oda ısısında 30 dakika tutuldu. Kesitlere üç kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dakika diaminobenzidin kromojen

solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 10 dakika metil green uygulanarak zıt boyama yapıldı. Distile sudan hızla geçirilen kesitler %100 N-Butanol'den de hızla geçirildi. Dehidrate edildikten sonra 3 kez ikişer dakika toluolde tutuldu. En son kapatma solüsyonu konularak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı.

Apoptotik indeks(Aİ) için 30 büyük büyütme sahasındaki TUNEL ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı. Daha sonra her 100 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

$$\text{Apoptotik indeks(Aİ)} = (\text{apoptotik hücre sayısı}) / (\text{toplam hücre sayısı}) \times 100$$

3.3.3.3. İmmünohistokimyasal inceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için karaciğer dokusundan 4 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben, sitrat buffer antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dakika kaynatıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Bu aşamadan sonra endojen hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için %3'lük H₂O₂ ile 20 dakika muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS (ph:7,6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum(Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli ortamda 1/300 oranında sulandırılmış primer antikor ile bir saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikor, *mouse monoclonal Ki-67 antikor* (MS-106-B, Thermo LabVision, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dakika sekonder antikor solüsyonunda(Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dakika streptavidin peroksidaz solüsyonu(Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dakika kromojen solüsyonu(LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 30 saniye Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dakika yıkanan kesitler kapatma solüsyonu(Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) uygulayarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı. İmmünohistokimyasal(İHK) olarak Ki-67 ekspresyonuna bakıldı. İHK boyama yöntemi olarak streptoavidin-biotin boyama tekniği kullanıldı. Ki-67

değerlendirilmesi için 200X büyütmede 500 hücre sayıldı. Tüm preparatlarda Ki-67 boyanması gösteren hücrelerin sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde(%) olarak hesaplandı.

3.4. İstatistik

Verilerin tanımlayıcı istatistikleri; ortalama, standart sapma, frekans ve yüzde değerleri olarak verildi. Nicel değişkenlerin normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Farklı tedavi sürelerine sahip ilaç ve plasebo verilen sıçanlar arasında ilgili değişkenler bakımından fark olup olmadığı iki-yönlü ANOVA yöntemi ile analiz edildi. İki-yönlü ANOVA sonucunda etkileşim anlamlı bulunan değişkenler için çalışma grupları tek-yönlü ANOVA yöntemi kullanılarak karşılaştırıldı. Tek-yönlü ANOVA sonucu anlamlı ise grupların ikili karşılaştırma sonuçları Bonferroni düzeltmeli olarak verildi. Kategorik değişkenler arası ilişkiler Pearson ki-kare testi ile incelendi.

İstatistiksel analizler, IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlendi(etkileşim için $p < 0,10$ alındı).

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER

4.1.1. Serum SOD

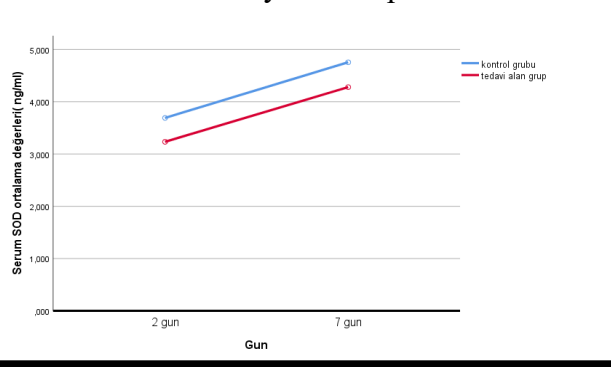
Antioksidan mekanizmanın değerlendirilmesinde kullanılan serum SOD düzeyi kontrol grupları(2. ve 7.gün) arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu.(Sırasıyla $3,69 \pm 0,48$ vs $4,75 \pm 2,75$; $p:0,13$). Tedavi ve çalışma grupları karşılaştırıldığında hem 2 hem de 7 gün KD verilen gruplarda serum SOD düzeyi düşük ölçülmesine rağmen aradaki fark istatistiksel anlamlı değildi ($p=0,50$) (Tablo 2) (Şekil 26).

Tablo 2. Serum SOD Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|------|-------|
| Kontrol Grupları | Grup 1 | 3,69 | 0,48 | |
| | Grup 2 | 4,75 | 2,75 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 3,23 | 0,60 | |
| | Grup 4 | 4,28 | 2,21 | |
| Tedavi | | | | 0,50 |
| Gün | | | | 0,13 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,98* |

*Serum SOD değeri için tedavi*gün etkileşimi yoktur ($p:0,98$).

Şekil 26 . Serum SOD Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi



4.1.1. Doku SOD

Karaciğer doku SOD düzeyi ölçümünde kontrol grupları(2. ve 7.gün) arasında istatistiksel anlamlı farklılık vardı.(Sırasıyla $2,20 \pm 0,59$ vs $1,20 \pm 0,30$; $p:0,001$). İki gün ve 7 gün KD verilen gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı farklılık olacak şekilde daha yüksekti ($p=0,03$).

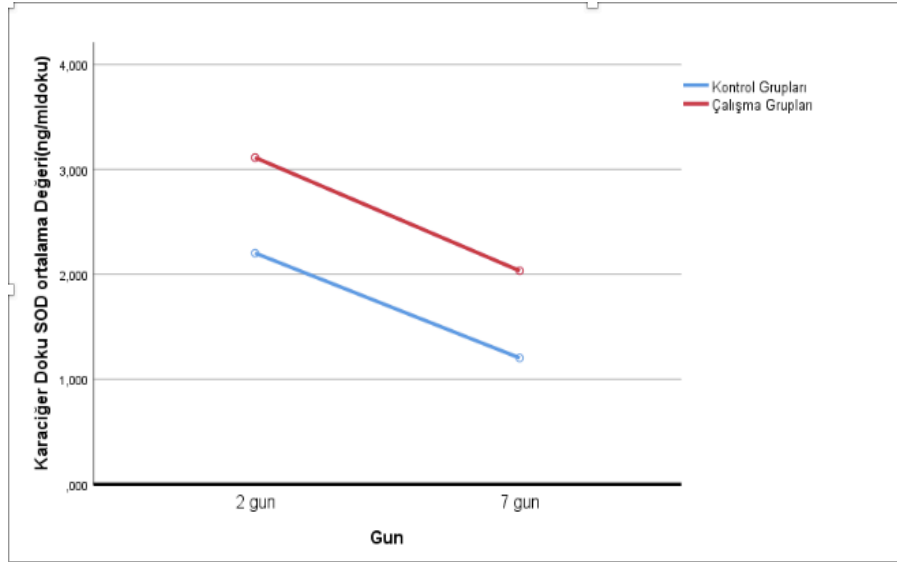
Tüm gruplardan sakrifikasyon sonrası alınan doku örneklerinde çalışılan SOD düzeyleri ortalama, standart sapma değerleri ile tedavi*gün etkileşimi Tablo 3 ve Şekil 27'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Karaciğer Doku SOD Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|------|--------|
| Kontrol Grupları | Grup 1 | 2,20 | 0,59 | |
| | Grup 2 | 1,20 | 0,30 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 3,11 | 1,09 | |
| | Grup 4 | 2,03 | 0,79 | |
| Tedavi | | | | 0,003 |
| Gün | | | | 0,001 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,881* |

*Doku SOD değeri için tedavi*gün ile etkileşimi yoktur.($p:0,881$)

Şekil 27. Karaciğer Doku SOD Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi



4.1.2. Serum GSH

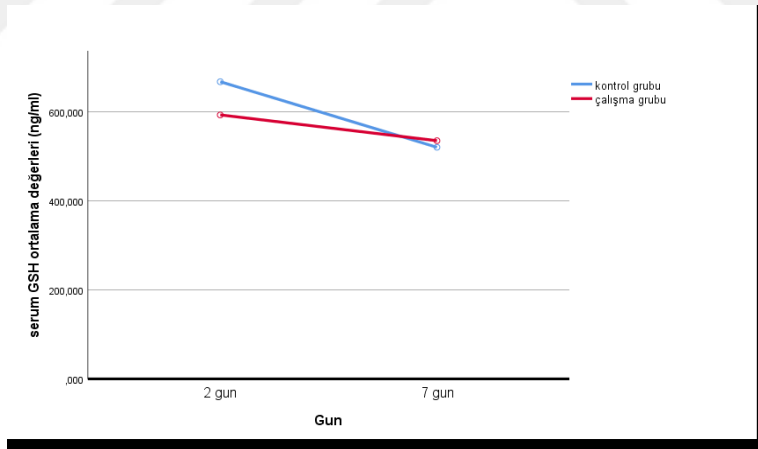
Oksidatif strese karşı savunma mekanizmasının önemli göstergelerinden olan GSH'ın serum değeri ölçümünde kontrol grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı(p:0,14). Tedavi ve kontrol grupları karşılaştırıldığında ise 2.günde KD tedavisi almayan grupta ve 7.günde ise KD tedavisi alan grupta yüksek ölçülmesine rağmen istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p:0,66) (Tablo 4) (Şekil 28).

Tablo 4. Serum GSH Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|--------|-------|
| Kontrol grupları | Grup 1 | 667,42 | 156,01 | |
| | Grup 2 | 520,22 | 165,04 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 592,85 | 98,68 | |
| | Grup 4 | 535,00 | 278,93 | |
| Tedavi | | | | 0,66 |
| Gün | | | | 0,14 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,51* |

*Serum GSH düzeyi için tedavi*gün etkileşimi yoktur (p:0,51)

Şekil 28. Serum GSH Düzeyinin Gruplarda Günlere Göre Değişimi



4.1.3. Doku GSH

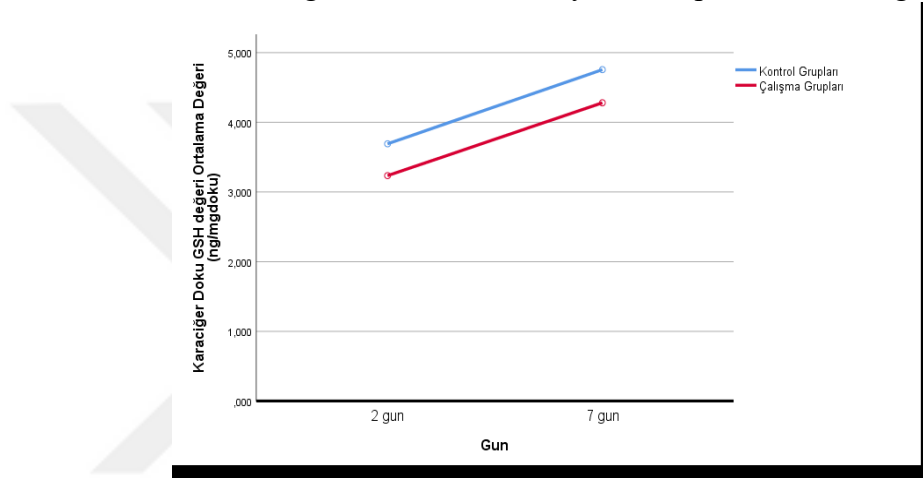
Karaciğer doku GSH değeri kontrol grupları ve bu grupların çalışma gruplarıyla karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Gruplara ait veriler Tablo 5 ve Şekil 29'da gösterilmiştir.

Tablo 5. Karaciğer Doku GSH Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|------|-------|
| Kontrol Grupları | Grup 1 | 3,69 | 0,48 | |
| | Grup 2 | 4,75 | 2,75 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 3,23 | 0,60 | |
| | Grup 4 | 4,28 | 2,21 | |
| Tedavi | | | | 0,50 |
| Gün | | | | 0,13 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,98* |

*Doku GSH düzeyi için tedavi*gün etkileşimi yoktur (p:0,98).

Şekil 29. Karaciğer Doku GSH Düzeyinin Gruplarda Günlere göre Değişimi



4.1.4. Serum MDA

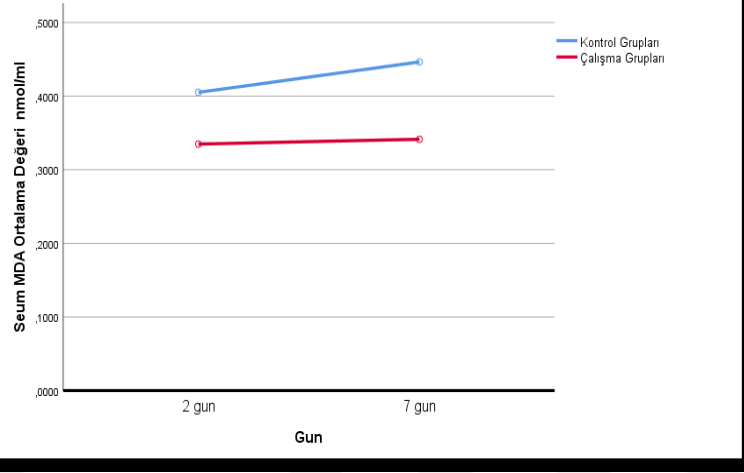
Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyinin serumdaki ölçümlerinde kontrol grupları arasında istatistiksel farklılık yoktu (p=0,73). KD verilen gruplarda kontrol gruplarına göre günden bağımsız olarak serum MDA düzeyi daha düşük saptandı. Ancak aradaki fark istatistiksel anlamlı değildi (p=0,22) (Tablo 6) (Şekil 30)

Tablo 6. Serum MDA Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|------|-------|
| Kontrol Grupları | Grup 1 | 0,40 | 0,22 | |
| | Grup 2 | 0,44 | 0,20 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 0,33 | 0,22 | |
| | Grup 4 | 0,34 | 0,08 | |
| Tedavi | | | | 0,22 |
| Gün | | | | 0,73 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,80* |

*Serum MDA düzeyleri için tedavi*gün etkileşimi yoktur (p:0,80).

Şekil 30. Serum MDA Düzeyinin Graplardaki Ortalama Değerleri



4.1.5. Doku MDA

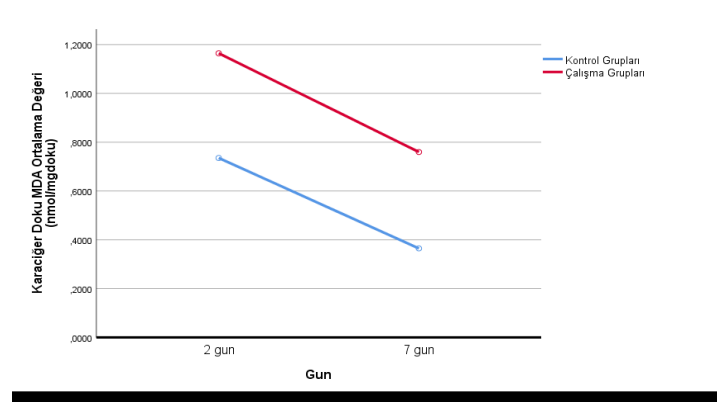
Karaciğer doku MDA düzeyinin kontrol gruplarında 2.günden 7.güne azaldığı gösterilmiştir (p:0,001). Hem 2.gün hem de 7.günde çalışma gruplarında kontrol gruplarına göre MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olmak üzere yüksekti (p:0,001) (Tablo 7) (Şekil 31).

Tablo 7. Karaciğer Doku MDA Düzeyi için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|------------------|---------|----------|------|-------|
| Kontrol grupları | Grup 1 | 0,73 | 0,13 | |
| | Grup 2 | 0,36 | 0,16 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 1,16 | 0,48 | |
| | Grup 4 | 0,75 | 0,27 | |
| Tedavi | | | | 0,001 |
| Gün | | | | 0,001 |
| Tedavi*Gün | | | | 0,87* |

*Karaciğer doku MDA düzeyi için tedavi*gün etkileşimi yoktur (p:0,87).

Şekil 31. Karaciğer Doku MDA Düzeyinin Gruplardaki Ortalama Değerleri



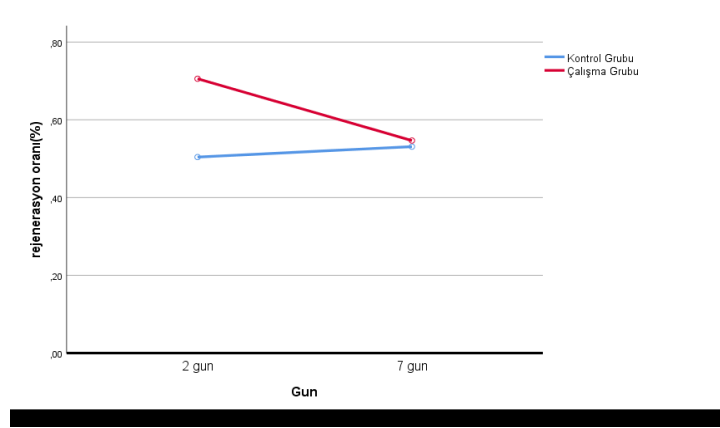
4.2. Rejenerasyon Oranı :

Kwon formülüne (66) göre hesaplanan RO'da; Çift yönlü varyans analizi ile RO için tedavi*gün etkileşimi vardır ($p:0,001$) (Tablo 8). Gruplar arası tek yönlü varyans analizinde de istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0,001$) (Tablo 9). Kontrol gruplarında 7.gün rejenerasyon oranı 2.güne göre yüksek bulundu ($0,50 \pm 0,005$ vs $0,53 \pm 0,003$) Ancak fark anlamlı değildi ($p:0,66$). 2.günde KD verilen grupta kontrol grubuna göre RO yüksek ve istatistiksel olarak da bu farklılık anlamlı saptandı ($p<0,001$) 7.gündeki çalışma ve kontrol grupları karşılaştırıldığında yine KD tedavisi verilen grupta kontrol grubuna göre yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,667$) KD verilen 2.gün grubunda 7.gün grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$) (Tablo 10) (Şekil 32)

Tablo 8. Rejenerasyon Oranı için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Ortalama | SS | P |
|------------|----------|------|-------|
| Grup 1 | 0,50 | 0,05 | |
| Grup 2 | 0,53 | 0,03 | |
| Grup 3 | 0,70 | 0,13 | |
| Grup 4 | 0,54 | 0,04 | |
| Tedavi*Gün | | | 0,001 |

Şekil 32. RO'nun Gruplarda Günlere Göre Değişimi



Tablo 9. Tek Yönlü Varyans Analizi ile Gruplar Arası Karşılaştırma

| | Ortalama | SS | P* |
|---------------|----------|------|----------|
| Grup 1 | 0,50 | 0,05 | |
| Grup 2 | 0,53 | 0,03 | |
| Grup 3 | 0,70 | 0,13 | |
| Grup 4 | 0,54 | 0,04 | |
| Gruplar arası | | | P <0.001 |

Tablo 10 . Grupların İkili Değerlendirilmesi

| Gruplar | P | P* |
|--------------------|-------|--------|
| Grup 1 Grup 2 | 1,000 | 0,667 |
| Grup 1 Grup 3 | 0,001 | <0,001 |
| Grup 2 Grup 4 | 1,000 | 0,667 |
| Grup 3 Grup 4 | 0,001 | <0,001 |

*: Bonferroni düzeltmesi

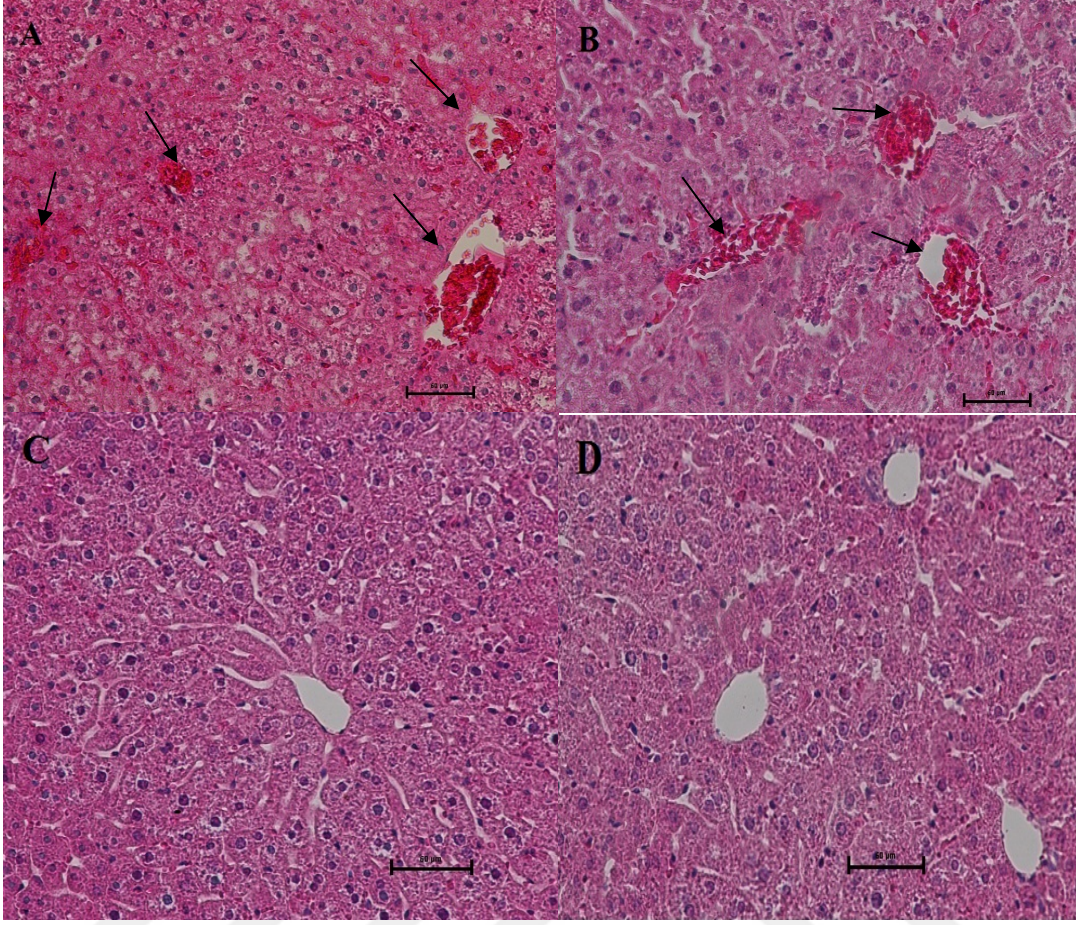
4.3. HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER

4.3.1. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değişiklikler *Suzuki* Skorlama Sistemi'ne (67) göre derecelendirildiğinde sinüzoidal konjesyon çalışma gruplarında yok(%56,5) veya hafif(%44,4), kontrol gruplarında ise orta(%50) veya şiddetli(%50) düzeyde gözlendi ($p < 0,001$). KD verilen gruplarda nekroz ve vakuolizasyon hiç gözlenmedi. Yukarıda belirtilen veriler Tablo 11'de verilmiştir. Karaciğer dokusunda Suzuki Skorlama Sistemi'ne (67) göre gözlenen histopatolojik değişiklikler Şekil 33'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Kontrol ve Çalışma Gruplarının Pearson Ki-Kare Testi ile Değerlendirilmesi

| | Kontrol Grubu (%,n) | Çalışma Grubu (%,n) | P |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|-----------|
| Sinüzoidal konjesyon | | | P < 0,001 |
| 0 | - | %56,6(10) | |
| 1 | - | %44,4(8) | |
| 2 | %50(9) | - | |
| 3 | %50(9) | - | |
| Nekroz | | | P < 0,001 |
| 0 | %29,4(5) | %100(18) | |
| 1 | %70,6(12) | - | |
| Vakuolizasyon | | | 0,034 |
| 0 | %77,8(14) | %100(18) | |
| 1 | %22,2(2) | - | |



Şekil 33. Karaciğer Dokusu Histopatolojik Değerlendirme(H.E ile boyanmış 200x büyütme) **A.** Grup 1; Sentral vende sinüzoidlerde yoğun konjesyon(siyah ok) **B.** Grup 2; Sentral vende sinüzoidlerde yoğun konjesyon(siyah ok) **C ve D.** Sırasıyla Grup 3 ve 4'te normal sentral ven ve sinüzoid alanları görülmektedir.

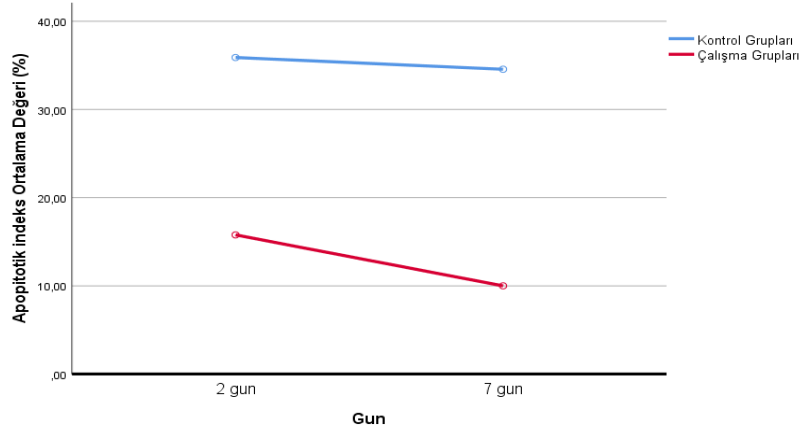
4.3.2. Apoptotik indeks

TUNEL boyama ile değerlendirilen Aİ için çift yönlü varyans analizi ile tedavi*gün etkileşimi vardır ($p:0,07$) (Tablo 12) (Şekil 34). Tek yönlü varyans analizi ile gruplar arası anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$) (Tablo 13) Aİ, kontrol gruplarında çalışma gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksekti($p<0,001$). Kontrol grupları arasında Aİ için 2. ve 7.günde anlamlı farklılık saptanmazken($p:0,667$), çalışma grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde 7.günde 2.gündeki gruptan istatistiksel anlamlı düşük saptandı($p:0,006$) (Tablo 14) TUNEL pozitif boyanan hücreler Şekil 35'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Apoptotik İndeks için Çift Yönlü Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|-------------------|----------------|-----------------|-----------|----------|
| Kontrol | Grup 1 | 35,88 | 4,53 | |
| Grupları | Grup 2 | 34,55 | 4,74 | |
| Çalışma | Grup 3 | 15,77 | 2,38 | |
| Grupları | Grup 4 | 10,00 | 1,50 | |
| Tedavi*Gün | | | | 0,07 |

Şekil 34. Apoptotik İndeks Ortalamalarının Günlere Göre Değişimi



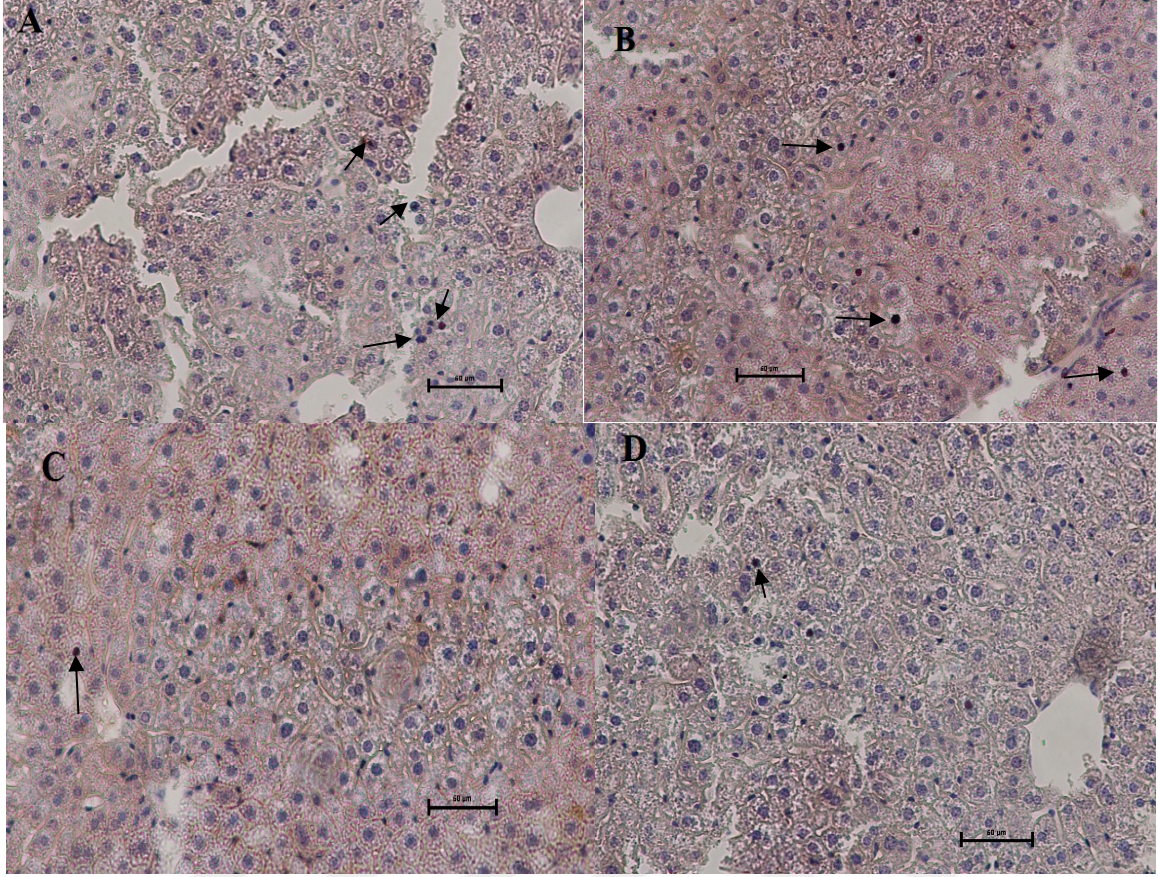
Tablo 13. Tek Yönlü Varyans Analizi ile Gruplar Arası Karşılaştırma

| | Ortalama | SS | P* |
|----------------------|-----------------|-----------|-----------|
| Grup 1 | 35,88 | 4,53 | |
| Grup 2 | 34,55 | 4,74 | |
| Grup 3 | 15,77 | 2,38 | |
| Grup 4 | 10,00 | 1,50 | |
| Gruplar arası | | | P <0.001 |

Tablo 14. Grupların İkili Karşılaştırılması

| | | P | P* |
|---------------|---------------|----------|-----------|
| Grup 1 | Grup 2 | 1,00 | 0,667 |
| Grup 1 | Grup 3 | 0,001 | 0,001 |
| Grup 2 | Grup 4 | 0,001 | 0,001 |
| Grup 3 | Grup 4 | 0,01 | 0,006 |

*: Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır



Şekil 35. TUNEL hücre boyanması. TUNEL pozitif hücreler **siyah ok** ile işaretlidir. **A ve B.** Kontrol gruplarında(sırasıyla Grup1 ve 2), TUNEL pozitif hücreler daha fazla görülmektedir. **C ve D.** KD verilen gruplarda(sırasıyla Grup 3 ve 4) daha az TUNEL pozitif hücre gözlemlendi.

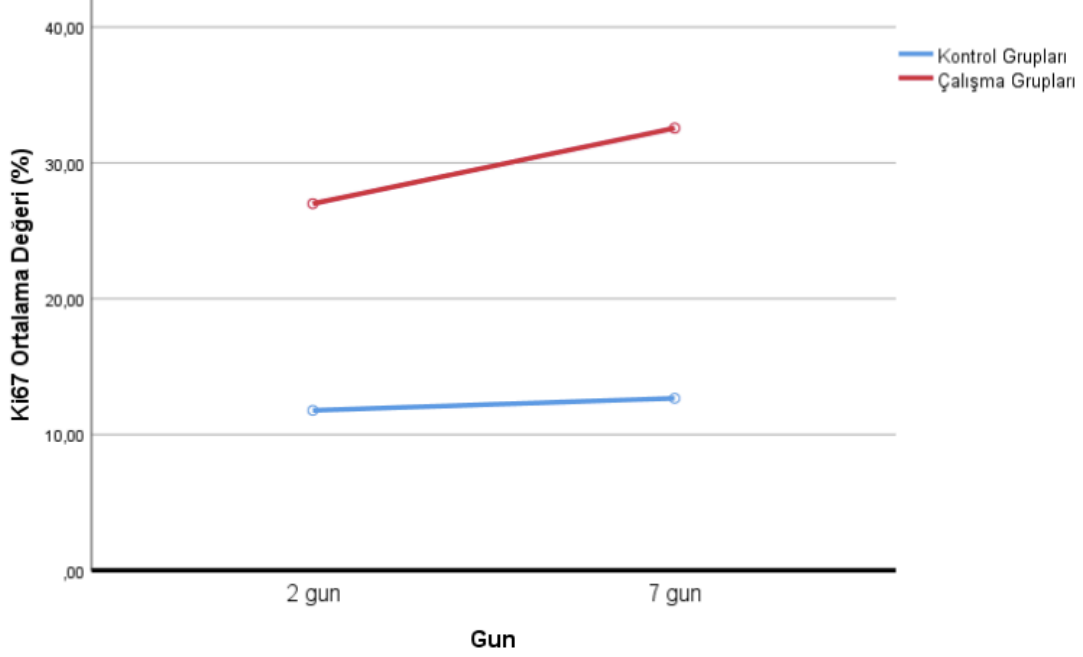
4.3.3. Ki 67

Hüresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olan Ki67 için çift yönlü varyans analizi ile tedavi*gün etkileşimi vardır ($p:0,004$) (Tablo 15) (Şekil 36) . Tek yönlü varyans analizi ile gruplar arası anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$) (Tablo 16) Hem 2.günde hem de 7.günde KD tedavisi verilen gruplarda verilmeyen gruplara göre, tedavi alan gruplarda ise 7.günde 2.güne göre Ki67 ekspresyonu istatistiksel anlamlı yüksekti ($p:0,006$) (Tablo 17). Ki 67 için İHK boyama ile boyanan hücreler Şekil 37'de gösterilmiştir.

Tablo 15. Ki 67 Düzeyi için Çift Varyans Analizi ile Etkileşimin Değerlendirilmesi

| | Gruplar | Ortalama | SS | P |
|-------------------------|----------------|-----------------|-----------|----------|
| Kontrol Grupları | Grup 1 | 11,77 | 1,56 | |
| | Grup 2 | 12,66 | 1,58 | |
| Çalışma Grupları | Grup 3 | 27,00 | 1,11 | |
| | Grup 4 | 32,55 | 3,81 | |

Şekil 36. Ki67 Ortalamalarının Günlere Göre Değişimi



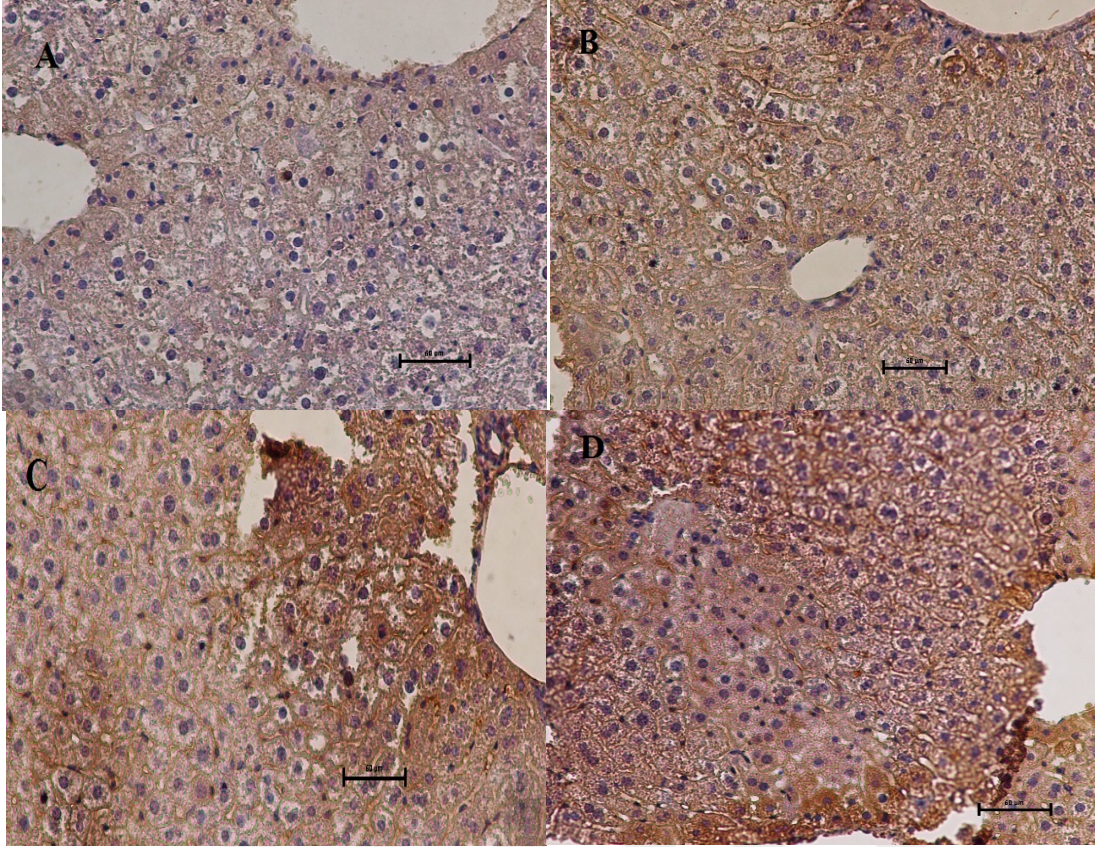
Tablo 16. Tek Yönlü Varyans Analizi ile Gruplar Arası Karşılaştırma

| | Ortalama | SS | P* |
|---------------|----------|------|----------|
| Grup 1 | 11,77 | 1,56 | |
| Grup 2 | 12,66 | 1,58 | |
| Grup 3 | 27,00 | 1,11 | |
| Grup 4 | 32,55 | 3,81 | |
| Gruplar arası | | | P <0.001 |

Tablo 17. Grupların İkili Karşılaştırılması

| | | P | P* |
|--------|--------|-------|-------|
| Grup 1 | Grup 2 | 1,00 | 0,667 |
| Grup 1 | Grup 3 | 0,001 | 0,006 |
| Grup 2 | Grup 4 | 0,001 | 0,006 |
| Grup 3 | Grup 4 | 0,001 | 0,006 |

*: Bonferroni düzeltmesi



Şekil 37. Ki-67 immunohistokimyasal boyama(200X büyütme). Bölünme aktivitesi gösteren hücreler kahverengi renkte gözlenir(Ki-67 pozitif) **A** ve **B**. Sırasıyla Grup1 ve 2, **C** ve **D**. Sırasıyla Grup 3 ve 4'e aittir.

5. TARTIŞMA

Karaciğer tüm sistemleri ilgilendiren önemli metabolik fonksiyonları olan bir organdır. Karaciğer rezeksiyonları, karaciğer malign tümörleri, karaciğer metastazları, canlı vericili karaciğer transplantasyonlarında uygulanmaktadır. Ancak küçük remnant karaciğer(*small-for-size graft*) en önemli sorunlardan biri olmaya devam etmektedir. Rezeksiyon sonrası karaciğer yetmezliği insidansı %0-32 arasında değiştiği bildirilmektedir. Son 10 yılda kısmi hepatic rezeksiyon sonrası mortalite %0-5 arasında ve kısmi hepatic rezeksiyondan sonra ölüm nedeni multifaktöriyel olmasına rağmen karaciğer yetmezliği(%18-75) ana neden olarak görülmektedir (68; 69). Karaciğer rejenerasyonunun efektif olmaması ya da tamamen yokluğu durumunda, hayatı tehdit eden bir durum olan karaciğer yetmezliği meydana gelir. Bu nedenle karaciğer rejenerasyonunun önemi gözönüne alındığında çalışmamızın amacı tanımlanan karaciğer rejenerasyon yollarında yeni terapötik stratejiler geliştirmektir.

Karaciğer rejenerasyon kapasitesini en net gösteren model olan PH, karaciğer rejenerasyonunun en güçlü uyarıcısı olarak kabul edilir. Aynı zamanda PH; kolay uygulanması ve en önemlisi de remnant karaciğer dokusunun işlem sırasında doğrudan manipüle edilmemesi nedeniyle eş zamanlı karaciğer nekrozu veya inflamasyonun etkisine maruz kalmadan karaciğer dokusunun yenilenebilmesine olanak sağlaması açısından avantajlıdır (47). Biz de çalışmamızda iyi tanımlanmış bir yöntem olması ve literatürde bu modelde rejenerasyonu değerlendiren çok sayıda çalışma olması sebebiyle sıçanlarda PH modelini tercih ettik.

Cerrahi rezeksiyonun verdiği hasar karaciğer kütlesini orijinal boyutuna döndürmek için rejenerasyonu başlatır. Bu süreç büyüme faktörlerinin endokrin, parakrin etkilerini ve spesifik protoonkogenler ile transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu içerir. Karaciğerin rezeksiyon sonrası rejenerasyona destek mekanizmalarından biri de antioksidan savunma sistemleridir ki etkilerini serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya yaptıkları zararlı etkileri önleyerek göstermektedir. Süregelen çalışmalarda çok çeşitli tedaviler karaciğer rejenerasyonundaki fonksiyonları ve faydaları yönünden araştırılmış olup PH'den kısa bir süre önce verilen antioksidan özellikli tedavilerin SOR'u toplayarak karaciğerde LPO'yu engellediği ve karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (51). SOR'un hücre büyümesinin durdurulmasına aracılık ettiği ve hücre döngüsünü önleyen proteinleri aktive

ettiği bilinmektedir. Remnant karaciğerde SOR üretimi rejenerasyonun negatif kontrolünde etkilidir. Ayrıca parsiyel hepatektomiden sonra LPO düzeylerinde bir artış olduğu, NO seviyelerinin ve lipid peroksidasyonunun karaciğer rejenerasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (51). Bu nedenlerle hücrel redoks dengesinin ve karaciğerdeki inflamatuvar sürecin sıkı bir şekilde düzenlenmesi karaciğer rejenerasyonu için önemlidir. Biz de çalışmamızda; antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği olan KD'nin, karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini parsiyel hepatektomi modelinde araştırmayı amaçladık.

Oksidatif hasarı önlemek için memeli hücreleri süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz/redüktaz gibi enzimatik aktiviteleri içeren ayrıntılı bir antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir. KD'nin radikal süpürücü olarak işlev görüp SOR'u azalttığı, eNOS'ı arttırdığı, LPO'yu azalttığı çeşitli dokularda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (61; 70). Ancak literatürde KD tedavisinin PH modelinde karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini değerlendiren çalışma yoktur. KD'nin karaciğer dokusundaki etkisinin değerlendirilebileceği tek çalışma Ünal ve ark. (71) tarafından hepatik İ/R hasar modelinde oksidatif hasara etkileri üzerinedir. Ayrıca literatürdeki çalışmaların çoğunda dokuda antioksidan enzim aktiviteleri oksidatif stresi değerlendirmek için araştırılmış olup bizim çalışmamızda olduğu gibi serumda ve karaciğer dokusunda SOD, GSH ve MDA değerlerinin eş zamanlı değerlendirildiği çalışmaya rastlamadık.

Karaman ve ark. (10), antioksidan, immünoşüpresif ve antiinflamatuvar etkili bir ajan olan *Leflunomid(L)*'in PH modelinde karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini incelemişler; 2.günde karaciğer doku SOD değeri PH+L grubunda sadece PH uygulanan gruptan yüksek ölçülmüştür. Mevcut bulgular 2.gün çalışma ve kontrol gruplarındaki bulgularımızla uyumludur.

Kanter ve ark. (72) çalışmalarında birçok diyet kaynağında bulunan bir flavonoid olan *Quercetin(Q)* tedavisi değerlendirilmiş; bu tedavinin İ/R hasarında, süperoksiti uzaklaştırdığı, UV ışığı, spontan hipertansiyon, sekonder biliyer siroz ve bakteriyel lipopolisakkarit ile indüklenen oksidatif strese karşı koruma sağladığı bilinmektedir. *Quercetin*'in PH modelinde karaciğer rejenerasyonuna etkisine bakıldığında PH+*Quercetin* ile PH grubu karşılaştırıldığında 7.gün doku SOD değeri PH+*Quercetin* alan grupta yalnız PH grubundan daha yüksek saptanmıştır. Mevcut bulgular çalışmamızdaki 7.gün doku SOD değerleri ile benzer seyirdedir. Doku SOD değeri 7 gün KD tedavisi alan grupta almayan

gruptan daha yüksek çıkması, aynı etkinin 2 gün tedavi alan grupta da kontrol grubundan yüksek olması KD'ın enzimatik antioksidan savunma sistemi üzerinde etkili olabileceğini ve rejenerasyona fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

Özden ve ark. (73), hiperbarik oksijen(HBO) tedavisinin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında 2, 4 ve 7.gün doku SOD değer karşılaştırılmış; 2.günden 7.güne sadece PH uygulanan grubun doku SOD değerinin daha düşük olduğu ve HBO tedavisi ile bu değerlerin 2.günden 7.güne yükseldiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da doku SOD değerleri açısından benzer sonuçlar bulundu. 2.günden 7.güne artan süperoksit anyonları nedeniyle antioksidan enzim seviyelerinin kontrol gruplarında azaldığı ve KD ile tedavi sonrası artan SOD seviyelerinin mevcut tedavinin antioksidan sisteme destek sağladığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda serum SOD değeri kontrol gruplarında 2.günden 7.güne artmakta, KD tedavisi ile de çalışma gruplarında artmamaktadır. Enzim sonuçları hem kontrol gruplarında hem de çalışma gruplarında doku ve serumda ters seyir göstermektedir. Saitoh ve ark. (74) yaptığı bir çalışmada yanık rat modelinde SOD'un doku ve plazma seviyelerindeki değişimi araştırılmış ve farklı saatlerde farklı dokulardaki(akciğer ve böbrek) SOD değerleri aynı zaman diliminde plazma değerleriyle karşılaştırılmış; her doku için farklı zaman diliminde yükselen farklı plazma ve SOD değerleri kaydedilmiştir. Çalışmamızdaki farklılık, bu çalışmanın sonuçları ile benzerdir.

GSH, çeşitli hücre içi antioksidan enzimler için bir koenzimdir. Artmış seviyeleri hücreleri oksidatif strese karşı savunmak rol oynar. Kirimlioğlu ve ark. (11) tarafından *Resveratrol*(R) tedavisinin PH modelinde karaciğer rejenerasyonuna etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında; 7.günde PH+R grubunda doku GSH düzeyinin PH grubundan yüksek olduğu, sham grubunda ise PH grubundan daha yüksek GSH düzeyleri ölçülmüştür. Özden ve ark. (73) hiperbarik oksijen(HBO) tedavisinin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında 2, 4 ve 7. gün doku GSH değerleri karşılaştırılmış; 2.günden 7.güne sadece PH uygulanan grubun doku GSH değerlerinin azaldığı ve HBO tedavisi ile bu değerlerin 2.günden 7.güne arttığı göstermişler. Bizim çalışmamızda kontrol gruplarındaki doku GSH düzeyi 2.günden 7.güne artarken, 2. ve 7.günde doku GSH değerleri KD alan grupta daha düşük saptanmış olup bulgularımız literatürle uyumsuzdu. Antioksidan özelliği olan bir tedavinin doku GSH değerini

arttırmasını beklerdik ancak bu bize KD'nin antioksidan etkisinin GSH üzerinden etkili olmadığını düşündürdü.

SOR, membran lipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerine saldırır ve lipit peroksidasyonuna yol açar. Doku ve plazmada yükselmiş MDA konsantrasyonları lipit peroksidasyon seviyesini yansıtan oldukça iyi bilinen bir hepatosit hasar belirteçidir. LPO, hücre zarına zarar verme etkisi için temel bir toksisite mekanizması olabilir de, aynı zamanda fizyolojik bir süreçtir. Karaciğer rejenerasyonunda LPO'nun çok erken bir aşamada ortaya çıkmaya başladığı bilinmektedir. Bulgular ışığında antioksidan özelliği olan bir tedavinin karaciğer dokusunda lipit peroksidasyonunu önlediği etkisi de biliniyorken doku MDA düzeylerinin çalışmamızda tedavi alan gruplarda daha düşük olması beklenirdi. Ancak tedavi alan gruplarda doku MDA düzeyleri kontrol gruplarından daha yüksek ölçüldü. Ünal ve ark. (71) tarafından hepatik İ/R hasar modelinde peroperatif ve preoperatif KD kullanımının rejenerasyon üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada oksidatif stres parametresi olarak total sülfidril(SH) düzeyi, MDA ve floresan oksidasyon ürünlerinin(FOP) ölçümü yapılmış; kontrol grubunda en yüksek MDA düzeyleri saptanırken, preoperatif ve peroperatif KD tedavisinin karaciğer dokusu MDA düzeyini anlamlı derecede düşürdüğü sonucuna vardılar. Model olarak İ/R hasarı kullanılmış olsa da KD'nin doku MDA düzeylerini düşürmüş olması bizim çalışmamızda ters bir seyir göstermektedir. Ancak çalışmamızdaki serum MDA düzeyleri tedavi alan gruplarda günden bağımsız olarak sadece PH yapılan gruplardan düşük düzeyde saptanmıştır.

Sarımsak(S) bitkisinin PH modelinde 7.günde oksidatif hasar ve karaciğer rejenerasyonu üzerine olan etkilerinin değerlendirildiği tıpta uzmanlık tezinde (75), 7.günde plazma MDA düzeyleri PH uygulanan grupta PH+S grubundan yüksekken, doku MDA düzeyleri PH+S grubunda PH grubundan yüksek ölçülmüştür. Bulgular çalışmamızdaki serum MDA ve doku MDA değerinin 7.gün sonuçlarıyla uyumludur. KD ile tedavi edilen sıçanlarda serum MDA seviyesinin daha düşük olması, KD tedavisinin karaciğer rezeksiyonuna bağlı oluşan SOR'un oluşumunu ve buna bağlı olarak da doku hasarını anlamlı olarak azalttığını düşündürmektedir. Eş zamanlı olarak ölçülen doku MDA seviyesi çalışma gruplarında, kontrol gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı yüksek ölçüldü. Bu bulguların daha önce bildirilen çalışma sonuçlarına (71) göre farklı ve zıt olduğu görülmüştür. Ancak çalışmamız içerisinde bu farklılığın nedeni ortaya konulamamıştır.

Aguilar- Delfin ve ark. (76) tarafından iki deneysel karaciğer rejenerasyon modelinde LPO'yu değerlendirdikleri çalışmalarında PH uygulanan gruplarda karaciğer doku homojenatında ve 5 subsellüler fraksiyonda doku MDA düzeyleri ölçülmüş olup karaciğer homojenatında; hepatektomi sonrası MDA, 24.saatten sonra pik değerine ulaşmakta ve 48.saatten sonra ise bazal seviyeye dönmektedir ki bu yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlardan ters bir seyirdi. Bizim çalışmamızda da doku MDA düzeyi 2.gün kontrol grubunda 7.gün kontrol grubundan yüksek ölçüldü.

Günay ve ark. (77), SOR'u temizleme kabiliyeti nedeniyle antioksidan özelliği olan *Ginkgo Biloba*(EGb761) ve hepatosit proliferasyonunu uyaran bir immunsüpresan olan FK506'in ayrı ayrı ve kombine PH modelinde rejenerasyon ve oksidatif stres üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında karaciğer doku SOD değeri 48.saatte PH+EGb761 grubunda sadece PH grubundan; doku MDA düzeyi de aynı seyirde PH+EGb761 grubunda PH grubundan yüksek saptanmıştır. SOD için değerler istatistiksel olarak anlamlı olmasa da MDA için çalışma sonuçları istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Hem SOD hem de MDA bulguları çalışmamızla paraleldir.

Çalışmamızda, oksidatif hasarı değerlendirirken elde ettiğimiz sonuçların bazı noktalarda antioksidan özelliği bilinen ve PH modeli uygulanan çalışmaların sonuçları(.....) ile zıt olduğu görüldü. KD'in antioksidan, anjioprotektif, antiinflamatuvar etkileri böbrek,retina ve kardiyovasküler dokularda çalışılmış olsa da karaciğer dokusunda benzer çalışılmış olsa karaciğer dokusunda benzer etkileri destekleyen yeterli çalışma yoktur. Bu bağlamda KD'in karaciğerde antioksidan özelliğinin değerlendirilmesinde farklı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Nevzorava ve ark. (78) yaptığı çalışmada gerçek karaciğer kitle restorasyonunun izlenmesi için farelerin PH'den sonra değerlendirilebileceği günler 2, 3, 4 ve 7. günler olarak belirtilmiştir. Bu nedenle biz de çalışmamızda rejenerasyonu değerlendirmek için 2 ve 7.günleri sakrifikasyon zamanı olarak belirledik.

Andersen ve ark. (79) tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlarda karaciğer rejenerasyonunun doğal seyrinin sistematik olarak incelenmesi amacıyla sağlıklı sıçanlara PH uygulanmış ve PH'nin 1 ve 4. günler arasında maksimum oranda hızlı bir rejeneratif yanıtı indüklediğini, karaciğer rejenerasyonunun(karaciğer ağırlığı, karaciğer rejenerasyon hızı ve hepatosit proliferasyonu) 8.günde tamamlandığını bildirmişlerdir. Yine aynı

çalışmada karaciğer RO'nun, PH sonrası 7.güne kadar stabil artan bir seyir gösterdiği, 7.günde daha düşük ivmeyle olsa da son pikini yaptığı görülmüştür. Kontrol gruplarındaki sonuçlarımız bu açıdan literatürle uyumludur. Rejenerasyon oranı 2.günden 7.güne artmıştır. Tedavi alan grupların RO'ı daha yüksektir. 2 ve 7.gün kontrol ve çalışma gruplarının RO'ları arasındaki farkın KD'dan kaynaklandığı ve KD'nin karaciğer rejenerasyonuna katkısı olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda histopatolojik derecelendirmede *Suzuki* Skorum Sistemi (67) kullanıldı. Ünal ve ark. (71) KD'nin hepatik İ/R hasarı üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında da aynı skorlama sistemi kullanılmış ve KD'nin sinüzoidal konjesyon skorlarını anlamlı derecede azalttığı, vakuolizasyon skorlarında anlamlı fark olmadığı ve nekrozun da hiçbir grupta görülmediği bildirilmiştir. Oğuz ve ark. (80) PH modelinde *Urtica dioica*(UD)'nin rejenerasyon üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında 7.günde PH grubunda vakuolizasyon(hepatosit sitoplazmasında vakuoller) yaygınken; sinüzoidler ise PH+UD grubuna göre daha büyük saptanmıştır. Bizim çalışmamızda, çalışma gruplarında sinüzoidal konjesyon yok veya hafif derece gözlenirken; vakuolizasyon ve nekroz gözlenmedi ve tüm değişkenler için bulguların hepsi istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu da bize KD'nin rejenerasyon sürecinde karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkisi olduğunu ve tedavi ile normal karaciğer dokusuna daha çok benzeyen histolojik yapılanmanın oluşmasına fayda sağladığını düşündürmektedir.

Hepatektomi sonrası apopitozisin karaciğerdeki rolü tartışmalıdır. Rejenerasyonun zirvesinde apopitozis başlar. Li ve ark. (81), karaciğer rejenerasyonundan sonraki apopitozis düzeyinin rejenerasyon seviyesi ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada Kırımlioğlu ve ark. (11), sıçanlarda PH sonrasında artan apopitozisin olduğunu göstermişlerdir. Literatürde KD'nin hepatik rejenerasyon ve apopitozis üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık. Sowa ve ark. (82), %70 PH'de 2. ve 7.gün apopitozisi değerlendirdikleri çalışmalarında; apopitozisin daha erken ve rejenerasyon ile paralel meydana geldiğini göstermişlerdir. Bu çalışma zaman seçimi olarak çalışmamıza paraleldir. Bulgularımız kontrol gruplarında literatürle uyumludur. Kanter ve ark. (72), yaptığı çalışmada PH+*Quercetin* ile PH grubu karşılaştırılmış; 7.gün Aİ değeri PH+*Quercetin* alan grupta yalnız PH yapılan gruptan daha düşük saptanmıştır (72). Bizim çalışmamızda da KD verilen grupta 7.gün ile beraber 2.gün Aİ değerleri kontrol gruplarından

daha düşük saptandı. Bu sonuç, KD'nin PH sonrası hücre hasarını azaltabileceğini düşündürmektedir.

Ki-67 karaciğer hasarı sonrası kendini yenileyen karaciğerin, mitoz bölünme ile yenilenme kapasitesini gösterir. Rejenerasyon kriterlerinin tanımlanması ve tespitinde Ki-67, PCNA (Proliferatif hücre nükleer antijeni), DNA polimeraz alfa, NOR (Nükleolar organize edici ajan) proteinleri güncel çalışmalarda kullanılan en güvenilir İHK tekniklerdir. Hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijeni ve buna karşı oluşan monoklonal antikor seviyesi hücre siklusu ilerledikçe artar. Ki-67'nin siklusun tüm evrelerinde sınıflandırılabilirliği ve proliferasyonun bir göstergesi olarak kullanılabilirliği Gerdes ve ark. (83) tarafından tariflenmiştir. Hücre siklusu ilerledikçe antijen içeriği artar. G₂-M evresinde maksimal seviyeye erişir. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikor ise hücre siklusunun G₀ evresi hariç diğer tüm evrelerinde gösterilebilir. Ki-67'nin diğer kullanılan yöntemlerden farkı sadece S evresinde değil hücre siklusunun tüm evrelerinde saptanabilir olmasıdır. Bu sayede hücresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Çalışmamızda da proliferasyonun değerlendirilmesi için Ki67 antijeni kullanıldı.

Karaman ve ark. (10), antioksidan, immünoşüpresif ve antiinflamatuar bir ajan olan *Leflunomid* (L) ile yaptıkları çalışmada, PH sonrası 2.günde karaciğer rejenerasyonu açısından Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirilmiş; PH+L grubunda Ki-67 proliferasyon indeks değerleri PH grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. PH sonrası *Leflunomid* kullanımının muhtemelen antioksidan etki üzerinden karaciğer rejenerasyonunu arttırdığı sonucuna varmışlardır. Mevcut bulgular, tedavi için kullanılan ajanlar farklı olsa da sonuçlarımıza paraleldir. KD'da doku onarımında hücre proliferasyonunu arttırmak ve rejenerasyonu desteklemektedir.

Sinüzoidal endotel hücre oluşumu, karaciğer rejenerasyonunu korumak için gereklidir. Karaciğer kütlesindeki artış sinüzoidal endotel hücre proliferasyonuna ve fonksiyonel kan akışına bağlıdır. Nitrik oksit (NO), VEGF kaynaklı vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunda anahtar rol oynar. Bu nedenle NO karaciğer rejenerasyon kaskadının en güçlü tetikleyicilerinden biridir. Yoshida ve ark. (84), parsiyel hepatektomi sonrası revaskülarizasyon ve rejenerasyon sırasında VEGF ve eNOS'un etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında; eNOS protein ekspresyonunun ve NO üretiminin

72.saatte önemli ölçüde arttığını ve 168.saate kadar da artmaya devam ettiğini gösterildi. Ayrıca sinüzoidal endotel hücrelerinde eNOS ekspresyonunun PH'den 72 ila 168 saat sonra arttığını bildirildi. Bu nedenle eNOS'tan türetilen NO'in, sinüzoidal endotel hücrelerinin proliferasyonunda ve rejenere karaciğerde sinüzoidlerin oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.Çalışmamızda tedavi seçeneği olarak belirlediğimiz KD, eNOS'u arttırdığı gösterilmiştir (61). Dolayısıyla karaciğer rejenerasyonuna katkısı eNOS artırarak NO yolağı üzerinden olabilir. Çalışmamızda bu yolağı değerlendirebilecek parametrelerin olmaması çalışmamızın eksik yönüdür.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

PH yapılan sıçanlarda KD'nin biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle oksidatif hasar ve karaciğer rejenerasyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptığımız çalışmamızda;

1. KD ile tedavi sonrası artan doku SOD seviyelerinin mevcut tedavinin antioksidan sisteme destek sağladığını düşündürmektedir.
2. Antioksidan özelliği olan bir tedavinin doku GSH değerini arttırmasını beklerdik ancak bu bize KD'nin antioksidan etkisinin GSH üzerinde etkili olmadığını düşündürdü.
3. KD ile tedavi edilen sıçanlarda serum MDA seviyesinin daha düşük olması, KD tedavisinin 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 çalışma gruplarında, kontrol gruplarına oranla daha yüksek ölçülmesi KD tedavisinin yeterli redoks dengesini bu yolakta sağlayamadığını düşündürmektedir.
4. KD'nin antioksidan, anjioprotektif, antienflamatuvar etkileri böbrek, retina ve kardiyovasküler dokularda çalışılmıştır. Çalışmamızda, antioksidan özellik yönünden bazı noktalarda zıt sonuçlar elde edildi. KD'nin karaciğer dokusunda oksidatif hasar üzerine etkilerinin farklı çalışmalarla değerlendirilmesine gereksinim vardır.
5. 2 ve 7 gün kontrol ve çalışma gruplarının RO'ları arasındaki farkın KD'dan kaynaklandığı ve KD'nin karaciğer rejenerasyonuna katkısı olduğunu düşündürmektedir.
6. Işık mikroskopisi altında histopatolojik incelemede sinüzoidal konjesyonu ve vakuolizasyonun KD tedavisi ile azaldığı, KD tedavisinin PH sonrası karaciğerin daha normal histolojiyle rejenerasyonunda faydalı olabileceğini ve karaciğer dokusu üzerinde koruyucu etkisi olabileceğini desteklemektedir.
7. KD'nin, PH sonrası meydana gelen apoptoz eğilimini baskılamada etkin olduğu ve böylece rejenerasyona belirgin katkısı olduğu görülmüştür.

8. KD tedavisi ile Ki67 ekspresyonu artmaktadır. Bu nedenle KD; doku onarımını, hücre proliferasyonunu arttırmakta ve rejenerasyonu desteklemektedir.

KD'ın, eNOS'u artıran bir molekül olduğu bilindiğinden rejenerasyona katkısı sinüzoidal hücre proliferasyonunu destekleyecek NO yolağı üzerinden olabilir. Çalışmamızda bu yolağı değerlendirebilecek parametrelerin olmaması çalışmamızın eksik yönüdür.

Literatürde KD'ın PH modelinde karaciğer rejenerasyonuna etkisini değerlendiren çalışma yoktur. Ancak mevcut bulgularla bile KD'ın; Doku SOD düzeyini arttırdığı, Ki67 ekspresyonunu arttırdığı, apoptozisi azalttığı, karaciğer dokusunun histolojik özelliklerinin korunmasına yardımcı olduğu çalışma sonuçlarında görülmüş olması tedavi seçeneği olarak kullanımında umut vaad etmektedir.

Kaynakça

1. *Lehmann, Kuno, Stefan Breitenstein, and Pierre-Alain Clavien. "1 From Promethean to Modern Times." Malignant Liver Tumors (2000): 1-10.*
2. *Breitenstein, Stefan, et al. Malignant Liver Tumors: Current and Emerging Therapies. John Wiley & Sons, 2011.*
3. *Tarlá, Marissa Rabelo, et al. "A molecular view of liver regeneration." Acta chirurgica brasileira 21 (2006): 58-62.*
4. *Güler, İlkay, et al. "Ratlarda deneysel hepatik rezeksiyon modelinde iskemi-reperfüzyon ile indüklenen apoptozis ve hepatik rejenerasyona granülosit-makrofaj koloni stimule edici faktörün etkileri." Turkish Journal of Surgery 23.3 (2007): 092-098.*
5. *Fausto, Nelson, and Kimberly J. Riehle. "Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications." Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery 12.3 (2005): 181-189.*
6. *Siu, Joey, John McCall, and Saxon Connor. "Systematic review of pathophysiological changes following hepatic resection." HPB 16.5 (2014): 407-421.*
7. *Bedirli, Abdulkadir, et al. "Effects of ischemic preconditioning on regenerative capacity of hepatocyte in the ischemically damaged rat livers." Journal of Surgical Research 125.1 (2005): 42-48.*
8. *Michalopoulos, George K., and Marie C. DeFrances. "Liver regeneration." Science 276.5309 (1997): 60-66.*
9. *Ronco, María Teresa, et al. "Modulation of balance between apoptosis and proliferation by lipid peroxidation (LPO) during rat liver regeneration." Molecular Medicine 8.12 (2002): 808-817.*
10. *Karaman, Abdurrahman, et al. "Effect of leflunomide on liver regeneration after partial hepatectomy in rats." Pediatric surgery international 26.2 (2010): 219-226.*

11. **Kirimlioglu, H., et al.** *"Effect of resveratrol and melatonin on oxidative stress enzymes, regeneration, and hepatocyte ultrastructure in rats subjected to 70% partial hepatectomy."* *Transplantation proceedings*. Vol. 40. No. 1. Elsevier, 2008.
12. **Chen, T. S., and P. S. Chen.** *"The myth of Prometheus and the liver."* *Journal of the Royal Society of Medicine* 87.12 (1994): 754.
13. **Power, Carl, and John EJ Rasko.** *"Whither prometheus' liver? Greek myth and the science of regeneration."* *Annals of internal medicine* 149.6 (2008): 421-426.
14. **Elliot, John Wheelock.** *"IV. Surgical Treatment of Tumor of the Liver, with the Report of a Case."* *Annals of surgery* 26.1 (1897): 83.
15. **Delattre, Jean-François, Claude Avisse, and Jean-Bernard Flament.** *"Anatomic basis of hepatic surgery."* *Surgical Clinics of North America* 80.1 (2000): 345-362.
16. **Blumgart, Leslie H., and Lucy E. Hann.** *"Surgical and radiologic anatomy of the liver, biliary tract, and pancreas."* *Blumgart's Surgery of the Liver, Pancreas and Biliary Tract*. WB Saunders, 2012. 31-57.
17. **Sabiston, David C., Courtney M. Townsend, and R. D. Beauchamp.** *Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice*. WB Saunders, 2001.
18. **Courtney, M. T., et al.** *"Biological Basis of Modern Surgical Practice."* *Sabiston-Textbook of Surgery*. 20th edition, Elsevier; Netherland (2016): 1556-1557.
19. **Meyers WC, Jones RS.** *Anatomy*. In *Meyers WC, Jones RS (eds) Textbook of liver and biliary surgery*. JB Lippincott Company, Philadelphia 1990;18-38.
20. **Martins, Paulo Ney Aguiar, and Peter Neuhaus.** *"Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat."* *Liver International* 27.3 (2007): 384-392.
21. **Martins, Paulo NA, Tom P. Theruvath, and Peter Neuhaus.** *"Rodent models of partial hepatectomies."* *Liver international* 28.1 (2008): 3-11.

22. Moore, Keith L., et al. *Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.*
23. Guyton, A. C., and J. E. Hall. "Tıbbi fizyoloji (10. Baskı)." H. Çavuşoğlu (Çev. Ed.). *İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri (2001).*
24. Junqueira, L. C. "Carneiro J, and Kelley RO. *Basic Histology.*" Stamford, CT: *Appleton & Lange (1998).*
25. Mescher, Anthony L., and S. Junqueira. "Basic histology text and atlas." (2013).
26. Malik, Raza, Clare Selden, and Humphrey Hodgson. "The role of non-parenchymal cells in liver growth." *Seminars in cell & developmental biology. Vol. 13. No. 6. Academic Press, 2002.*
27. Bismuth, Henri, Didier Houssin, and Denis Castaing. "Major and minor segmentectomies "réglées" in liver surgery." *World Journal of Surgery* 6.1 (1982): 10-24.
28. IHPBA, Ttcot. "The Brisbane 2000 terminology of hepatic anatomy and resections." *HPB* 2 (2000): 333-339.
29. Strasberg, Steven M. "Nomenclature of hepatic anatomy and resections: a review of the Brisbane 2000 system." *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery* 12.5 (2005): 351-355.
30. Couinaud, Claude. "The paracaval segments of the liver." *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery* 1.2 (1994): 145-151.
31. Abdalla, Eddie K., Jean-Nicolas Vauthey, and Claude Couinaud. "The caudate lobe of the liver: implications of embryology and anatomy for surgery." *Surgical Oncology Clinics* 11.4 (2002): 835-848.
32. Celinski, Scott A., and T. Clark Gamblin. "Hepatic resection nomenclature and techniques." *The surgical clinics of North America* 90.4 (2010): 737-748.

33. **Worthley, Chris S.** *"Hepatobiliary and Pancreatic Surgery. A companion to Specialist Surgical Practice, Edited by O. James Garden."* *ANZ Journal of Surgery* 72.7 (2002): 512-512.
34. **Fausto, Nelson.** *"Liver regeneration."* *Journal of hepatology* 32 (2000): 19-31.
35. **Higgins, George M.** *"Experimental pathology of the liver; I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal."* *Arch pathol* 12 (1931): 186-202.
36. **Jeroen, D. J., and M. O. Kim.** *"Liver regeneration: mechanisms and clinical relevance, Chapter 5-Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary tract and Pancreas."* (2012): 87-101.
37. **Mangnall, David, Nigel C. Bird, and Ali W. Majeed.** *"The molecular physiology of liver regeneration following partial hepatectomy."* *Liver international* 23.2 (2003): 124-138.
38. **Reynaert, Hendrik, Marcela Chavez, and Albert Geerts.** *"Vascular endothelial growth factor and liver regeneration."* *Journal of hepatology* 34.5 (2001): 759-761.
39. **Weglarz, Teresa C., and Eric P. Sandgren.** *"Timing of hepatocyte entry into DNA synthesis after partial hepatectomy is cell autonomous."* *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97.23 (2000): 12595-12600.
40. **Bucher, Nancy LR.** *"Regeneration of mammalian liver."* *International review of cytology. Vol. 15. Academic Press, 1963. 245-300.*
41. **Akça S, Dinçer D.** *Karaciğerin rejenerasyon yeteneği: karaciğerin diğer organlardan farkı. Güncel Gastroenteroloji 2004; 261-265.*
42. **Fausto, Nelson, and Jean S. Campbell.** *"The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation."* *Mechanisms of development* 120.1 (2003): 117-130.
43. **Roskams, Tania A., Louis Libbrecht, and Valeer J. Desmet.** *"Progenitor cells in diseased human liver."* *Seminars in liver disease. Vol. 23. No. 04. Copyright© 2003 by*

Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.:+1 (21.

44. Haber, Barbara A., et al. "Induction patterns of 70 genes during nine days after hepatectomy define the temporal course of liver regeneration." *The Journal of clinical investigation* 91.4 (1993): 1319-1326.

45. Alcorn, Joseph A., Steven P. Feitelberg, and David A. Brenner. "Transient induction of c-jun during hepatic regeneration." *Hepatology* 11.6 (1990): 909-915.

46. FitzGerald, Mark J., et al. "Rapid DNA binding by nuclear factor kappa B in hepatocytes at the start of liver regeneration." *Cell growth & differentiation: the molecular biology journal of the American Association for Cancer Research* 6.4 (1995): 417-427.

47. Palmes, Daniel, and Hans-Ullrich Spiegel. "Animal models of liver regeneration." *Biomaterials* 25.9 (2004): 1601-1611.

48. Ehrenfried, John A., et al. "Cell cycle-mediated regulation of hepatic regeneration." *Surgery* 122.5 (1997): 927-935.

49. Taira K, Hiroyasu S, Shiraishi M, Muto Y, Koji T. Role of the Fas system in liver regeneration after a partial hepatectomy in rats. *Eur Surg Res* 2001; 33:334-341.

50. Ishii, Takehisa, et al. "Hepatocyte growth factor stimulates liver regeneration and elevates blood protein level in normal and partially hepatectomized rats." *The Journal of Biochemistry* 117.5 (1995): 1105-1112.

51. Rai, Rudra M., et al. "Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase-deficient mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95.23 (1998): 13829-13834.

52. Galun, Eithan, and Jonathan H. Axelrod. "The role of cytokines in liver failure and regeneration: potential new molecular therapies." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1592.3 (2002): 345-358.

53. Debonera, Fotini, et al. "Activation of interleukin-6/STAT3 and liver regeneration following transplantation." *Journal of Surgical Research* 96.2 (2001): 289-295.
54. Aoki, Takeshi, et al. "Capacity of hepatic regeneration following a second partial hepatectomy in rats." *Hepatology research* 21.3 (2001): 228-241.
55. Streetz, K. L., et al. "Interleukin 6 and liver regeneration." *Gut* 47.2 (2000): 309-312.
56. Fujita, Junya, et al. "Effect of TNF gene depletion on liver regeneration after partial hepatectomy in mice." *Surgery* 129.1 (2001): 48-54.
57. BERASAIN, CARMEN, et al. "Amfiregülin: Farelerde Karaciğer Rejenerasyonunun Erken Tetikleyicisi." *Gastroenterology* 1.1 (2005): 43-51.
58. Van Thiel, David H., et al. "Hepatic regeneration." *Digestive diseases and sciences* 36.9 (1991): 1309-1312.
59. Tsujii, Hiroyuki, et al. "Prostaglandin E2 and rat liver regeneration." *Gastroenterology* 105.2 (1993): 495-499.
60. Brunet, John, et al. "Angioprotective action of calcium dobesilate against reactive oxygen species-induced capillary permeability in the rat." *European journal of pharmacology* 358.3 (1998): 213-220.
61. Haller, Hermann, et al. "Molecular Mechanisms and treatment strategies in diabetic nephropathy: new avenues for calcium dobesilate—free radical scavenger and growth factor inhibition." *BioMed Research International* 2017 (2017).
62. Tejerina, T., and E. Ruiz. "Calcium dobesilate: pharmacology and future approaches." *General Pharmacology: The Vascular System* 31.3 (1998): 357-360.
63. Zhang, XinYuan, et al. "Calcium dobesilate for diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis." *Science China Life Sciences* 58.1 (2015): 101-107.
64. Tejerina, T., and E. Ruiz. "Calcium dobesilate: pharmacology and future approaches." *General Pharmacology: The Vascular System* 31.3 (1998): 357-360.

65. Cerrahoglu M, Taner K A, Iskesen I, Onur E, S r n H. Calcium dobesilate reduces oxidative stress in cardiac surgery. *J Cardiovasc Surg.* 2009; 50(5):695-701.
66. Kwon, A. Hon, et al. "Effect of administration of fibronectin or aprotinin on liver regeneration after experimental hepatectomy." *Annals of surgery* 211.3 (1990): 295.
67. Suzuki, Shohachi, et al. "Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine." *Transplantation* 55.6 (1993): 1265-1272.
68. Detroz, Bernard, et al. "Causes of death in patients undergoing liver surgery." *Hepatobiliary cancer.* Springer, Boston, MA, 1994. 241-257.
69. Simmonds, P. C., et al. "Surgical resection of hepatic metastases from colorectal cancer: a systematic review of published studies." *British journal of cancer* 94.7 (2006): 982-999.
70. Liu, Jie, Shulin Li, and Dong Sun. "Calcium Dobesilate and Micro-vascular diseases." *Life sciences* 221 (2019): 348-353.
71. Ünal, Yılmaz, et al. "Assessment of the effect of calcium dobesilate in experimental liver ischemia-reperfusion injury." *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 24.5 (2018): 391-397.
72. Kanter, Mehmet, et al. "The effects of quercetin on liver regeneration after liver resection in rats." *Folia morphologica* 75.2 (2016): 179-187.
73. Özden, Tülin Ayse, et al. "The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidant and antioxidants levels during liver regeneration in rats." *The Tohoku journal of experimental medicine* 203.4 (2004): 253-265.
74. Saitoh, Daizoh, et al. "Changes in the tissue and plasma superoxide dismutase (SOD) levels in a burned rat model." *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 193.1 (2001): 27-36.

75. Kartal A, Parsiyel Hepatektomi Yapılan Sıçanlarda Sarımsağın Oksidatif Hasar ve Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Olan Etkileri. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, 2013.

76. Aguilar-Delfin, Irma, Fernando López-Barrera, and Rolando Hernández-Munoz. "Selective enhancement of lipid peroxidation in plasma membrane in two experimental models of liver regeneration: partial hepatectomy and acute CCl4 administration." *Hepatology* 24.

77. Günay, Nahide Ekici, Sabahattin Muhtaroglu, and Abdulkadir Bedirli. "Administration of Ginkgo biloba extract (EGb761) alone and in combination with FK506 promotes liver regeneration in a rat model of partial hepatectomy." *Balkan medical journal* 35.2 (2018).

78. Nevzorova, Y. A., et al. "Partial hepatectomy in mice." *Laboratory animals* 49.1_suppl (2015): 81-88.

79. Andersen, Kasper Jarlhelt, et al. "The natural history of liver regeneration in rats: description of an animal model for liver regeneration studies." *International Journal of Surgery* 11.9 (2013): 903-908.

80. Oguz, Serhat, et al. "Effects of *Urtica dioica* on oxidative stress, proliferation and apoptosis after partial hepatectomy in rats." *Toxicology and industrial health* 31.5 (2015): 475-484.

81. Li, Zhen, et al. "Cell apoptosis and regeneration of hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization." *World journal of gastroenterology: WJG* 10.13 (2004): 1876.

82. Sowa, Jan-Peter, et al. "Extent of liver resection modulates the activation of transcription factors and the production of cytokines involved in liver regeneration." *World Journal of Gastroenterology: WJG* 14.46 (2008): 7093.

83. Gerdes, Johannes, et al. "Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67." *The journal of immunology* 133.4 (1984): 1710-1715.

84. Yoshida, Daisuke, et al. "Roles of vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase during revascularization and regeneration after partial hepatectomy in a rat model." *Surgery today* 41.12 (2011): 1622.
85. Pack, George T., Theodore R. Miller, and Richard D. Brasfield. "Total right hepatic lobectomy for cancer of the gallbladder: report of three cases." *Annals of surgery* 142.1 (1955): 6.
86. Lowe, Michael C., and Michael I. D'Angelica. "Anatomy of hepatic resectional surgery." *Surgical Clinics* 96.2 (2016): 183-195.
87. Norton, Jeffrey, et al., eds. *Surgery: basic science and clinical evidence*. Springer, 2012.
88. Gillard, J. H., et al. "Riedel's lobe of the liver: fact or fiction?." *Clinical Anatomy: The Official Journal of the American Association of Clinical Anatomists and the British Association of Clinical Anatomists* 11.1 (1998): 47-49.
89. Melendez, Jose A., et al. "Perioperative outcomes of major hepatic resections under low central venous pressure anesthesia: blood loss, blood transfusion, and the risk of postoperative renal dysfunction." *Journal of the American College of Surgeons* 187.6.
90. Rees, M., et al. "One hundred and fifty hepatic resections: evolution of technique towards bloodless surgery." *British Journal of Surgery* 83.11 (1996): 1526-1529.
91. Pringle, J. Hogarth. "V. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma." *Annals of surgery* 48.4 (1908): 541.
92. Ishizaki, Yoichi, et al. "Safety of prolonged intermittent pringle maneuver during hepatic resection." *Archives of Surgery* 141.7 (2006): 649-653.
93. Abdalla, Eddie, Roger Noun, and Jacques Belghiti. "Hepatic vascular occlusion." (2004).
94. Holt, David R., et al. "Hepatic resections." *Archives of Surgery* 135.11 (2000): 1353-1358.

95. Robinson, S., et al. "Systemic chemotherapy and its implications for resection of colorectal liver metastasis." *Surgical oncology* 20.2 (2011): 57-72.
96. Anderson, W. R., L. Zieve, and S. Lindblad. "Ultrastructural study of hepatic regeneration following one-lobe, two-lobe, and subtotal hepatectomy in the rat." *Experimental pathology* 38.1 (1990): 61-72.
97. Uetake, Hiroyuki, et al. "A multicenter phase II trial of mFOLFOX6 plus bevacizumab to treat liver-only metastases of colorectal cancer that are unsuitable for upfront resection (TRICC0808)." *Annals of surgical oncology* 22.3 (2015): 908-915.
98. Hessheimer, Amelia J., et al. "Decompression of the portal bed and twice-baseline portal inflow are necessary for the functional recovery of a "small-for-size" graft." *Annals of surgery* 253.6 (2011): 1201-1210.
99. Mangelsdorf, David J., et al. "The nuclear receptor superfamily: the second decade." *Cell* 83.6 (1995): 835.
100. Vacca, Michele, et al. "Clustering nuclear receptors in liver regeneration identifies candidate modulators of hepatocyte proliferation and hepatocarcinoma." *PloS one* 9.8 (2014).
101. Cressman, Drew E., Robert H. Diamond, and Rebecca Taub. "Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration." *Hepatology* 21.5 (1995): 1443-1449.
102. Tzung, Shie-Pon, Nelson Fausto, and David M. Hockenbery. "Expression of Bcl-2 family during liver regeneration and identification of Bcl-x as a delayed early response gene." *The American journal of pathology* 150.6 (1997): 1985.
103. Iimuro, Yuji, et al. "NFkappaB prevents apoptosis and liver dysfunction during liver regeneration." *The Journal of clinical investigation* 101.4 (1998): 802-811.
104. Billiar, Timothy R. "Brian S. Zuckerbraun, Andrew B. Peitzman, and." *Schwartz's Principles of Surgery* (2014): 109.

106. *Aller, M-A., et al. "Hepatectomies in the rat: A look at the caudate process through microsurgery." Digestive and Liver Disease 41.10 (2009): 695-699.*
107. *Yardimci, S., et al. "Sildenafil accelerates liver regeneration after partial hepatectomy in rats." Transplantation proceedings. Vol. 44. No. 6. Elsevier, 2012.*
108. *Horváth, Monika É., et al. "Effect of silibinin and vitamin E on restoration of cellular immune response after partial hepatectomy." Journal of ethnopharmacology 77.2-3 (2001): 227-232.*
109. *Ronco, Maria Teresa, et al. "Role of nitric oxide increase on induced programmed cell death during early stages of rat liver regeneration." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease 1690.1 (2004): 70-76.*
110. *Suschek, Christoph, Hubert Kolb, and Victoria Kolb-Bachofen. "Dobesilate enhances endothelial nitric oxide synthase-activity in macro-and microvascular endothelial cells." British journal of pharmacology 122.7 (1997): 1502-1508.*
111. *Seker, A., et al. "Does calcium dobesilate protect against intestinal ischemia-reperfusion injury induced in rats." Eur Rev Med Pharmacol Sci 20.10 (2016): 2168-2173.*
112. *Hortelano, Sonsoles, et al. "Nitric oxide is released in regenerating liver after partial hepatectomy." Hepatology 21.3 (1995): 776-786.*