

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK YAPILAN KARACİĞER REZEKSİYONU SIRASINDA
İSKEMİK ÖN KOŞULLAMA YAPILAN RATLARA HEPATEKTOMİ ÖNCESİ
VERİLEN SLİMARİN'İN KARACİĞER REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. AYDIN YAVUZ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYDIN DALGIÇ**

ANKARA – 2016

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK YAPILAN KARACİĞER REZEKSİYONU SIRASINDA
İSKEMİK ÖN KOŞULLAMA YAPILAN RATLARA HEPATEKTOMİ ÖNCESİ
VERİLEN SLİMARİN'İN KARACİĞER REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. AYDIN YAVUZ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AYDIN DALGIÇ**

ANKARA – 2016

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bana her konuda destek olan, yönlendiren, geliőtiren, beceri ve tecrübelerini aktaran, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Bülent Aytaç'a, tez danışmanım sayın Prof. Dr. Aydın Dalgıç'a,

Genel Cerrahi eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini sabır ve özveri ile benimle paylaşan tüm değerli hocalarıma, tezimin hazırlanmasında önemli katkıları ve destekleri ile her zaman yanımda olan Dr. Asiye Dikmen'e ve Dr. Kürşat Dikmen'e,

Asitanlık eğitimim süresince her konuda paylaşım ve yardımlarını esirgemeyen çok sevdiğim asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin tüm hemşire ve personellerine ve beni her zaman destekleyen sevgili aileme,

Ve tabi ki her zaman yanımda olan sevgili eşim Neslihan Yavuz'a

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLOLAR DİZİNİ.....	viii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.1. Karaciğerin Fizyolojisi.....	4
2.1.2 Karaciğerin Anatomisi	5
2.1.3. Fonksiyonel Cerrahi Anatomi.....	7
2.1.4. Karaciğerin Embriyolojisi ve Histolojisi	11
2.1.5. Safra Üretimi ve Salınımı.....	12
2.2. Karaciğer Rezeksiyonu	12
2.2.1. Karaciğer Rezeksiyon Endikasyonları	13
2.2.2. Karaciğer Rezeksiyonlarının Sınıflandırılması.....	14
2.2.3. Karaciğer Rezeksiyonu Komplikasyonları.....	15
2.3. Karaciğer Rejenerasyonu	16
2.4. Karaciğer Rejenerasyonu ve Ki-67	20
2.5. Hepatosellüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi	20
2.6. İskemik Önkoşullama	21
2.6.1. İskemi	23
2.6.2. Reperfüzyon	23

2.6.3. Karaciğerde İskemi Reperfüzyon.....	25
2.6.4. İskemik Önkoşullama Mekanizmaları	28
2.6.5. Direkt İskemik Önkoşullama	34
2.7. Silimarin	36
3. MATERYAL ve METOD	39
3.1. Deney Hayvanları	39
3.2. Çalışma Grupları	39
3.3. Cerrahi Prosedür	40
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	41
3.4.1. Serum Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Ölçümü.....	41
3.4.2. Serum Interleukin-6 (IL-6) Ölçümü	41
3.4.4. Serum Aspartat Aminotransferaz (AST) ve Bilirubin Ölçümü	42
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	42
3.6. Karaciğer Rejenerasyonun Hesaplanması	42
3.7. İstatistiksel Yöntem	43
4. BULGULAR	46
5. TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ.....	67
7. KAYNAKLAR	68
8. ÖZET	83
9. SUMMARY	85
10. EKLER.....	87
10.1. Etik Kurul Onay Belgesi	87

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
İÖK	: İskemik önkoşullama
HGF	: Hepatosit growth factor
IL-6	: İnterlökin 6
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü- alfa
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
TGF- α	: Transforme edici büyüme faktörü-alfa
HSS	: Hepatosit uyarıcı madde
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
TGF- β 1	: Transforme edici büyüme faktörü- beta 1
IL-1	: İnterlökin 1
IL-1 ra	: İnterlökin 1 reseptör antagonisti
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
eNOS	: Endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz
İRH	: İskemi reperfüzyon hasarı
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
PAF	: Platelet active edici faktör
NF- $\kappa\beta$: Nükleer faktör kappa beta
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
PKC	: Protein kinaz C

İR	: İskemi reperfüzyon
NO	: Nitrik oksit
UİÖK	: Uzak iskemik ön koşullanma
CO	: Karbonmonoksit
HMG-B1	: High mobility group box 1
SOD	: süperoksit dismutaz
RA	: Rölatif karaciğer ağırlığı
HO	: Heme oksijenaz
TLR-4	: Toll like reseptör-4
ADA	: Adenozin deaminaz
PCNA	: Proliferating cell nükleer antijen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karaciğerin segmentleri

Şekil 2. Couinaud'a göre karaciğerin segmental yapısı

Şekil 3. Karaciğer Rezeksiyonları

Şekil 4. İskemik onkoŐullama Mekanizması

Şekil 5. Silimarinin Kimyasal Formülü



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Cerrahi İşlem öncesi hazırlık

Resim 2. Hepatoduodenal ligamanın mikroklemple ile klempe edilmesi ile iskemik önkoşullama yapılması

Resim 3. Hepatik rezeksiyon sonrası görünüm

Resim 4. Rezeke edilen karaciğer dokusu

Resim 5: Sham grubunda patolojik değişiklik göstermeyen hepatositler (HEX40)

Resim 6: Parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde belirgin sitoplazmik vakuolizasyon ve oklar ile gösterilen artmış mitoz varlığı (HEX40)

Resim 7: Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde belirgin sitoplazmik vakuolizasyon ve ok ile gösterilen eşlik eden mitoz (HEX40)

Resim 8: Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde geniş nekroz alanları (HEX10)

Resim 9. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde oklar ile gösterilen artmış mitoz varlığı (HEX10)

Resim 10. Slimarin+ iskemik önkoşullama ve sonrasında parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde yaygın sitoplazmik vakuolizasyon ve oklar ile gösterilen belirgin mitoz artışı (HEX40)

Resim 11, İskemik önkoşullama sonrası parsiyel hepatektomi 2. grupta hepatositlerde yaygın sitoplazmik vakuolizasyon (HEX20)

Resim 12. Sham grubunda PCNA ile hepatositlerde immunboyanma yokluğu (X20)

Resim 13. parsiyel hepatektomi 2..grupta hepatositlerde PCNA ile seyrek nükleer immunboyanma (X40)

Resim 14. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde PCNA ile immunreaksiyon (X40)

Resim 15. Slimarin+ iskemik önkoşullama ve sonrasında parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde yaygın PCNA immunboyanması (X20)

Resim 16. İskemik önkoşullama sonrası parsiyel hepatektomi 2. grupta PCNA ile hepatositlerde immunboyanma (X40)

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışma gruplarının IL-6, TNF- α , AST, LDH ve Total Bilirubin değerleri

Tablo 2. Grup 1, 2 ve 3'e ait IL-6, TNF- α , AST ve Total Bilirubin değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 3. Grup 1, 4 ve 5'e ait IL-6, TNF- α , AST ve Total Bilirubin değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 4. Parsiyel hepatektomi sonrası rezeke edilen karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo 5. Parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo 6. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası mitoz oranlarının 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki mitoz oranlarına göre karşılaştırılması

Tablo 7. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası konjesyon varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki konjesyon varlığına göre karşılaştırılması

Tablo 8. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası nekroz varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki nekroz varlığına göre karşılaştırılması

Tablo 9. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası sitoplazmik vakuolizasyon derecesi ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki sitoplazmik vakuolizasyon derecelerine göre karşılaştırılması

Tablo 10. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası nötrofilik infiltrasyon varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki nötrofilik infiltrasyon varlığına göre karşılaştırılması

Tablo 11. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası PCNA oranı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki PCNA oranına göre karşılaştırılması

Tablo 12. Parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon özelliklerinin gruplara göre karşılaştırılması

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: IL6 Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

Grafik 2: TNF- α Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

Grafik 3: AST Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

Grafik 4: Total Bilirubin Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

1. GİRİŞ

Karaciğerin parsiyel rezeksiyonu, karaciğerin primer veya sekonder malign tümörleri, benign tümörler, travma, canlıdan karaciğer nakli, kistler ve abseler gibi nedenlerle uygulanan bir yöntemdir (1,2). Majör rezeksiyon sonrası geride kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon kapasitesi morbidite ve mortaliteyi yakından etkilemektedir. Karaciğerin rejenerasyon kapasitesi uzun zaman önce fark edilmiş, hatta mitolojik Prometheus efsanesinde bile bahsedilmiştir (3). Günümüze kadar olan süreçte karaciğer rejenerasyonunun fizyopatolojisinin anlaşılması için birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle bu çalışmaların büyük çoğunluğunu deneysel çalışmalar oluşturmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmı rejenerasyon kapasitesini artırmak için rezeksiyon sırasında en uygun cerrahi tekniğin geliştirilmesi ve cerrahi sonrası rejenerasyonun artırılmasını amaçlayan ilaç uygulamalarını içermektedir.

Karaciğer rejenerasyonu, normal karaciğer fonksiyonlarının kesilmesi ile başlayan düzenli bir dizi moleküler ve hücresel olayın ve DNA sentezinin indüklenmesi, hücre döngüsünün ilerlemesi, mitoz ve hücre bölünmesinin sonucudur (3). Artmış DNA sentezi öncelikle hepatositlerin ve diğer hücrelerin hiperplazisine bağlıdır ve periportal alandan başlayıp lobülün perisantral alanına dalga şeklinde yayılır (4). Hepatositler pek çok proteinin, büyüme faktörlerinin ve siklus bağımlı kinazların etkisi altında hücre döngüsüne girer ve G1/S ve G2/M kontrol noktalarından geçer. Hem hepatik rejenerasyon hem de metabolik fonksiyonlar özellikle ATP olmak üzere yüksek enerjili nükleotid trifosfatlardan enerji alımını gerektirir. Uygun bir strateji ile enerji kazanımı ve ATP üretimi artırılabilir.

Majör karaciğer rezeksiyonları sırasındaki iskemik reperfüzyon hasarı, postoperatif dönemde oluşabilecek karaciğer yetmezliği ile doğrudan ilişkilidir. Bu iskemik hasarın azaltılmasına yönelik birçok yöntem geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu yöntemler içerisinde en popüler olanı iskemik önkoşullama (İÖK) olarak tarif edilen tekniktir. İlk defa kardiyak ve renal fonksiyonlar üzerine etkileri çalışılmıştır (5,6).

Karaciğer İÖK ilk defa 1993 yılında deneysel rat modelinde tanımlanırken ilk klinik çalışma 2000 yılında yapılmıştır (7). İÖK, tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemi-reperfüzyon periyodlarının, uzun süreli iskemi durumlarında gelişebilecek organ hasarına karşı koruyucu etki oluşturmaktadır (8,9). Koruyucu etkiler sağkalımı artırmayı, nekrozun alanını azaltmayı, plazma enzim aktivitesini azaltmayı ve iskemi-reperfüzyon sonrası adenozin trifosfat (ATP) stabilizasyonunu kapsar (10,11). Son çalışmalar İÖK'nın ATP, adenin nükleotid havuzunu ve adenilat enerjisini koruduğunu göstermiştir (12). Hatta İÖK mitokondriyal membranda lipid peroksidasyonunu, mitokondriyal bütünlüğe zararı ve özellikle mitokondriyal geçirgenliği ve enerji metabolizmasını iyileştirir (13). Bu işlemin hepatoselüler ve endotel hücre hasarında azalma, ATP, karaciğer kan akımı ve mikrosirkülasyon artışının yanı sıra hepatik intraselüler oksijenizasyon ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (14).

Karaciğer rezeksiyonu sonrası oluşabilecek yetmezliği en aza indirmek için uygulanan cerrahi tekniklerin yanı sıra rejenerasyonu artırmak için bir takım ilaç, meyve ve bitki türleri kullanılmıştır. Bunlar arasında flavanoid içeren greyfurt (*Citrus paradisi*), yaban mersini (*Vaccinium spp*), üzüm (*Vitis vinifera L*), hint inciri (*Cactus pear*), papatya (*matricaria chamomilla*), deve dikenini sütü (*Silybum marianum*, Silimarin), mavi-yeşil su yosunları (*Spirulina maxima*, *Spirulina platensis* ve *Spirulina fusiformis*), propolis ve polisakkaritler (β -glukanlar) sayılabilir (15). Bunlar arasında üzerinde en fazla çalışma yapılanı silimarin olup alternatif tıptan modern ilaç gelişiminin en başarılı örneklerinden birisidir. Silimarin, devedikenini olarak bilinen *silybum marianum* türünden elde edilmiş doğal bir bileşiktir. Silimarinin karaciğer koruyucu ve antioksidant etkisi toksik maddelerin metabolizması sonucu açığa çıkan etanol, asetaminofen ve karbontetraklorid serbest radikalleri inhibe etmesiyle olmaktadır. Silimarin hepatik glutasyonu etkinleştirir ve karaciğerin antioksidan korumasına yardımcı olabilir. Aynı zamanda silimarinin hepatositlerdeki RNA polimeraz 1 aktivitesini uyararak protein sentezini artırdığı bilinmektedir. İnsanlar üzerinde daha önceden yapılmış bir çalışma, silimarin tedavisinin alkolik sirozda tedavi uygulanmamış hastalara göre yaşam süresini kısmen artırdığını belirtmektedir. Silimarin sahip olduğu antioksidant, anti-inflamatuar

ve anti-fibrotik etkileri sebebiyle dünya çapında karaciğer hastalarının tedavisinde en çok kullanılan doğal bileşiktir (16).

Bu çalışmada amacımız deneysel olarak yapılan karaciğer rezeksiyonu sırasında İÖK yapılan ratlara hepatektomi öncesi verilen silimarinin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini araştırmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.1. Karaciğerin Fizyolojisi

Karaciğer tarafından üretilen safra; başta bilirubin olmak üzere, safra asitlerine bağlı tuzlar, fosfolipidler, kolesterol, proteinler, elektrolitler, safra boyası, su ve birçok metabolitin karışımından meydana gelen, osmolalitesi plazma gibi 300mOsm/kg olan bir çözeltilidir. Günde yaklaşık olarak 600 ile 1000 ml arasında safra salınımı olur. Safra asitleri, karaciğerde kolesterolden sentez edilir ve kolesterol vücuttan safra yolu ile atılır.

Bağırsaklardan emilen pentoz ve heksozlar karaciğerde glikojen haline getirilir. Bu da glikojenez olarak adlandırılır. Tam tersine karaciğer glikojeni parçalayarak vücut için gerekli glikozu sağlayabilir. Bu işleme ise glikojenoliz adı verilmektedir. Karaciğer glikozu heksoz monofosfat üzerinden çeşitli şekillerde kullanılan pentozlara dönüştürür. Karaciğer aynı zamanda yağ asitleri ile nötral yağları sentez ve katabolize eden bir organdır. Yağ asitleri 4 karbonlu keton cisimciklerine ve aktif asetat gibi 2 karbonlu bileşiklere dönüştürür. Benzer şekilde gliserol de parçalanarak aktif asetata dönüştürülür. Kolestrol sentezi ve esterleştirilmesi temel olarak karaciğerde meydana gelen olaylardır. Karaciğer fosfolipid ve lipoproteinlerin de sentezinde ve parçalanmasında da önemli rol oynar.

Karaciğerde, aminoasitler kullanılarak çeşitli proteinler sentez edilir. Deaminasyon yoluyla aminoasitlerden şeker ve yağ asitleri oluşur. Transaminasyon yoluyla azotlu olmayan bileşiklerden aminoasit üretilebilir. Albumin ve globülinin üretildiği tek organ karaciğerdir. Protein metabolizmasının son ürünü olan ürenin yapıldığı en önemli yerlerden biride karaciğerdir.

Pıhtılaşmada rol oynayan proteinlerin çoğu karaciğerde sentez edilir. Bu proteinler fibrinojen, protrombin, faktör V, VII, VIII, IX, X, XI, XII'dir. Protrombin, faktör VII, IX, ve X'nun yapımı için K vitamini gereklidir. Bununla birlikte karaciğer

kandaki plazminojen aktivatörlerini uzaklaştırarak kontrolsüz fibrinoliz olayına engel olur.

Vitaminlerin tamamı karaciğerde depolanır ve karaciğer tarafından kullanılır. A, D, E, K, ve B12 vitaminlerinin ana deposu karaciğerdir. Karaciğer aynı zamanda vücudun detoksifikasyon merkezidir. Karaciğer steroid hormonlarını, ilaç ve kimyasal maddeleri oksidasyon, redüksiyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle yıkar veya değişime uğratar.

Karaciğer retikuloendotelyal sistemin bir parçası olan kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlenmesini sağlayan bir organdır. Karaciğerin yapılan kan akımı ölçümleri, kalbin dakikada pompaladığı kanın dörtte birinin karaciğere gittiğini ortaya koymuştur. Bu da normal bir kişide dakikada ortalama 1500 ml lik bir kan akımı anlamına gelir. Karaciğer kan akımının yaklaşık dörtte biri arteria hepaticalar tarafından, diğer kısmı ise vena porta tarafından sağlanır. Vena porta iç basıncı ortalama 7-10 mmHg kadardır. A.hepatika içindeki basınç ise, sistemik arteriyel basınçla aynıdır. Karaciğer sinüzoidlerindeki basınç ise, ortalama 4-8 mmHg kadardır. V. hepaticalardaki basınç 3-6 mmHg kadardır. V.cava içerisinde basınç ise, diyafragma düzeyinde 2-5 mmHg kadardır. Bu basınç farkları kanın kalp yönüne doğru akmasını sağlar. Vena porta kanının oksijen içeriği sistemik venöz kana oranla daha yüksektir (17,18,19).

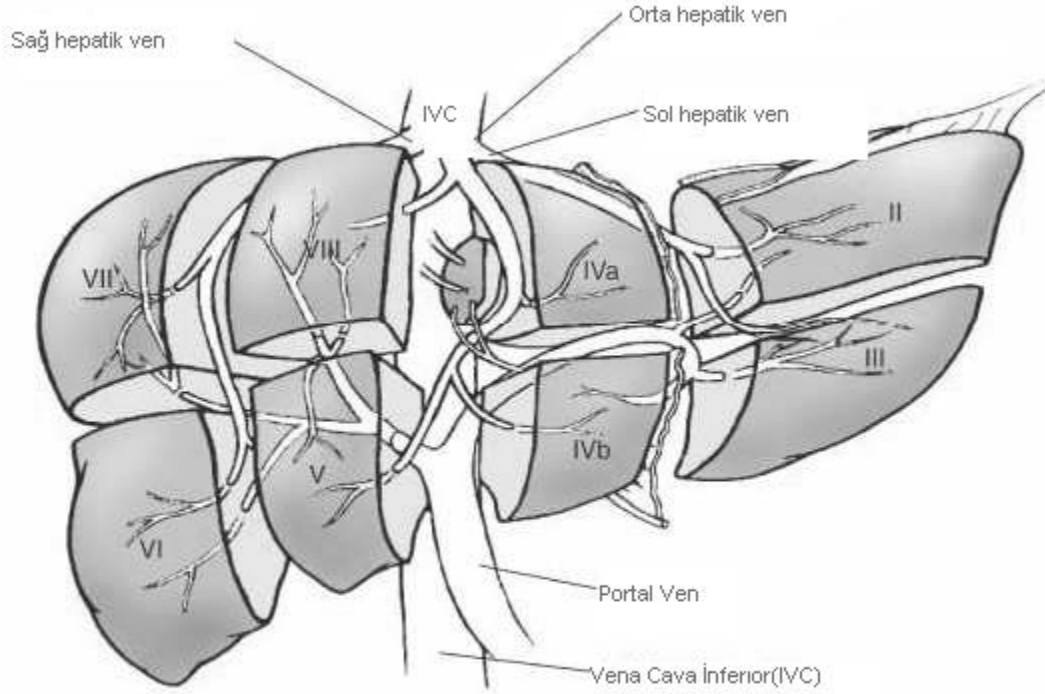
2.1.2 Karaciğerin Anatomisi

Karaciğer insan vücudundaki en büyük organ olup ortalama 1400 - 1700 gram ağırlığındadır. Vücut ağırlığımızın yaklaşık %2'sini oluşturur(20). Karaciğer batın boşluğunda sağ üst kadranda yer almaktadır. Karaciğerin süperiorda diafragma, inferiorda duodenum, transvers kolon, sağ sürrenal bez, sağ böbrek ile medialde ise özefagus ve mide ile komşulukları bulunmaktadır.

Karaciğerin diafragmatik yüzü ve viseral yüzü bulunmaktadır. Viseral yüz sağdan sola kolonun hepatik flexurası, transvers kolonun sağ yarısı, safra kesesi, duodenum, solda mide ve özefagusla, sağda böbrek ve sürrenal glandına komşudur. Sürrenal glandı ile karaciğer, peritonsuz kısımda yani çıplak alanda doğrudan temas halindedir. Tüm karaciğer Glisson kapsülü adı verilen peritonla örtülüdür (21, 22). Glisson kapsülü iki yaprağa ayrılarak diafragma yapışır, yapışma yerleri arasında kalan kısım karaciğerin peritonsuz bölümüdür, bu yapraklar ‘anterior ve posterior koronar ligamentler’ olarak adlandırılır. Bu ligamanlar sağda ve solda ‘trianguler’ ligamanları oluşturur, önde birleşerek falsiform ligamanı meydana getirirler.

Karaciğer batın ön duvarına ve diafragma falsiform ligament, koronar ligamentler ve ligamentum teres hepatis (oblitere olan sol umbilikal ven) yardımı ile tutunur. Falsiform ve ligamentum teres hepatis karaciğeri yüzeysel olarak sağ ve sol iki loba ayırır. Gastrohepatik ligament ile içinde portal ven ve hepatik arterin ve biliyer elemanların olduğu hepatoduodenal ligament (karaciğer pedikülü) karaciğeri yerinde tutan diğer anatomik oluşumlardır (19,23). Karaciğeri sağ ve sol olmak üzere ikiye ayıran fissüre ‘Ana Portal Fissür’ adı verilmektedir. Sağ ve sol lob portal kan akımı, arterial kan akımı ve safra akımı olarak birbirlerinden bağımsızdırlar.

Karaciğer sağda 4 segmente solda 4 segmente ayrılmıştır. Karaciğerin segmental anatomisi rezeksiyon açısından ve fonksiyonel olarak önem arz etmekte olup portal pedinküllerin dağılımı ve bunların hepatik venlerle ilişkisi, safra yolları ve arteriyel anatomi göz önüne alınarak karaciğer sekiz segmente ayrılmıştır. Sağ lobda sırası ile 5,6,7,8. segmentler, sol lobda 1, 2,3,4. segmentler vardır.



Şekil 1. Karaciğerin segmentleri (141).

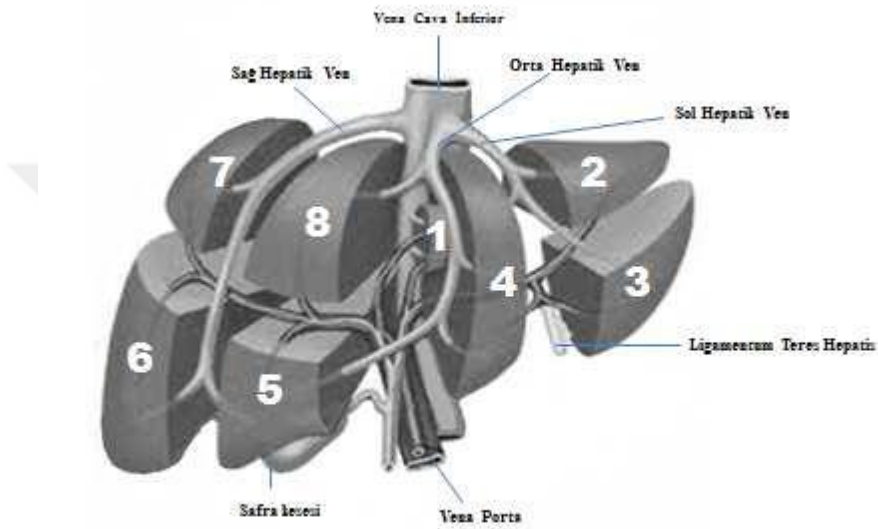
2.1.3. Fonksiyonel Cerrahi Anatomi

Couinaud tarafından yapılan tanımlama yapılanlar içinde en ideal ve aynı zamanda karaciğer ameliyatları için en kullanışlı tanımlamadır.

Karaciğer yapısal olarak hepatic venlerin durumuna göre ayrılmış segmentlerin birleşmesinden oluşur. Karaciğer içinde orta hepatic venin seyrettiği ana hepatic fissür ile sağ ve sol olmak üzere 2 loba ayrılır (19,24).

Esas olarak karaciğer 3 ana hepatic ven tarafından 4 segmente ayrılır. Bu segmentler portal pedikül dallarını da alırlar. Bu portal dallar hepatic venlere alternatif oluştururlar. Ana portal fissür, orta hepatic veni içerir ve anteriorda safra kesesi yatağının ortasından posteriorda vena kava inferiorun soluna doğru ilerler. Sağ ve sol karaciğer lobları da bu

ana portal fissüre göre ifade edilir. Sağ ve sol loblar arteriel, portal vaskülarizasyon ile biliyer drenajdan bağımsızdır (20,25,26).



Şekil 2. Couinaud'a göre karaciğerin segmental yapısı (20).

Karaciğer sağ ve sol lobları kendi aralarında portal fissürler ile ikiye ayrılırlar. Bu 4 alt grup Goldsmith ve Woodburne'nün tarifine göre segment olarak tanımlanırken, Couinaud'un bilimsel adlandırmasında sektör olarak ifade edilmektedir (17,25,26).

Karaciğerin arteriyel beslenmesi a.hepatika propriadan olur. Bu arter trunkus çöliakusun bir dalı olan a.hepatika kommunis'ten çıkarak hepatoduodenal ligaman içinde vena porta ve koledok ile birlikte uzanır. Porta hepatis seviyesinde sağ ve sol iki dala ayrılır. Vena portanın dalları ile birlikte karaciğer içinde dağılır. Hepatik arter karaciğer kanlanmasının %20'sini oksijenlenmenin ise %50'sini sağlar (19,23).

Karaciğerin portal ve hepatik olmak üzere iki ana grup veni vardır. Portal ven; splenik ven ve sup. mezenterik venin pankreas boynu hizasında birleşmesi ile oluşur. Hilusta sağ ve sol iki dala, bazen de üç dala ayrılır. Portal ven karaciğer içinde

segmentlere göre dağılır. Portal ven akımı, karaciğerin kanlanması %80'ini, oksijenlenmesinin ise %50'sini sağlar (27). Santral venler birleşerek vena hepaticaları oluştururlar. Karaciğerin sağ lobunun kanı sağ hepatic ven ile v.cava inferior'a boşalır. Sol hepatic ven karaciğer sol lobunun 2. ve 3. segmentlerinin kanını alır ve orta hepatic venle birleşerek v. Cava inferiora dökülür. Sağ ile sol karaciğer lobları arasındaki anatomik bölünme, safra kesesi yatağının medial kenarından inferior vena kavanın soluna doğru olan bir plan boyunca (Cantlie çizgisi) (17,28,29).

Ligamentum teres hepatisin solunda kalan karaciğer kısmı sol lob, sağında kalan kısmı ise sağ lob olarak adlandırılır. Portal venöz ve hepatic arteriyel dallar, segmental organizasyona uyarak segmentlerin içinde dağılırlar. Sektörler arası drenajı sağlayan hepatic venler, posterior vena cavaya doğru birbirine yaklaşır ve karaciğer içinde ana fissürü belirler (17,18).

Supin pozisyonda frontal planda, sağ portal fissür, sağ karaciğeri anteromedial (anterior) ve posterolateral (posterior) olarak iki sektöre ayırır. Sağ hepatic ven, sağ fissür içinde seyrederek. Karaciğer sağ lobu, içinden sağ hepatic venin seyrettiği sağ portal fissür ile ikiye ayrılır. Her iki sektör kendi içinde de ikiye ayrılır; anterior sektör (segment V) ve segment VIII) ve posterior sektör (segment VI ve segment VII) den oluşur (19,28,30).

Karaciğer sol lobu, içinde sol portal venin seyrettiği sol portal fissür ile 2 sektöre ayrılır. Sol portal fissür, ligamentum teres hepatisin posteriorunda, sol hepatic venin yönü ile aynı doğrultudadır. Böylece sol karaciğerin anterior sektörü, sağ lobun ana portal fissürünün solunda kalan bir kısmı ve sol lobun anterior kısmından oluşur. Posterior sektör, segment II denilen ve sadece sol lobun posteriorundan oluşan tek segmentten oluşur. Tek segmentten oluşan tek sektör budur. Anterior sektör, umbilikal fissür ile iki segmente ayrılır. Bunlar, medial segment (kuadrat lob ve segment IV) ve sol lobun anterior kısmından (segment III) oluşur (19,29,30).

Karaciğer hilusunda, sağ portal triad, sağ karaciğere girmeden 1-1,5 cm'lik kısa bir yol izler. Bununla birlikte sol tarafta portal triad, kuadrat lobun altında 3-4 cm kadar ilerler ve gastrohepatic ligamentin üst kısmında peritoneal kılıf ile örtülür. Alt yüzeyde

ise quadrat lobdan bağ dokusu ile ayrılır. Sol portal dal, bu seyri esnasında anteriora yönelir, umblikal fissür içinde ilerleyerek segment II ve segment III'ün dallarını ve segment IV'ün rekürren dalını verir. Kuadrat lobun altındaki pedikül, portal venin sol dalı ve sol hepatik kanal tarafından oluşturulur ve bu pedikül, umblikal fissürünün tabanında hepatik arterin sol dalıyla birleşir (17,23).

Portal pedikülün hilusta dallanması ve Scheele'nin (1994) tanımladığı sağ (segment V,VIII) ve sol (segment II-III) simetrik dağılım nedeniyle, segment IV süperior (IVa) ve inferior (IVb) olarak ikiye ayrılmıştır. Umblikal ven, orta hepatik ven bağlandıktan sonra segment IVb'nin drenajını sağlar ve bu segmenter rezeksiyonun başarısı için önemlidir (17,24). Kaudat lob (segment I), karaciğerin posteriora uzanan kısmıdır ve vena kava inferioru posteriora doğru sarar. Bu lobun, büyük vasküler yapılar arasında olması (posteriorda vena kava inferior, inferiorda sol portal triyad ve vena kava inferior, superiorda orta ve sol hepatik ven) önemini artırır. Kaudat lobun sınırı sol portal venden sol hepatik vene uzanan oblik düzlemdir. Sol kısım sabit büyüklükte ve sağ kısım değişken boyutta olabilir. Anterior yüzey, segment IV'ün posterior yüzeyi ile örtülüdür ve lateralde segment VI ve VII'nin içine karışır. Kan damarlarını ve biliyer dallarını, sağ ve sol portal triyaddan alır. Kaudat lobun sağ kısmı, portal venöz kanını, sağ portal ven veya vena porta bifurkasyonundan sağlarken, sol kısmı sadece sol portal venden sağlar. Benzer şekilde, arteriyel dolaşım ve biliyer drenaj, sağ tarafta posterior sektör damarlarından veya pedikülünden sağlarken, sol tarafta sol ana damarlarla sağlanır. Kaudat lobun hepatik venöz drenajı tektir ve doğrudan vena kava inferiora dökülür (17,23).

Kaudat lobun posterior kenarı, sol tarafta hafifçe diafragmanın crural alanına bitişik olup fibröz bir yapıya sahiptir ve çoğunlukla posterioriorda vena kava inferiorun arkasına genişler. Benzer yapıda fibröz bir doku segment VII'nin posterior yüzünden protrüze olarak vena cava inferioru sarar. Bu ligament toplumda yaklaşık %50'nin üzerinde mevcuttur. Kaudat lobun kaudal kenarı, papiller oluşuma sahiptir ve %27 hastada bu oluşum büyüktür (17,30).

2.1.4. Karaciğerin Embriyolojisi ve Histolojisi

Karaciğer, ön barsağın (foregut) endoderminden ve septum transversumun mezoderminden köken alır. Dört haftalık embriyoda ön barsağın, daha sonra duodenumun geliyeceği ventral bölgesinden bir divertikül meydana gelir. Divertikülün kaudal bölümü duktus sistikus ve safra kesesi şeklinde gelişir. Kranial bölümden ise karaciğer meydana gelir.

Hepatik parankim üç ana hücre grubundan oluşmuştur. Bunlar, biliyer epitelyum hücreleri, hepatositler, kupffer hücreleridir (31). Karaciğerin temel yapısal elemanı hepatositlerdir. Karaciğer 50.000-100.000 arasında değişen anatomik ünitelerden (lobül) oluşur. Karaciğer lobülü 0,7X2 mm boyutlarında olan bir poligonel doku kitlesidir. Bazı canlılarda lobüllerin birbirlerinden bir bağ dokusu ile ayrılmasına rağmen insanlarda böyle değildir. Lobüller birbirleriyle yakın ilişkide olduğu için kesin sınırlarla ayırım çok güçtür. Her lobül merkezindeki venin (santral ven) etrafında silindirik olarak sıralanmış hepatositlerden oluşur. Lobülün çevresinde dört ile beş portal yol yer almaktadır. Portal yollarda hepatik arteriyoller, portal venüller, safra kanalcıkları, lenfatikler ve sinirler vardır. Venül genelde bu yapıların en büyüğüdür, superior ve inferior mezenterik ve splenik venlerden gelen kanı içerir. Arteriyoldeki kan abdominal aortanın çölyak dalından gelir. Kübik epitelle örtülü olan kanal hepatositlerden gelen safrayı taşır ve hepatik kanal içine boşalır. Lenf ise bir ya da fazla lenfatikle taşınır ve sonuçta kan dolaşımına geçer. Bu yapıların hepsi bir bağ dokusu kılıfı içindedir.

Hepatositler karaciğer lobülü içerisinde ışınal tarzda sıralanmışlardır. Hepatosit plaklarının arasındaki boşlukta kapillerler bulunur ve bu kapillerlere karaciğerin sinüzoidleri denir. Sinüzoidal kapillerler sadece kesintili bir pencereye endotel tabakasından oluşan düzensiz genişlemiş damarlardır. Pencereye eleğe benzer bir görüntü oluşturan kümeler halinde toplanmışlardır. Sinüzoidler lobülün periferinde görülmeye başlar ve portal venlerin terminal dalları olan giriş venülleri ve hepatik arteriyollerle beslenir, lobülün merkezine doğru seyrederek santral vene boşalır (32, 33).

Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler ‘Disse aralığı’ denilen subendotelyal bir boşlukla ayrılmışlardır ve bu kısımda karaciğerin lenf sıvısı oluşur. Yağ depolayıcı hücreler (ito hücreleri) disse aralığına yerleşmiş yıldızlı hücrelerdir. Bu hücreler dışarıdan verilen A vitaminini lipid damlaları içinde retinil esterler halinde biriktirme kapasitesine sahiptir. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan kupffer hücreleri bulunur. Kupffer hücrelerinin başlıca görevleri yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek ve immunolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktır.

2.1.5. Safra Üretimi ve Salınımı

Safra, başta bağlı bilirubin olmak üzere, safra asitlerinin bağlı tuzları, kolesterol, safra boyaları, az miktarda protein (özellikle albümin), fosfolipitler (temel olarak lesitin), inorganik elektrolitler, su ve birçok metabolitin karışımından meydana gelen karmaşık bir çözeltilidir. Osmolalitesi 300 mOsm/kg’dır. Günde 500-1500 ml kadar safra salgılanır. Karaciğer safra asitlerini kolesterolden sentez eder ve safra kolesterolün vücuttan atıldığı başlıca yoldur. Safranın hemen tamamı, başlıca distal ileumda olmak üzere, ince barsaklarda geri emilir ve günde altı-on kez olmak üzere enterohepatik dolaşıma girer. Sülfonamid, penisilin, ampisilin vb. birçok ilaç ile östrojen, kortizol, aldesteron gibi hormonlar ile kalsiyumun atılımı safra ile olmaktadır (31, 34).

2.2. Karaciğer Rezeksiyonu

Karaciğer rezeksiyonları anatomik ve non-anatomik olmak üzere ikiye ayrılır. Vasküler anatomiye esas alan rezeksiyon tipleri anatomik rezeksiyon olarak adlandırılır. Bu tip rezeksiyonlarda anatomik fissürlere uyulur, fonksiyonel ve anatomik olarak tanımlanmış karaciğer bölümleri çıkarılır. Anatomik rezeksiyonların amacı fonksiyonel

bölünmelere uyarak daha kansız ameliyat yapmak, diğer bölümlerin kanlanmasını bozmamaktadır. Anatomik rezeksiyonlar sağ ve sol hepatektomiler, sektörektomiler, segmentektomiler ve subsegmentektomilerdir (35).

2.2.1. Karaciğer Rezeksiyon Endikasyonları

I-Malign tümörler

- 1- Primer karaciğer tümörleri
- 2- Metastatik karaciğer tümörleri
- 3- Hepatobiliyer malignensiler (safra kesesi tümörü, kolanjiokarsinom vb.)

II- Benign hastalıklar

- 1- Alveolar veya hidatik kist
- 2- Adenom
- 3- Hemanjiom
- 4- Abse

III- Travma

IV- Canlıdan yapılan karaciğer nakillerinde donör hepatektomi

2.2.2. Karaciğer Rezeksiyonlarının Sınıflandırılması

a-Kısmi hepatektomi:

1-Sağ hepatektomi 5, 6, 7, 8 segmentlerin beraberce çıkarımı olan girişime sağ hepaticlobektomi denmektedir.

2- Sol hepatektomi 2, 3, 4 segmentlerin çıkarımı olan bu girişimin diğer ismi sol hepaticlobektomidir.

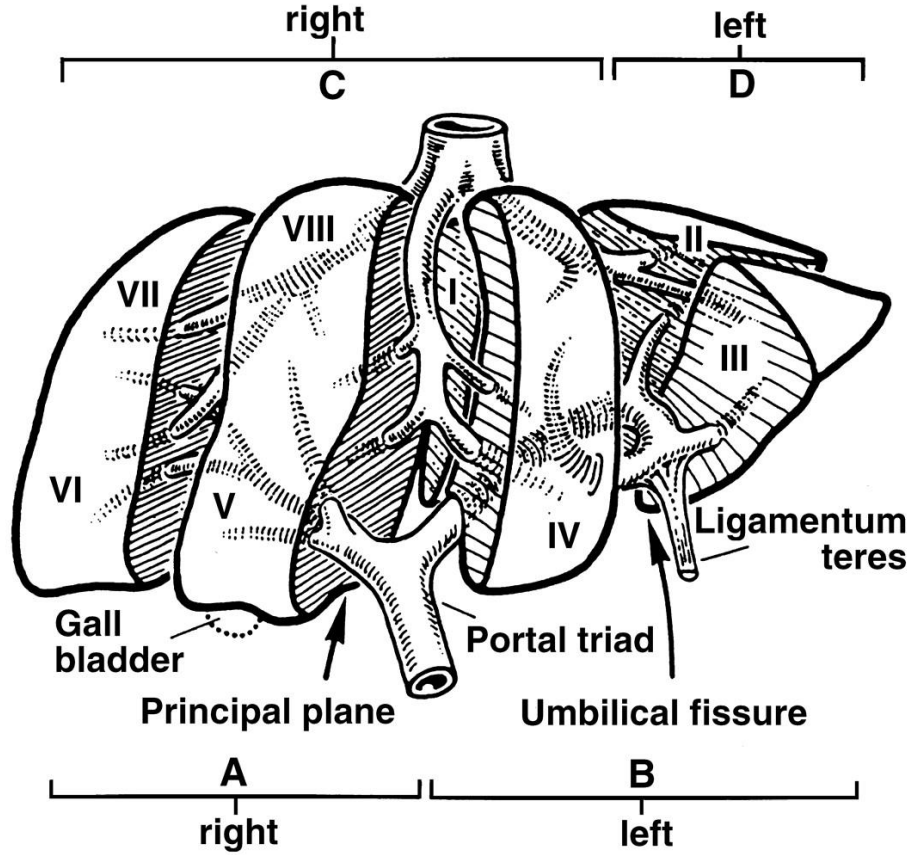
3-Sağ lobektomi 4, 5, 6, 7, 8 segmentlerin çıkarımı sol lateral segmentektomi olarak da isimlendirilir.

4-Sol lobektomi 2 ve 3 segmentlerin çıkarımı sol lateral segmentektomi olarakta isimlendirilmektedir.

5-Genişletilmiş sol hepatektomi ya da genişletilmiş sol lobektomi bazen sol hepatictrisegmentektomi olarak anılmaktadır. Burada sol hepatektomiye ek olarak sağ karaciğer segmentleri' de çıkarılmaktadır.

b-Karaciğer Transplantasyonu ve Total hepatic rezeksiyon

Lobectomy



Hepatectomy

Şekil 3 Karaciğer Rezeksiyonları (37).

2.2.3. Karaciğer Rezeksiyonu Komplikasyonları

Postoperatif komplikasyonlar en sık safra drenajı ile ilgili olan komplikasyonlar olmakla birlikte ateş, pnomoni, yara enfeksiyonu, tromboflebit, sepsis batın içi ve subdiaframatik apse gibi komplikasyonlar gelişmektedir. Özellikle siroz ve koagülopatisi olan hastalarda kanama önemli komplikasyonlar arasındadır (36).

2.3. Karaciğer Rejenerasyonu

Yaralanma veya rezeksiyondan sonra karaciğerin kendini rejenere etme kabiliyeti uzun süredir araştırmacıları büyülemektedir. Karaciğerin rejeneratif kapasitesi ile ilgili ilk bilgilere Hesiodos' un Theogoni' sinde rastlanmaktadır. Bir Titan olan Prometheus ateşi çalarak insana verdiği ve insanı şımarttığı için Zeus tarafından cezalandırılır. Ceza olarak Kafkas Dağları' nın en yüksek tepesine zincirlenir. Karaciğerinin bir kısmı her gün bir kartal tarafından yenir ve her gece eski halini alır. Ancak gerçek anlamda karaciğer rejenerasyonu fikrini ilk kez 1833' te Cruveilhier ortaya atmıştır (38).

Karaciğer erişkin boyutlara ulaştığında büyümesi durur. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir (39).

Bununla beraber karaciğerde doku kaybı ile sonuçlanan yaralanmalar, hastalıklar (viral hepatit, siroz ve toksik olaylar) veya karaciğerin cerrahi olarak bir kısmının çıkartılması gibi olaylardan sonra hızla kompensatuvar bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaştınca yine durur.

Geniş metabolik yüküne rağmen karaciğer en geniş hücre proliferasyon özelliğine sahip organdır. Hepatositlerin sadece % 0.0012 -% 0.01' i hayatın herhangi bir döneminde mitozu uğramaktadır (38, 40).

Sağlıklı karaciğerdeki bu düşük turnover toksik karaciğer hasarı veya cerrahi rezeksiyon durumunda değişmektedir. Karaciğerin 2/3 ' nin kaybından sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiner yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu, rezekte lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır (41).

Karaciğer rezeksiyonu veya parsiyel hepatektomi karaciğer kütleini azaltır fakat az da olsa geride hasarlı hücreler bırakır. 2/3 parsiyel hepatektomi modelinde, sol ve medial loblar ligate edilip eksize edilir. Böylece karaciğerin %65-70'i eksize edilmiş olur (42). Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücrenel hasarın eşlik etmediği pür karaciğer rejenerasyonunu sağlayan en iyi yaklaşım olduğu in vivo rejeneratif cevap çalışmalarında gösterilmiştir.

Parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve kalan lobüllerin genişlemesi şeklinde olur. Hepatik rejenerasyon için gerekli uyaranlar pankreas, diğer ekstrahepatik organlar ve rejenere olan karaciğerin bizzat kendisinden kaynaklanan humoral faktörlerdir (43).

Günümüzde bilgisayarlı tomografi, anjiyografi, sintigrafi gibi yöntemlerle yapılan çalışmalarda, karaciğerin rezeksiyon sonrası erişkinlerde 3-6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa sürede eski boyutuna ulaştığı gösterilmiştir. Siroz varlığında bu süre 9-15 aya kadar çıkmaktadır (44).

Karaciğer rejenerasyonu günümüzde tamamen aydınlatılmamış bir konu olarak araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Rejenerasyonda birçok büyüme faktörü ve sitokinler rol almaktadır.

Karaciğer rejenerasyonunu artıran faktörler şunlardır.

1- Hepatosit büyüme faktörü (HGF): En çok karaciğer ito ve kupfer hücrelerinde olmak üzere birçok dokuda ve plazmada bulunan protein yapısında bir büyüme faktörüdür (45, 46). Hepatektomiye takiben 5 dakika içinde ürokinaz aktive olur ve plazminojenin plazmine dönüşümünde rol alır. Plazmin matriks yıkıcı

metaloproteinazları uyarır. Matriks yıkımı sonucu HGF salgılanır (45). Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar (47).

2- Tümör Nekroz Faktörü- α ve İnterlökin-6 (TNF- α ve IL-6): Anti TNF- α antikoruna verilen, TNF- α reseptör eksikliği ve IL-6 gen delesyonu olan koyunlarda karaciğer DNA sentezinin bozulduğu gösterilmiştir (45).

3-Epidermal büyüme faktörü (EGF): Hepatositlerde DNA sentezini uyardığı belirlenen ilk faktördür. Hepatosit kültürlerinde mitojen etkisi kanıtlanmıştır(34). Hepatektomi sonrası artan noradrenalin uyarısıyla submandibular bezlerden ve Brunner bezlerinden salınımı artmaktadır (48, 49).

4-Transforme edici büyüme faktörü alfa (TGF- α): Karaciğer rejenerasyonunun başlangıç safhasından sonra rol oynadığı düşünülmektedir. EGF ile aynı reseptör üzerine etki eder. Hepatosit kültürlerinde DNA sentezini arttırmaktadır (50).

5-Norepinefrin: α 1- adrenerjik reseptörler yoluyla direkt, EGF' yi arttırarak indirekt yoldan karaciğer rejenerasyonunu artırır. Sempatik denervasyon ve α 1 reseptör blokajı DNA sentezini azaltmaktadır (51).

6-İnsülin: Portosistemik şant sonucu gelişen karaciğer atrofisi insülin verilmesiyle engellenebilmektedir. Primer mitojen olmamasına karşın hücre kültürlerinde diğer büyüme faktörlerinin etkisini arttırmaktadır (51).

7-Hepatosit uyarıcı madde (HSS): 53 kilodalton ağırlığında bir proteindir. İnvitro ve invivo olarak hepatotrofik etkisi vardır (52).

8-Seks hormonları: Hepatektomi sonrası hepatositlerde östrojen reseptörleri artarken androjen reseptörleri azalmaktadır. Östrojenin hücre kültürlerinde hepatosit bölünmesini arttırıcı etkisi vardır. Antiöstrojen bir ajan olan tamoksifenin invitro ve invivo karaciğer rejenerasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Buna karşın antiandrojenlerin belirgin bir etkisi gösterilememiştir (53, 54).

9- Diğerleri: Fibroblast büyüme faktörü (FGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), triiyodotironin (T3), retinoik asit, bazı ilaçlar (barbütratlar, diazepam, hipolipidemik ajanlar, antiepileptik ajanlar), büyüme hormonu, PGE 2, siklosporin, FK506, vazopressin gibi faktörlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir (55,56).

Karaciğer rejenerasyonunu inhibe eden faktörler şunlardır:

1-Transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) : Karaciğer rejenerasyonunun en önemli inhibitörü olan TGF- β 1 ito hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece α 2 makroglobuline bağlı inaktif formundadır. Zamanı geldiğinde aktive olarak rejenerasyonu sonlandırır. Bu zamanlamayı belirleyen faktörler bilinmemektedir (57).

2-İnterlökin-1 (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. Bilinen iki proinflamatuvar türü vardır; IL-1 α ve IL-1 β . IL-1 α asıl olarak hücre zarı ile ilgilidir ve etkisini hücreler arası temas aracılığıyla gösterir. Dolaşımda bulunan IL-1 β ; L-1 α 'ya göre daha fazla miktarlarda sentezlenir ve travmayı takiben oluşan karakteristik değişiklikleri indükler. IL-1' in etkileri TNF α 'ya yakındır ve benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olur. TNF α ve IL-1'in proinflamatuvar etkileri sinerjistikdir. IL- 1'in yarı ömrü altı dakika kadardır, bu nedenle akut travma veya hastalıkta kanda tespit edilebilme olasılığı TNF α 'ya oranla daha düşüktür. Ayrıca IL-6 yapımında artışa neden olarak akut faz reaktanlarının yapımını artırır. IL-1 reseptör antagonistleri (IL-1ra) olarak bilinen non-agonist IL-1 türevleri de travma sırasında salınır. Bu molekül, reseptörlere bağlanmak için IL-1 ile rekabete girer, reseptöre bağlandığında ise belirgin bir etki görülmez. İnflamasyon ve travma sırasında tespit edilebilen IL-1 ra'nın görevi IL-1 aktivitesinin regülasyonudur (58).

2.4. Karaciğer Rejenerasyonu ve Ki-67

İlk kez 1983' de Gerdes ve ark. tarafından hücre çekirdeğinde bulunan Ki-67 antijen ve buna karşı oluşan monoklonal antikör tariflenmiştir (58, 59). Ki-67 proteini tüm hücre sikluslarında tariflenmiştir. Hücre siklusu ilerledikçe antijen içeriği artar. G2-M evresinde maksimal seviyeye erişir. Ki-67 antijenine karşı tanımlanan monoklonal antikör ise hücre siklusunun G0 evresi hariç diğer tüm evrelerinde gösterilmiştir. Bu antikörün prognostik olarak korelasyon gösterdiği durumlar arasında nonhodgkin lenfoma, yumuşak doku sarkomları, santral sinir sistemi tümörleri (glioma, oligodendrioglioma, pineoblastoma, primer sinir sistemi lenfoması ve nörofibroma), meme karsinomu sayılabilir. Ki-67' nin diğer kullanılan yöntem ve maddelerden farkı sadece S evresinden ziyade hücredeki siklusun tüm büyüme evrelerinin sınıflandırılabilmesidir. Bu sınıflandırma, hücresel proliferasyon aktivitesinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (60, 61).

2.5. Hepatosellüler Zedelenmenin Değerlendirilmesi

Transaminazlar, bir amino grubunun, alfa-amino asitin, alfa keto aside transferini katalize eden bir grup enzim topluluğudur. Bunlar mitokondrial enzimlerdir. Transaminazların bulunduğu dokular akut bir yaralanma veya parçalanmaya uğrarlarsa bu enzimler sistemik dolaşıma katılırlar ve bu durumlarda serum aktivitelerinde artma görülür. Transaminazların iki önemli tipi klinikte kullanılmaktadır. Bunlar, serum aspartat amino transferaz (AST) ve serum alanin amino transferazdır. (ALT). Bu enzimlerin değerleri Karmen ünitesi olarak ölçülmektedir. Enzimlerin normal değerleri 0-40 arasında olmalıdır. Bu enzimler bütün vücut dokularında bulunur. Kalp, karaciğer ve iskelet kasında daha fazla vardır. Karaciğerde daha çok ALT bulunmaktadır. Bu enzimler normal popülasyonun %2-6 oranında yüksek değerlere çıkabilmektedir.

Yapılan birçok deneysel çalışmada serum enzim düzeyleri yüksekliği ile karaciğer yaralanması arasında paralellik saptanmıştır. Akut karaciğer hasarında serum enzim düzeyleri çok yüksek değerlere kadar çıkabilmektedir. Bilinmesi gereken diğer önemli bir indeks de ALT-AST oranıdır. Bu oranın ikiden yüksek olması hepatosellüler disfonksiyonu yansıtmaktadır. Akut karaciğer yaralanmasının olmadığı kronik karaciğer hastalıklarında ise, örneğin siroz olgularında bu enzimler normalin 1-1,5 misli yükselebilmektedir. Tıkanma ve kolestatik sarılıklarda da ALT ve AST 200-300 üniteye kadar çıkmaktadır. Enzim düzeylerinin çok yüksek olması ile prognoz arasında bir ilişki saptanmamıştır. Fulminan hepatitlerde karaciğerde çok fazla hücre kaybı olmasına rağmen enzimler çok yüksek değildir, fakat prognoz çok kötüdür. Bu olgularda enzimlerin yükselmesine neden olacak parankim hücresi kalmamıştır. Akut viral hepatitte ALT, AST den, akut alkolik hepatitlerde ise AST, ALT den daha yüksektir (62).

Transaminazlar normal hücre döngüsünü yansıtacak şekilde dolaşımında az miktarda bulunur, transaminazlardan zengin dokularda zedelenme durumunda serum düzeyleri yükselir. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesi sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Sadece fulminan seyirli hepatitlerde artık nekroze olacak yeterli miktarda hepatosit kalmadığında düzeyleri normal hatta düşük olabilir ki; bu kötü prognoz belirtisidir (63).

2.6. İskemik Önkoşullama

İRH'ı azaltmak amacıyla uzun süreli iskemi öncesinde uygulanan kısa iskemi-reperfüzyon periyodları İÖK olarak tanımlanır. İÖK ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (64). Araştırmacılar köpek miyokardında daha geniş bir infarkt alanı oluşturmak için uzun süreli iskemi öncesi ekledikleri birkaç kısa iskemi ve reperfüzyon epizodunun, infarkt alanını genişletmediği, aksine % 75

gerilettiğini gözlemlemişlerdir (64). Önkoşullamanın temeli yaklaşan bir tehlikeye karşı savunma mekanizmalarının doğal bir akış içinde, önceden ve topyekün harekete geçirilmesi esasına dayanır. Bu da asıl tehditten önce, tehdit unsuruna benzer veya ondan farklı, daha hafif bir örnek stresin uygulanması ile sağlanmaktadır. Bu örnek stres, savunma ve hazırlık mekanizmalarını tetikleyecek ancak dokuyu yaralamayacak düzeyde olmalıdır ki mantığı bulaşıcı hastalıklarda hastalığa bağışıklık kazanmak veya bulaş olursa hastalığı daha hafif geçirmek için yapılan aşı uygulamasına benzetilebilir. İÖK'nın ilk olarak tanımlandığı kalpte 40 dakikalık sürekli iskemi sonrasında ATP düzeyinde ciddi bir azalma ve hücre ölümü olduğu halde uzun süreli iskemi öncesinde dört kez tekrarlanan 10 dk'lık İR periyodunun sürekli iskemiye bağlı hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu koruyucu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamış ancak takip eden iskemi periyodlarında ilk iskemi dönemine göre ATP düşüşünde azalma olduğu ayrıca laktat, H⁺ ve NH₃ gibi zararlı maddelerin her perfüzyonla birlikte ortamdan uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (64). Miyokarda iskemik önkoşullamanın gösterilmesinden sonra önkoşullama deneysel çalışmaları başlamış ve bu fenomenin beyin, böbrek, spinal kord, iskelet kası ve karaciğer gibi organlarda da ortaya çıkabileceği gösterilmiştir.

İÖK'yü indükleyebilmek için gereken önkoşullama süreleri ve tekrarlayan epizodların türe ve organ sistemine spesifik olduğu değerlendirilmiştir (84). Sıçan, tavşan, köpek ve insan kalbi için literatürde İÖK oluşturmak için farklı sayıda iskemi-reperfüzyon süreleri ve tekrar protokolleri bulunmaktadır (64,65,85). İÖK'nün erken döneminde oluşan koruyucu etkinin süresi de türe özgü olarak değişiklik gösterebilir. Miyokarddaki bu koruyucu etki tavşanda 30 dakika sürerken (66) bu süre sıçanda bir saat (86), köpekte iki saat olduğu gösterilmiştir (87). İskemik önkoşullamanın geç dönemdeki koruyucu etkisinin ortaya çıkması için gereken zamanın da türler arasında farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Genel olarak erken dönemdeki koruma, önkoşullamanın indüklenmesinden itibaren 3 saatlik bir koruma dönemini takiben 12-24 saatlik korumasız bir dönem şeklinde tanımlanırken geç dönem korumanın ise,

önkoşullamayı takip eden 12-24. saat sonrasında başlayıp 3-4 gün sonraya kadar devam ettiği bildirilmektedir (88).

2.6.1. İskemi

İskemi; doku ve organların kanlanması/durması/azalması sonucu yeterli düzeyde oksijen ve enerji kaynağının sağlanamadığı süreçtir. Bu süreç kanlanması azalan doku ve organlarda hücre hasarıyla sonuçlanır. Hücre hasarı; dokunun iskemiye olan duyarlılığı ve iskeminin süresine bağlı olarak geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz doku hasarına neden olur.

İskemi ile başlayan hipoksi sürecinde oksidatif fosforilasyon dolayısıyla ile adenosin trifosfat (ATP) üretimini bozulur. Artan enerji açığını karşılamak için anaerobik glikoliz aktive olur ve dokuda laktik asit birikimi gelişir (67). Bunun sonucunda hücre içi asidoz meydana gelir ve enzimatik reaksiyon kinetikleri olumsuz yönde etkilenir. Piruvatın laktata dönüştüğü anaerobik glikolizin son basamağında etkin olan laktat dehidrogenaz (LDH) seviyesi bu yüzden iskemik hasar sonrası önemli bir parametredir (68).

Azalan yüksek enerjili fosfat seviyeleri ile birlikte ATP bağımlı iyon kanalları işlevini yitirir. ATP bağımlı Na^+/K^+ pompasının bozulması sonucunda Na^+ ve Cl^- hücre içinde birikirken, hücre içi K^+ azalır. ATP bağımlı diğer bir pompa ise hücre içi ve hücre dışı Ca^{+2} u dengelemektedir. Hücre içi Ca^{+2} artışı ile birlikte proteolitik enzimler ve fosfolipazlar aktive olurlar. Fosfolipazların aktivasyonu sonucu oluşan araşidonik asit mitokondrial enzimleri inhibe ederek SOR'un artışına sebep olur (69).

2.6.2. Reperfüzyon

İhtiyaç duyulan enerjinin ve oksijenin yeniden sağlanması için iskemik dokunun yeniden kanlanması hayati önem taşır. Ancak iskemi sonrası yeniden sağlanan kan

akımı, iskemi süresince oluşmuş olan metabolitlerle oksijenin reaksiyona girmesi sonucu daha toksik metabolitlerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Kısa süreli iskemilerde metabolitlerin etkisi hemen hemen yok denecek kadar az iken, uzun süren iskemilerden sonra meydana gelen reperfüzyonda iskemiden daha fazla doku ve hücre hasarı meydana gelebilir (70). Bu durum reperfüzyon hasarı olarak adlandırılır. Reperfüzyon sonrasında oluşan serbest oksijen radikalleri bu hasarda önemli rol oynamaktadır (67,71).

İskemi ile glikolitik yol aktive olur. Bu aktivasyon sonucunda ortamda artan nikotinamid adenin dinükleotid (NADH), sitrat, laktat birikimi ve asidoz oluşmasıyla birlikte glikolitik yolu inhibe etmeye başlar. ATP'nin anaerobik yoldan üretimi yeterli enerjiyi sağlayamadığı için hücre bütünlüğünü sağlayan enzimatik mekanizmaların bozulmasıyla doku hasarı başlar. ATP bağımlı iyon kanallarının işlevselliğini yitirmesi sonucunda hücre içinde artan Na^+ reperfüzyon sürecinde Ca^{+2} ile yer değiştirir. Hücre içine giren Ca^{+2} in mitokondrial konsantrasyonu artar. Artan Ca^{+2} fosfolipazların ve proteazların aktive olmasına neden olur. Bu aktivasyon hücre membranı ve iskeletinde hasara neden olur. İskemik süreçte ortaya çıkan metabolitler, reperfüzyon ile birlikte aktive olan araşidonik asit metabolizması sonucunda, sitotoksik ürünler ve radikal türevlerine dönüşür. Yine reperfüzyonla birlikte gelişen enzim aktivasyonları ile SOR'un (71) üretimi artar. Böylece iskemi sürecinde zemini hazırlanmış olan hücre hasarı reperfüzyonla birlikte hız kazanır (72).

İskemik süreçte oluşan NADH reperfüzyonla sağlanan O_2 ile reaksiyona girerek süperoksit anyonunu oluşturur. Süperoksit anyonu mitokondrial nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girer. Bu reaksiyon sonucunda potent peroksinitrit radikali ortaya çıkar. Süperoksit radikali lökositlerin, araşidonik asit metabolizmasından oluşan lökotrienler ise trombosit ve lökositlerin endotele adezyonunda rol oynarlar (73,74). Lökosit kaynaklı süperoksit de endotel kaynaklı NO sentazı (eNOS) inhibe eder. Salınan Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- α) mikrovasküler dolaşımı etkiler ve vasküler permeabiliteyi artırarak ödeme neden olur. Yapılan çalışmalarda İRH'daki vasküler değişikliklerin inflamatuvar değişikliklerle aynı olduğu gösterilmiştir (74). İRH'da dokuda sonuç olarak mikrovasküler hasar, nekroz ve hemoraji meydana gelir.

2.6.3. Karaciğerde İskemi Reperfüzyon

Karaciğerde meydana gelen İRH; sıcak İRH ve soğuk-depolama hasarı olarak sınıflanabilir. Sıcak İRH; vasküler oklüzyon, karaciğer nakli, hipovolemik şok, bazı tip toksik karaciğer hasarları, veno-okluziv hastalıklar gibi klinik tablolarda görülür. Soğuk-depolama reperfüzyon hasarı ise nakil öncesi organ korunması sırasında oluşmaktadır (75).

Hepatik iskemi reperfüzyon hasarında mikrovasküler yatakta bifazik bir gidiş söz konusudur. Hasarın erken dönemlerinde vazokonstriksiyon ortaya çıkarken daha sonra vazodilatasyon gelişmektedir. Vazokonstriksiyonda endotelin aktivasyonu rol oynarken vazodilatasyon NO'ya bağlı olarak gelişir. Erken dönemde endotel hücre şişmesi, vazokonstriksiyon, sinüzoidler içinde trombosit agregasyonu gelişir ve hepatik mikrosirkülasyon bozulur. Endotelyal ve Kupffer hücre şişmesi hücreler arası ödem sonucunda oluşur. Vazokonstriksiyon ise NO ve endotelin arasındaki balansın bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Sinüzoidlerin daralması sonucu lökosit akımındaki azalma, lökosit adezyonuna yol açar. Bu adezyon sonrasında sinüzoidal akım daha da azalır ve hipoksi derinleşir. Kupffer hücreleri ve nötrofil aktivasyonu oluşur, sitokin ve SOR açığa çıkar. SOR hücrede sarkolemma, sarkoplazmik retikulum gibi tüm membranlarda ayrıca ekstrasellüler kollajen matriks, kontraktıl proteinler ve kalsiyuma bağlı mekanizmalarda bozukluklar oluşturur. Serbest sitozolik kalsiyumun artışı protein kinazları, fosfolipazları aktive eder. Aşırı Ca²⁺ yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır (76).

Hepatik İRH'da artan TNF- α ekspresyonu, serbest oksijen radikalleri, PAF (Platelet Aktive edici Faktör); bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa- β (NF- κ B) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) (77) için aktivasyonuna sebep olur. TNF- α hücre membranlarındaki reseptörlerine bağlanıp aktive olunca spesifik hücresel cevap oluşmakta ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. TNF- α 'nın esas olarak 2 tane spesifik transmembran reseptörü bulunmaktadır. TNF-rI ve TNF-rII. TNF-rI apoptozisi, sitotoksiteyi, adezyon molekül ekspresyonunu ve NF- κ B aktivasyonunu

sağlamaktadır. Birçok hücrede NF- κ B hücre sitoplazmasında inhibitör alt ünitesi olan I κ B şeklinde bulunmakta bu şekilde NF- κ B'nin hücre nükleusuna geçişini ve gen ekspresyonu yapmasını önlemektedir. Bazı stimuluslar özellikle lipopolisakkaritler; I κ B'nin fosforilasyonuna ve degradasyonuna yol açmakta böylece NF- κ B hücre nükleusuna geçerek gen ekspresyonunu başlatmaktadır.

Erken dönemde Nikotinamid Adenin Dinukleotid Fosfat (NADPH) seviyelerinin düşmesi ve fazla miktarda arjinaz salınması nedeni ile NO düzeyi düşer. Bu mekanizmada rol alan mediyatörlerin arasındaki ilişki bu mediyatörlerin transkripsiyonel regülasyonu ile olmaktadır. iNOS'un aktivitesi endotoksin ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. iNOS, sitokinler (TNF- α), kemokinler (epitelyal nötrofil aktive edici protein) ve adezyon molekülleri (ICAM-1) kısmen NF- κ B ile kontrol edilmektedir. Karaciğerde NF- κ B aktivasyonu proinflamatuvar sitokinler ve adezyon moleküllerinin sentezini artırmaktadır. Karaciğerde İRH olduğu zaman p50/p65 heterodimer ve p50 homodimer NF- κ B kompleksi 1 saat içinde hızlı bir şekilde aktive olmakta, 3 saat sonunda düzeyi yükselmekte ve reperfüzyonun 5.saatinin sonunda azalmaktadır. Aynı zamanda iNOS mRNA ekspresyonu reperfüzyondan sonraki 1. saatte aktive olmakta ve 5. saatin sonuna kadar artış göstermektedir. Sonuçta oksidatif stres ile karaciğerde NF- κ B aktive olmakta ve bu da iNOS gen aktivasyonunu sağlamaktadır.

Serbest radikallerin en zararlı etkisi lipid peroksidasyonudur. Hücre membranı doymamış yağ asitleri ve fosfolipidlerden oluşur. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonunu başlatarak hücresel hasara neden olur. Lipid peroksidasyonu, lipid molekülündeki iki doymamış hidrojen bağı arasında yer alan metilen grubundan hidrojen atomunun ayrılması ile başlayan kompleks bir zincir reaksiyonudur. Oksijenin yer aldığı yeni karbon merkezli lipid serbest radikalleri, lipid hidroksiperoksit veya lipid peroksiti oluşturur. Ortaya çıkan lipid hidroperoksitler ve diğer konjuge lipid hidroperoksitlerin dienleri yapısal değişikliğe uğrayarak, alkanal, alkenel, hidroksialkenal, malondialdehid (MDA) ve volatil hidrokarbonları içeren birçok ürünü oluşturur. Lipid peroksidasyonu hücre hasarında serbest radikallerin rolünü araştıran çalışmalarda ilk olarak incelenen reaksiyondur (78).

Sıcak İRH'da iki evre söz konusudur. Erken evre (0-2 saat) oksidan stresle karakterizedir. SOR üretimi ve salgılanması doğrudan hepatositlerde hasarlanmaya neden olur. Geç evre ise hepatic reperfüzyondan 6–48 saat sonraki dönemdir. İnflamatuvar durum toplanan nötrofil lökositler aracılığıyla gerçekleşir (79) .

Erken fazda Ca+2 artışı ve SOR'nin oluşumu etkilidir. Hücre içi Ca+2 düzeyi normal hepatosit fonksiyonunun devamı için önemlidir. Hücre içinde Ca+2 artışı hepatosit hasarını başlatan erken mekanizmalardan birisidir. Ayrıca apopitoz ve nekroz yollarını da aktive etmektedir. İskemi boyunca hücrede Ca+2 artışı saptanmazken reperfüzyon sırasında hızlı bir (reperfüzyonun birinci dakikasında Ca+2 miktarı iki katına çıkmaktadır) Ca+2 artışı gözlenir.

Geç fazda ise; nötrofillerin, makrofajların, lenfositlerin ve trombositlerin karaciğere migrasyonu ile inflamasyon yanıt uyarılır. Sinüzoidal kan akımında değişiklikler ortaya çıkar. Hepatositlerdeki hasar SOR ve ekstrasellüler sitokinler ile meydana gelmektedir (80).

Karaciğer iskemisini takiben sinüzoidal hücre apopitozu reperfüzyon sonrasında hızla ortaya çıkmaktadır (30 dk). Hepatosit apopitozu ise 240 dk reperfüzyon sonrasında gösterilmiştir (81) .

Karaciğerde İRH, akımın geçici olarak kesildiği karaciğer rezeksiyonlarında, karaciğer cerrahisinde intraoperatif kan kaybını azaltma manevraları sonrası ve karaciğer transplantasyonunda ortaya çıkmaktadır. Karaciğer transplantasyonunda, nakledilen yeni karaciğerin fonksiyon kaybının en önemli nedenlerinden biri İRH dır (82).

Karaciğerdeki İRH kolestaza ve bu da erken ve genellikle geçici olarak safra sekresyonunda azalmaya neden olmaktadır. Safra akımındaki bu değişiklikler serum transaminaz düzeyleri, karaciğer miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ve serum bilirubin değerlerindeki artış ile beraberdir (80).

Ayrıca karaciğer İRH sırasında meydana gelen venöz konjesyon sonucu barsak ve dalaktan salınan proinflamatuvar mediatörlerin sistemik dolaşıma geçmesi karaciğer ve akciğer hasarını tetiklenmektedir (83).

Karaciğerde İRH'nın hücresele düzeyde etkisinin en iyi göstergeleri serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) gibi enzim aktiviteleri ve histopatolojik değişimlerdir. İskemi reperfüzyon hasarı, hastalarda ve deney hayvanlarında oldukça kompleks mekanizmalarla sistemik ve hemodinamik bozukluklara yol açmaktadır (83).

Bugüne kadar farklı farmakolojik, cerrahi ve genetik metodlar kullanarak iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı organların korunmasını amaçlayan çok sayıda deneysel çalışma planlanmıştır. Deneysel ortamda başarılı gibi görünen çalışmaların çok azı klinikte uygulanma şansı bulmuştur. Bunda İRH'nın tek bir basamak veya mediatörün bloke edilmesi ile önlenemeyecek kadar karmaşık bir mekanizmalar zincirine sahip olmasının rolü büyüktür.

2.6.4. İskemik Önkoşullama Mekanizmaları

Hepatik İÖK ilk olarak 1993' te Lloris-Carsi ve ark. tarafından (89) uygulanmıştır. Portal triadın beş dakika klemplenmesinden sonra uygulanan 10 dk'lık reperfüzyon sağlanmış ve ardından 90 dk iskemi sonrası önkoşullama uygulanan grupta önkoşullama uygulanmayan gruba göre yaşam sürelerinde artış ve karaciğer enzim düzeylerinde düşüş gösterilmiştir (90). Bu etkinliğin gösterilmesi ile başlayan süreçte araştırmacılar iskemik önkoşullama mekanizmasına yönelmişlerdir.

Hepatik İÖK'nün hepatosellüler hasarda (91), TNF- α (92) ve IL-6 salınımında, lökosit-endotel hücre etkileşiminde (93), endotelial hücre hasarında, hepatosellüler apoptozda (94), uzak organ hasarında (92) azalma ve doku ATP düzeyinde (95), periferik karaciğer kan akımında, mikrosirkülasyonda (96), hepatic intrasellüler oksijenizasyonda artma sağladığı gösterilmiştir.

Karaciğerdeki İÖK' nün adenosin, NO (97), protein kinaz C (PKC) (98), ısı şok proteinleri, tirozin kinazlar (99), mitojen-aktif protein kinazlar (98), oksidatif stres, NF- κ B (100) ve apoptoz kaskadının düzenlenmesi (94) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.1). Tam olarak netleşmemekle birlikte İÖK etki

mekanizmasında en çok araştırılan ve üzerinde durulan başlatıcı ve düzenleyiciler adenozin, PKC, ısı şok proteinleri ve NO olmuştur (90).

2.6.4.1. Adenozin

Adenozin, İÖK' de hem tetikleyici hem de mediyatör olarak görev yaptığı düşünülen ekstrasellüler bir moleküldür. İskemi sırasında ATP adenozine yıkılır. İR periyodları sırasında NO gibi endotelden sentezlenerek vasküler ve interstisyel kompartmana salınır. Adenozin lökosit adezyonunu, nötrofil ve platelet fonksiyonunu, serbest radikal oluşumunu inhibe eder ve adhezyon moleküllerinin oluşumunu azaltır. Kendisi de potent bir vazodilatatör olan adenozin endotelial hücrelerden NO sentezini uyarmaktadır (97). Ancak, kısa yarılanma ömrü ve belirgin kardiyovasküler yan etkileri klinik uygulamayı sınırlamaktadır.

Adenozinin İÖK' deki işlevini saptamak için birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Peralta ve arkadaşları iskemi ve ardından reperfüzyon hasarına maruz bırakılan deneklere adenozin verildiğinde reperfüzyon sonunda karaciğer kan akımının arttığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada İÖK uygulanan deneklere adenozin yıkımında rol alan adenozin deaminaz (ADA) verildiğinde karaciğer kan akımının İÖK'ye bağlı karaciğer kan akımındaki artış etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (98).

İskemik önkoşullamanın 10 dakikalık iskemi süresi boyunca tüketilen hücre içi ATP, ADP ve AMP, ekstrasellülerde yüksek miktarda adenozin birikimine neden olmaktadır. Adenozin, NOS indüksiyonu ile NO seviyesinde de artışa neden olur. Ancak, iskeminin 10-15 dakikadan daha uzun tutulması halinde adenozin seviyesi düşmeye, o ana kadar minimal düzeyde seyreden ksantin düzeyi de hızla yükselmeye başlar (91). Artan ksantin, reperfüzyonla birlikte yüksek miktarda O₂⁻ oluşumuna neden olmaktadır. Bu süperoksid iyon (O₂⁻), adenozinin indüklediği ve koruyucu etkisinden yararlanması beklenen NO'yu yine bir oksijen radikali olan ONOO⁻ 'e dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır. Sonuçta, 10-15 dakikadan daha uzun iskemilerde İÖK'nün faydası ortadan kalkmakta işlem önkoşullama yerine kendisi İRH' a neden olmaktadır.

Adenozinin A1 reseptörleri miyokarda bulunurken A2 reseptörleri karaciğer yerleşimlidir. A2 reseptörü bloke edildiği zaman İÖK' nün rat karaciğerindeki koruyucu etkisinin kalktığı gösterilmiştir(97). A2 reseptör aktivasyonunun sinüzoidal endotel hücrelerde cAMP düzeyini arttırdığı bunun da İÖK' nün koruyucu mekanizmalarından biri olduğu gösterilmiştir (98). A2 reseptör antagonistlerinin hepatic İÖK' nün hemen ardından meydana gelen NO düzeyindeki artışı önlediği saptanmıştır (97).

2.6.4.2. Protein kinaz C (PKC)

İÖK sırasında PKC aktive olmaktadır. PKC' nin kardiyoprotektif etkileri mevcuttur ayrıca aktivasyonu NOS gibi proteinlerin sentezini arttırmaktadır. UİÖK'nün sinyal yolu ile regülasyonu halen netleşmemiştir. Gelişmelerle birlikte multiple mediatorlerin ortaya konması sonucu sinyal aracılı birden fazla yolağın sırayla veya aditif etki için birbirine paralel olarak devam ettiği düşünülmektedir. PKC yolağının etkinliği ratlarda gösterilmiştir. Selektif bir PKC antagonisti olan seleritinin, ratlarda 15 dakikalık infrarenal aortik artere uygulanan UİÖK'nün, miyokarddaki koruyucu etkisini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (101). Aynı etki MAO (monoamin oksidaz) ile de gösterilmiştir. Yapılan başka çalışmalarla da PKC'nin etkinliği ortaya konulmuştur. Bu çalışmalarda farklılık gösteren PKC'nin mediatörü olarak değerlendirilen moleküller olmuştur. PKC tetikleyicisi olarak adenosin (102), bradikinin, opioidler (103) ve NO (104) düşünülmüştür.

2.6.4.3. Isı Şok Proteinleri

Isı şok proteinleri hipertermi ve iskemi sonrası artan intrasellüler proteinlerdir. Ratlarda hepatic iskemik hasarın mediatörleri olarak değerlendirilmiştir. Ishikawa ve arkadaşları ısı şoku önkoşullaması yapılan rat karaciğerlerinde ısı şok proteinlerinin, iskemi sırasında mitokondriyal membran bütünlüğünü koruduklarını, reperfüzyon

sırasında ise yüksek enerjili fosfatlar oluşturarak iskemiye karşı gelişen toleransa katkıda bulduklarını saptamışlardır (105).

Oksidize hemin biliverdin ve karbonmonoksit (CO) dönüşümünün hız kısıtlayıcı enzimi olan heme oksijenaz (HO) ısı şok proteinleri ailesindedir. Biliverdin daha sonra güçlü bir antioksidan olan bilirubine metabolize olur. CO guanilat siklaz aracılığı ile intrasellüler mesajcı ve tıpkı NO gibi vazodilatör olarak etki gösterir. Heme oksijenaz-1 izoformu (HO-1) hipoksi, serbest radikaller, ısı gibi durumlarda indüklenir. HO-1 in hepatoprotektif etkisi gösterilmiştir. Lai ve arkadaşları karaciğer uzak iskemik önkoşullaması 4. saatte HO-1 in aktive olduğunu ve bu overekspresyonun 24 saate kadar devam ettiğini göstermişlerdir (106). İmmunohistokimyasal boyama ile HO-1 indüksiyonu hepatositlerde gösterilirken periferik lenfositlerde gösterilememiştir. Bu modelde ayrıca spesifik HO inhibitörü çinko-protoporfirin-IX (ZnPP) verilen grupta ÜİÖK'nün hepatoprotektif etkisinin ortadan kalktığı gözlenmiştir.

2.6.4.4. Nitrik Oksit

NO, NOS'a bağlı NADPH ile L-arjininin L-sitrullin'e dönüşümü ile ortaya çıkan fizyolojik bir maddedir. Yarılanma ömrü yaklaşık 5-10 saniye kadar kısa bir süredir. Hepatik mikrosirkülasyonu düzenlemede NO'nun rolü vardır. NO'nun bu regülasyonda oldukça önemli role sahip olup iskemi reperfüzyon hasarını artırdığı yönünde sonuçları olan (107,108) çalışmalar var olmakla birlikte, Philips ve arkadaşları derleme çalışmasında diğer yazarların NO'nun koruyucu etkisine işaret ettiği görülmektedir (109). Bu zıt etkilerin sebebi deneysel çalışmalardaki NO'nun enzimatik kaynağı, İÖK'nün süresi, önkoşullama uygulanan organ, hücresel düzeydeki indirgenme reaksiyonları potansiyeli, reperfüzyon süresi gibi deneysel çalışmanın koşullarına bağlı olabilir. Salgılanan NO'nun düzeyi, hasar verme mi yoksa hasardan koruma yönünde mi etkisi olacağını belirler. NO'nun yüksek düzeyleri hidrojenperoksit gibi reaktif oksijen türevlerinin artışına sebep olarak hasarı artırırken, düşük düzeydeki artışlarının koruyucu

olduğu gösterilmiştir (110). Direk İÖK'nün NO bağımlı olarak regule edildiği karaciğer de dahil birçok organda gösterilmiştir (90). Non-selektif NOS inhibitörü olan L-NAME (NG-nitro-L-arjinin metil ester) in iskemik önkoşullamanın koruyucu etkisini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (111). Bununla ilişkili olarak İÖK, NOS ekspresyonunu artırarak NO yükselişine işaret eden NO oksidasyon ürünleri, nitrit ve nitratta artışa neden olur (112). NO'nun direk olarak eliminasyonunu sağlayan NO çöpçüsü C-PTIO (2-(4-kaboksifenil-4,4,5,5-tetrametilimidazolin-1-oksil-3-oksit potasyum tuzu)'nun İÖK'nün etkisini azalttığı gösterilmiştir (113).

NO; üç izoformu olan endotelial NOS tarafından sentezlenir (77). Bu enzimin endotelial NOS (eNOS), nöronal NOS (nNOS) ve indüklenebilir NOS(iNOS) (77) olmak üzere üç izoformu mevcuttur. Bunlardan eNOS ve nNOS yapısal olarak eksprese edilirken, iNOS sitokinler ve NF- κ B bağımlı olarak üretilir. eNOS birçok hücre tipi tarafından sürekli olarak az miktarda eksprese edilir ve mikrosirkulasyonu koruyucu etkisi mevcuttur. iNOS normal fizyolojik koşullarda eksprese edilmez. Ancak İRH gibi inflamatuvar durumlarda hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde, nötrofil ve T-lenfositlerde up-regule edilir. Abu-Amara ve arkakadaşları eNOS-/- mutant ratlarla pozitif grubu karşılaştırmışlar ve eNOS-/- ratlarda UİÖK uygulaması ile hepatik mikrovasküler kan akımının korunmadığını buna karşılık eNOS+/+ ratlarda belirgin olarak korunduğunu göstermişlerdir (113).

NO ile ilgili yapılan çalışmalar mikrosirkulasyonu vazodilatatör etkisi yanında nötrofil adezyonunu, platelet agregasyonunu azaltarak sağladığı antiinflamatuvar etkisi ile modüle ettiğini göstermiştir. NO önkoşullamanın başlatılması ve devam ettirilmesinde anahtar rol oynamaktadır. Önkoşullamanın erken dönemi enerji açığına bağlı cGMP ve takip eden cAMP inhibisyonuna bağlı olarak eNOS tarafından düzenlenir. Geç faz ise protein sentezine bağımlıdır ve PKC, NF- κ B ve iNOS transkripsiyonu ile aktive olur. NO karaciğerde endotelin aktivasyonun inhibisyonu, adenosin A2 reseptör aktivasyonu yaparak önkoşullamanın etkisini düzenler. NO ayrıca karaciğerin soğuk iskemi hasarının azaltılmasında da rol oynar. NO ayrıca kaspas aktivitesi inhibisyonu, TNF α inhibisyonu ve Bcl-2 up-regulasyonu yaparak apopitozun inhibisyonunda rol alır (114).

Platelet agregasyonunu inhibe eder, vazodilatör tonusu korur ve hem nötrofil hem de trombositlerin vasküler endotele adezyonunu inhibe eder. Adenozin ilişkili vazodilatasyonun en önemli mediyatörünün NO olduğu gösterilmiştir (97). Rat karaciğerindeki İÖK'nün NO'nun endotelin üzerindeki inhibitör etkisi ile ilişkili olduğunu belirtilmiştir.

2.6.4.5. Diğer Mediatörler

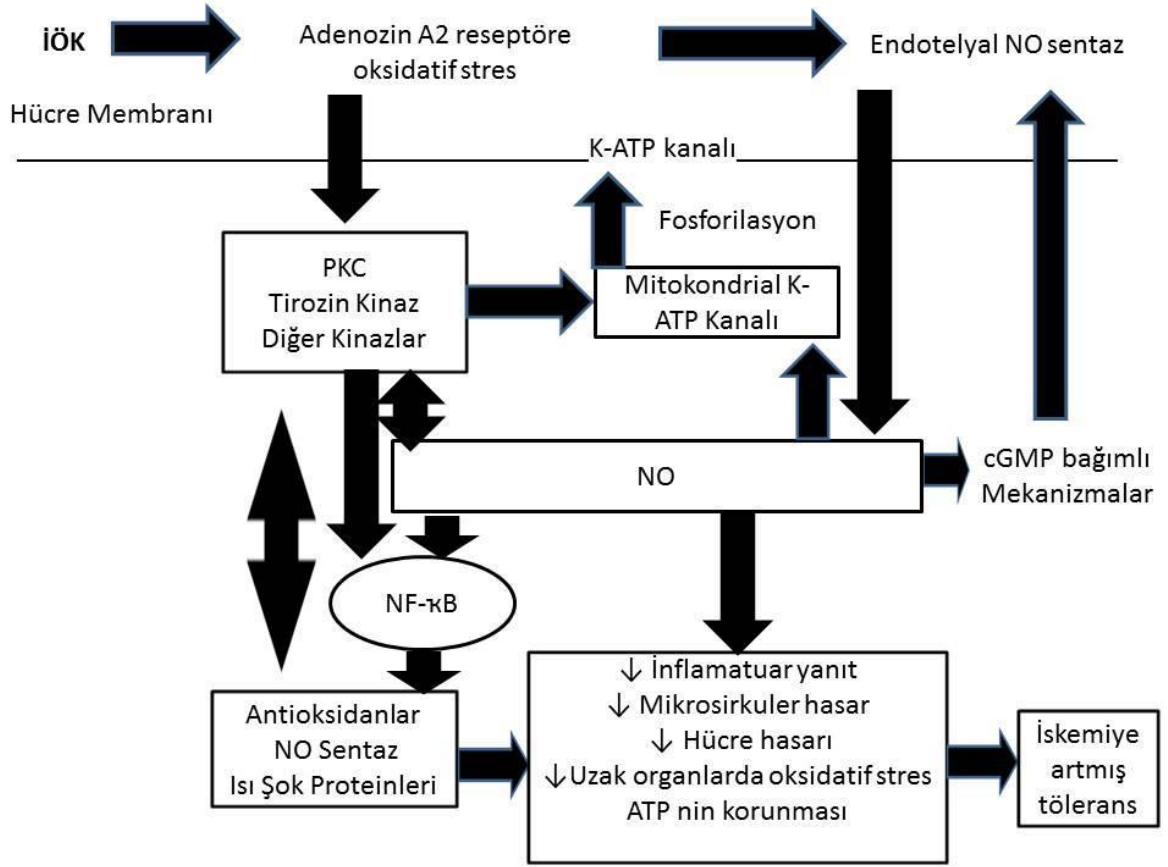
TLR-4 (Toll Like Reseptör 4) endojen tehlike sinyallerinden etkilenen kritik bir reseptördür. Wang ve arkadaşları İÖK'nün karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarını azaltmasında TLR-4'ün varlığının önemini araştırmışlardır. Bunu belirlemek için fonksiyonel TLR-4 reseptörü olan farelerle, TLR-4 mutant farelerin uzak iskemik önkoşullama sonuçlarını karşılaştırdıklarında, TLR-4 mutant farelerde İRH'ın daha ağır olduğunu bildirmişlerdir (115).

Başta makrofajlar olmak üzere immun hücrelerden ayrıca nekrotik hücrelerden salgılanan mediatör HMG-B1 (High Mobility Group-Box 1) edinsel immunité kaynaklıdır. Yapılan bir çalışmada nükleer bir protein olan HMG-B1'in iskemi reperfüzyon öncesinde enjekte edilmesi ile karaciğer hasarının azaldığı gösterilmiştir ve yazarlar bu etkinin TLR-4 bağımlı olduğunu öne sürmüşlerdir(116). Wang ve arkadaşları buradan yola çıkarak iskemi sırasında HMG-B1'in sistemik dolaşıma salındığını ve önkoşullamanın bir stimulus olduğunu göstermeyi hedeflemişlerdir(115). Ratın alt ekstremitesine uygulanan 10 dakika iskemi ve reperfüzyon sonrasında yaptıkları ölçümlerde HMG-B1 seviyesinde belirgin artış saptamışlardır. Benzer şekilde intravenöz HMG-B1 enjeksiyonu sonrası ALT yükselişi önlenmiştir. Protaktif etki TLR-4 mutant ratlarda görülemez. Ayrıca HMG-B1 antikoru verdikleri ratlarda UİÖK'nün koruyucu etkisinin ortadan kalktığını göstermişlerdir.

2.6.5. Direkt İskemik Önkoşullama

Rutin klinik uygulamalarda karaciğerin kanlanması Pringle manevrası ile kolaylıkla durdurulabilmektedir. Pringle manevrası, hepatoduodenal pedikül etrafının dönülerek karaciğere giren portal ve arteriyel kanın total oklüzyonudur (total klempaj). Ayrıca, karaciğerin segmenter anatomisi nedeni ile iskemiye, total yerine karaciğerin bir yarısında ya da, daha selektif davranarak segmental düzeyde bile oluşturmak mümkündür (parsiyel klempaj). Parsiyel klempaj, geride kalan parankimin korunması için büyük avantaj sağlar. Total klempaj pratikte kolayca uygulanabilmekle beraber, parsiyel klempajın pratikte uygulanması cerrahi teknik olarak daha zor ve zaman alıcıdır. Karaciğer cerrahisinde tam anatomik rezeksiyon için ve sirotik olmayan bir dokuda pringle manevrası ihtiyacı çoğu kez görülmezken, özellikle bağlanan vasküler yapıların beslediği alanların dışına taşan bir hat üzerinde parankim diseksiyonuna devam ediliyorsa karşı tarafın portal ve arteriyel akımının geçici klempajı gerekli olur. Karaciğer için uygulanan bir diğer klempaj yöntemi ise uzun süreli bir kez klempleme yerine aralıklı klemplemedir. Bu zamanlamada, dönüşümlü olarak 15 dk iskemi ve 5 dk reperfüzyonun en iyi korunmayı sağladığı bildirilmiştir (117). Aralıklı klempaj yöntemi, hem parankim hasarını azaltabilme, hem de toplamda sağlanan iskemi süresini uzatabilme avantajına sahip olmasına rağmen klempleme aralarındaki reperfüzyon dönemlerinde ciddi kan kayıpları oluşabilmektedir.

1993 yılında Lloris-Carsi JM ve arkadaşları tarafından İÖK'nün İRH'ı azaltabileceği bildirilirdilmesi ve sonrasında Kume ve Hardy (89, 118, 119) tarafından da desteklenmesi sonrasında bu konudaki çalışmalar hız kazanmıştır. Hepatik İÖK, gerek deneysel gerekse klinik çalışmalarda uygulanmıştır (120, 121).



Şekil 4. İskemik Önkoşullama Mekanizması (142)

PKC: Protein kinaz C, NO: Nitrik Oksit, Nükleer Faktör kappa B: NFκB

Farede, sürekli, aralıklı ve önkoşullamalı hepatik pedikül klempajlarının sonuçları karşılaştırıldığında, 75 dakikalık iskemi süresinde önkoşullamanın sağladığı sağkalım üstünlüğünün, iskemi süresinin uzaması (120 dakika) halinde aralıklı klempaj lehine belirgin olarak değiştiği gösterilmiştir (122). Direk İÖK, deneysel hepatik iskemi reperfüzyon modellerinde, doku ATP düzeyi, hepatik enzim sonuçları ve safra üretimi açısından belirgin iyileşme sağlamıştır (123).

Bu korumanın sağlanabildiği en etkin zaman aralığının, uzun iskemiden hemen önce uygulanacak 10 dakika iskemi ve 10 dakika reperfüzyon olduğu öne sürülmüştür (91). İşlem Pringle manevrası anlamına geldiğinden, ek bir cerrahi diseksiyon, alet veya

farmakolojik ajan gerektirmemektedir. İskemik periyod süresinin de İÖK' de önemli olduğu ileri sürülmektedir. Peralta ve arkadaşları uzun karaciğer iskemisi (90 dk) öncesinde iki, beş, 10, 15, 20, 30 dk' lık iskemiyi takiben 10 dk' lık reperfüzyon periyodları ile İÖK oluşturmuştur. Bu çalışmada 10 ve 15 dk iskemi gruplarında iskemik hasar belirgin olarak azalmışken, 20 ve 30 dk' lık iskemilerde adenozinin yüksek olmasına rağmen İÖK' nün koruyucu etkileri görülmemiştir. Bu sonuç İÖK'deki uzun iskemi süresinin koruyucu etki oluşturmadığını düşündürmüştür. Bu çalışmada farklı iskemi reperfüzyon sürelerinin kıyaslanması sonucu 10 dakika iskemi 10 dakika reperfüzyonla İÖK'nün optimum koruma sağladığı bildirilmiş ve bu çalışma kendinden sonraki çalışmaların çoğunda referans kabul edilmiştir (91).

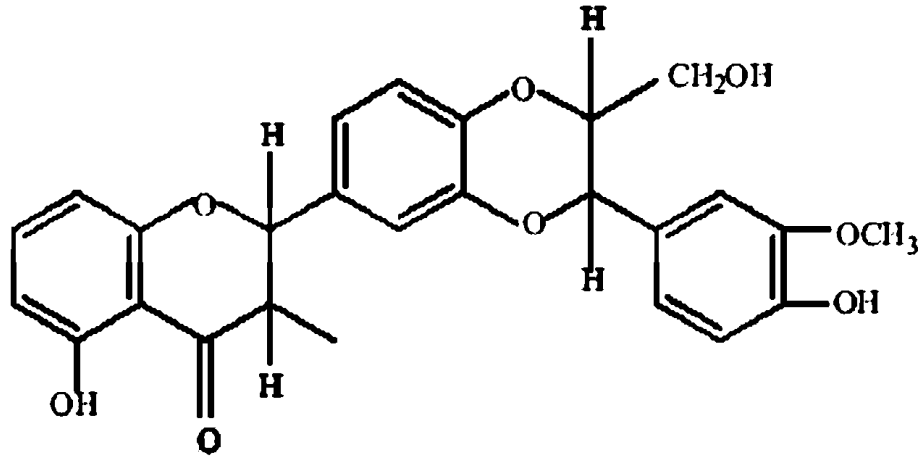
2.7. Silimarin

Silymarin (*Silybum marianum*)

Genel bakış: *Silybum marianum*, deve dikeninin (Milk thistle(Mt)/ St.Mary's thistle) bilimsel adıdır. Anayurdu Akdeniz bölgesi olan ve Asteracea ailesine ait olan bir bitkidir. Dikenli dallar, sütlü özsuyu ve 30 cm'ye ulaşan oval yapraklarla karakterizedir, çapı 8 cm'ye ulaşan çiçekleri parlak pembe renktedir(124,125).Deve dikenini(Mt) Güney Avrupa'da, Kuzey Afrika'da ve Orta Doğu'da vahşi şekilde; Macaristan, Çin ve Arjantin, Venezuela, Ekvador gibi Güney Amerika ülkelerinde ekilerek yetişir. Meksika'da yıllardır yiyecek desteği olarak tüketilmektedir (124,126).

1960'larda, Alman bilimadamları deve dikenini meyvesi üzerinde araştırmada bulunarak, silymarin olarak adlandırılan hepatoprotektif özellikli aktif bileşiklerden oluşan kabaözüt izole ettiler. 1975'te silymarinin ana bileşenleri olan silybin A, silybin B, isosilybin A, isosilybin B, silychristine B ve silydianine bulundu (124,127). Günümüzde, silymarinin yapıtaşları flavonolignanlar (örn. lignin ve flavonoid bileşenlerinin bir kombinasyonu) olarak bilinir (124,128).

Mt, toksik karaciğer hasarının oral tedavisinde etki mekanizması bilinen, en çok araştırılan bitki özütleri arasındadır. Silymarin, akut ve kronik karaciğer hasarında koruyucu tedavi amaçlı kullanılmaktadır (124,129). Koruyucu etkisi, hepatik hücreye toksin girişinin baskılanması, SOD aktivitesinin artırılması, glutatyon dokudaki miktarının artırılması, lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ve hepatosit protein sentezinin artırılması gibi farklı mekanizmalarla ilişkilidir. Silymarinin hepatoprotektif etkisi, flavonolignanların fenolik doğası nedeniyle antioksidan özellikler temelinde açıklanabilir. Aynı zamanda karaciğer hücre rejenerasyonunu uyararak ve hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini önlemek amacıyla hücre membran stabilizasyonu yaparak da etki eder (124,130). Silymarin bazı kanserlerin gelişme ihtimalini azaltmada da yararlı bulunmuştur (124,131). Silymarinin kanser oluşumunu önlemede moleküler hedefleri üzerine çalışılmaktadır. Mt, hücre siklus düzenleyicileri ve hücre sağkalımındaki dengesizliğin düzenlenmesinde rol oynayan apoptoz proteinlerinin ekspresyonunu engeller.



Şekil 5: Silimarinin Kimyasal Formülü

Etki Mekanizması

Literatürde silimarinin etki mekanizması için dört farklı yol açıklanmıştır ancak gerçek mekanizma tam olarak bilinmemektedir

1. Hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini engelleyen hücre membranı stabilizatörü ve permeabilite regülatörleri olarak.
2. Glutasyonun intraselüler konsantrasyonunun regülatörü olarak.
3. Karaciğer rejenerasyonunu stimüle ederek RNA polimerazın hücre çekirdeğindeki aktivitesini uyarıcı olarak.
4. Siroz oluşturan kollajen liflerin depozisyonundan sorumlu hepatositlerin miyofibroblastlara transformasyonunun inhibitörü olarak (132).

3. MATERYAL ve METOD

Bu deneysel çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmaya Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'undan 26/06/2015 tarihli G.Ü.E.T.-15.047 kod numarası ile onam alındıktan sonra başlandı. Çalışma süresince Helsinki deklarasyonunda yer alan laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanımı ile ilgili prensipler uygulandı.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 200-300 gram arasında değişen, 30 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak her biri 6 rattan oluşan 5 gruba (Sham, kontrol ve çalışma gruplarına) ayrıldı. Ratlar deneyden 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 21⁰C'de barındırıldı ve standart rat yemi ile beslendi. Deneyden önceki gece su serbest olmak üzere ratlar 12 saat aç bırakıldı. Ratlara intraperitoneal 50 mg/kg ketamin (Ketalar®, Parke Davis and Co. Inc., 40mg/kg)ve 10 mg/kg xylazine (Rompun®, Bayer Ag, Leverkusen, Germany; 5mg/kg) ile anestezi sağlanıp, deney süresince spontan solunuma bırakıldı (**Resim 1**). Anestezi sonrası ratlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

3.2. Çalışma Grupları

Grup I (Sham grubu): Bu gruptaki ratlara sadece hepatik manüplasyon ve portal triad diseksiyonu yapıldı ve 48 saat sonra sakrifiye edildi. Kan ve doku örnekleri alındı.

Grup II (Parsiyel hepatektomi grubu): Bu gruptaki ratlara %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı. Rezeke edilen karaciğer dokusu tartıldı. 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi ve tüm karaciğer dokusu ve kan örneği alındı.

Grup III (Silimarin + Parsiyel hepatektomi grubu): Bu gruptaki ratlara işlem öncesi 6 hafta boyunca Silimarin (Carsil® 90 mg tablet, Sopharma PLC, Bulgaristan) 200 mg/kg dozunda içme sularına katılarak verildi. 6 hafta sonra ratlara %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

Grup IV (İskemik önkoşullama + Silimarin grubu + Parsiyel hepatektomi): Bu gruptaki ratlara işlem öncesi 6 hafta boyunca Silimarin (Carsil® 90 mg tablet, Sopharma PLC, Bulgaristan) 200 mg/kg dozunda içme sularına katılarak verildi. 6 hafta sonra ratlara iskemik önkoşullama sonrası %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

Grup V (İskemik önkoşullama + Parsiyel Hepatektomi grubu): Bu gruptaki ratlara iskemi önkoşullama sonrasında %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

3.3. Cerrahi Prosedür

Orta hat insizyon ile laparotomi yapıldı. Tüm ratların karaciğer yapıları incelendi. İskemik önkoşullama yapılacak ratlarda hepatoduodenal ligaman disseke edildi. Portal ven ve hepatic arterin distalinden mikrovasküler klip kullanarak 5 dakika iskemi arkasından 15 dakika reperfüzyon uygulandı (**Resim 2**). Karaciğerin mobilizasyonu için öncelikle falsiform ligament olmak üzere süspansuar ligamanları kesildi. Mobilizasyon sonrası Higgins ve arkadaşlarının (143) tanımladıkları metoda uygun olarak karaciğer sol lateral ve median lobların vena kava ile birleşim yerinden 4/0 ipek sütür ile bağlandı ve %70'lik karaciğer rezeksiyonu sağ lob ve kaudat lob bırakılmak suretiyle sağlanmış oldu (**Resim 3**). Rezeke edilen karaciğer dokuları (**Resim 4**) tartıldıktan sonra formaldehit solusyonuna konularak histopatolojik inceleme için patoloji bölümüne götürüldü. Rezeksiyon sonrası tüm denek hayvanlarının karın insizyonları 3/0 ipek sütür ile tek tek

kapatıldı ve insizyon batikon ile temizlendi. Postoperatif dönemde tüm ratlar ayrı kafeslere yerleştirildi ve ihtiyaçları normal hayvan yemi ve su ile karşılandı. Tüm gruplardaki ratlar 48 saat sonra sakrifiye edildi. Deney süreleri dolan ratlara steril şartlarda relaparotomi yapıldı, inferior vena kavadan 4 ml kan örneği alındı ve sonra karaciğer dokusu tümüyle çıkartıldı. Çıkartılan karaciğer dokuları tartıldı. Alınan kan örnekleri 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

3.4.1. Serum Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Ölçümü

Serum TNF- α düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemiyle hazır kit (SunRed Rat TNF- α ELISA Kit) kullanılarak çalışıldı. Kitin sensitivitesi 5,12 ng/L, intra assay varyasyonu <%9, inter assay varyasyonu <%11 di. Serumlar kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar standart eğrisinden hesaplandı ve ng/L olarak verildi.

3.4.2. Serum Interleukin-6 (IL-6) Ölçümü

Serum IL-6 düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemiyle hazır kit (SunRed Rat IL-6 ELISA Kit) kullanılarak çalışıldı. Kitin sensitivitesi 1,82 pg/ml, intra assay varyasyonu <%9, inter assay varyasyonu <%11 di. Serumlar kitin prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar standart eğrisinden hesaplandı ve pg/ml olarak verildi.

3.4.4. Serum Aspartat Aminotransferaz (AST) ve Bilirubin Ölçümü

Serum AST ve Total Bilirubin düzeyleri Roche Cobas 8000 Otoanalizöründe çalışıldı. Birimler U/L ve mg/dl olarak verildi.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Rezeke edilen dokular %10'luk nötral tamponlu formaldehit ile fikse edildi. Makroskobik inceleme sonrası doku takibi yapılan ve parafine gömülen dokular 5µm kalınlıkta kesilerek ışık mikroskobu altında HE boyama ile incelendi. Örnekler mitoz sayısı, konjesyon, nekroz, sitoplazmik vakuolizasyon, nötrofil varlığı açısından değerlendirildi ve semikantitatif olarak skorlandı. Mitoz sayımı birbiri ile ardışık 30 büyük büyütme alanında (BBA) sayıldı. Konjesyon varlığı hafif, orta, belirgin; nekroz varlığı yok, hafif, orta, şiddetli; sitoplazmik vakuolizasyon yok, hafif, orta, şiddetli; eşlik eden nötrofilik inflamasyon var, yok olarak değerlendirildi. Örneklerden immünohistokimyasal olarak PCNA (proliferating cell nuclear antigen) antikoru Ventana Benchmark XT immünohistokimya otomatik boyama cihazı ile çalışıldı. PCNA antikoru (Thermo Scientific, Waltham, MA USA) 1/700 dilusyonda uygulandı. Hepatosit nükleuslarındaki koyu kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her vaka için 10 BBA'da PCNA boyanma yüzdesi sayıldı.

3.6. Karaciğer Rejenerasyonun Hesaplanması

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 (gram). Bu formül ile tüm ratların rezeke edilmeden önceki karaciğer ağırlıkları tahmini olarak hesaplandı. Hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer

dokusu rezeke edilerek tartıldı. Karaciğer rejenerasyon oranı (%) = remnant karaciğer ağırlığı / Tüm karaciğer ağırlığı x 100 hesap edildi.

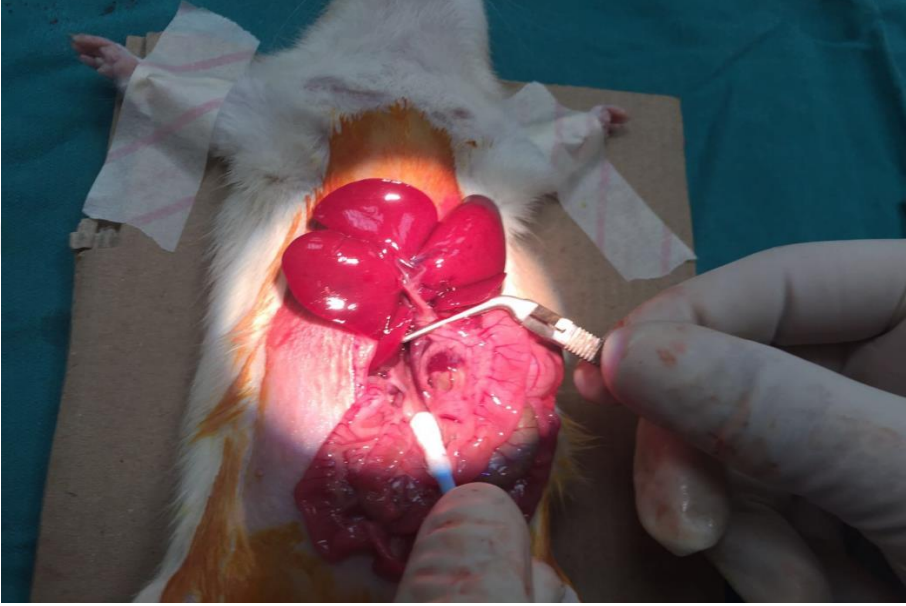
3.7. İstatistiksel Yöntem

Tanımlayıcı istatistikler frekans yüzde dağılımı ortanca şeklinde verilmiştir. Hayvan çalışması olduğu için nonparametrik testler kullanılmıştır. Nicel verilerin 3 grup karşılaştırmasında Kruskal-wallis test kullanılmış, farkın hangi gruptan kaynaklandığını bulmak için benforoni düzeltmesi yapılmıştır. 2 grup karşıştırmalarında Mann-Whitney U test kullanılmıştır. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

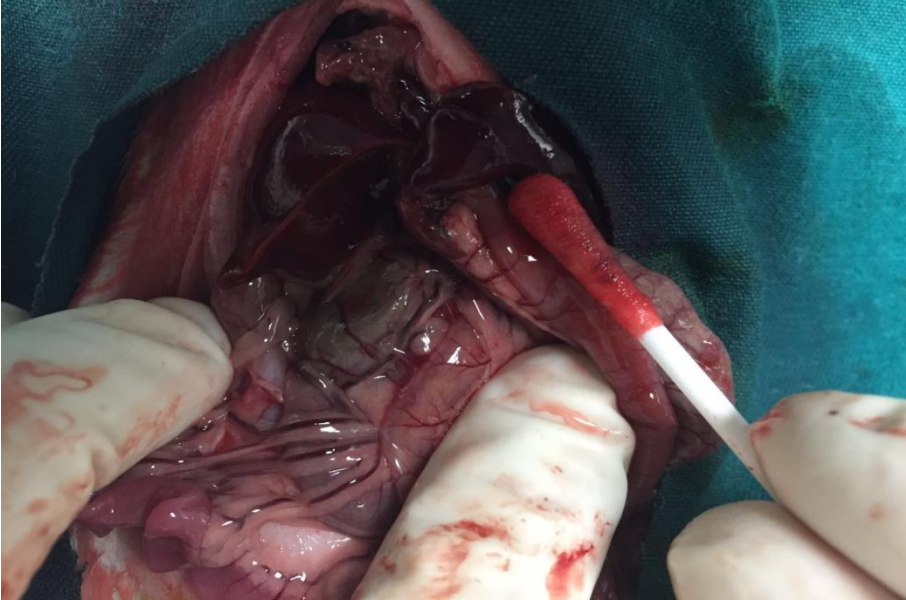
Resim 1. Cerrahi İşlem öncesi hazırlık



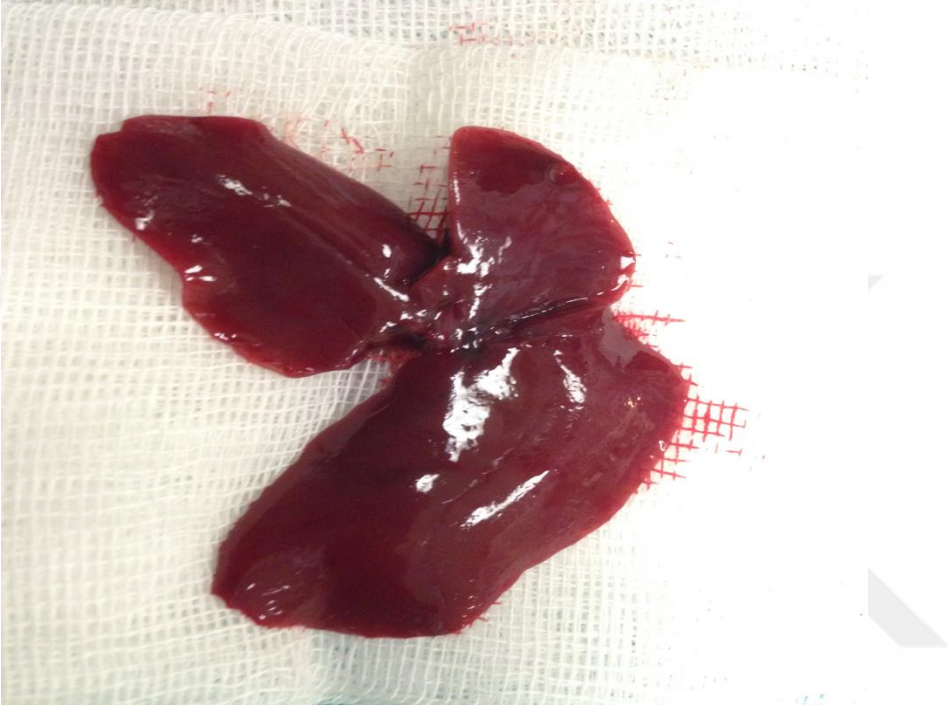
Resim 2. Hepatoduodenal ligamanın mikroklemple ile klempe edilmesi ile iskemik önkoşullama yapılması



Resim 3: Hepatik rezeksiyon sonrası görünüm



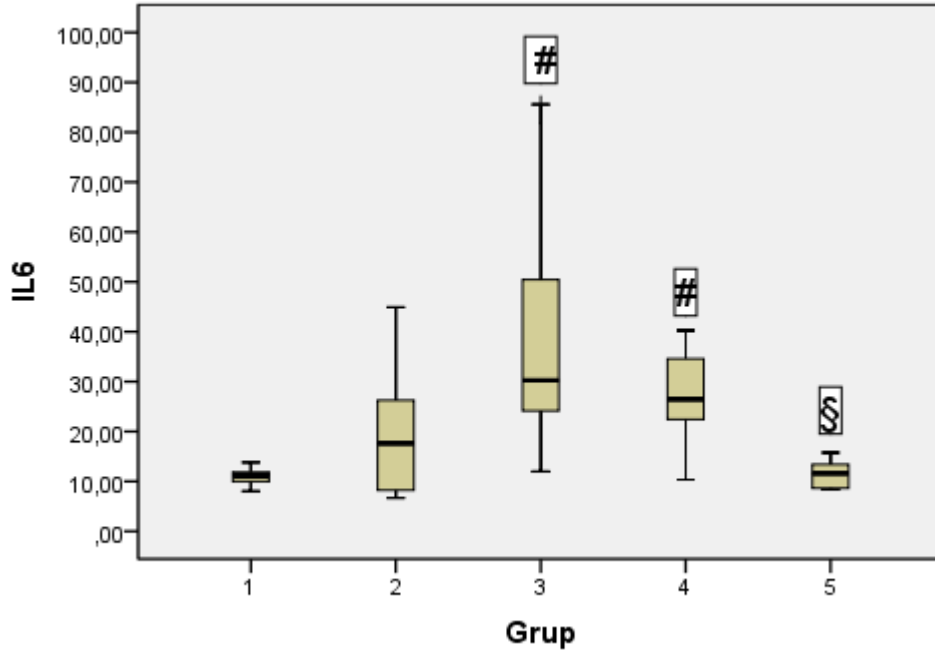
Resim 4. Rezeke edilen karaciğer dokusu



4. BULGULAR

Tablo 1. Çalışma gruplarının IL-6, TNF- α , AST ve Total Bilirubin değerleri

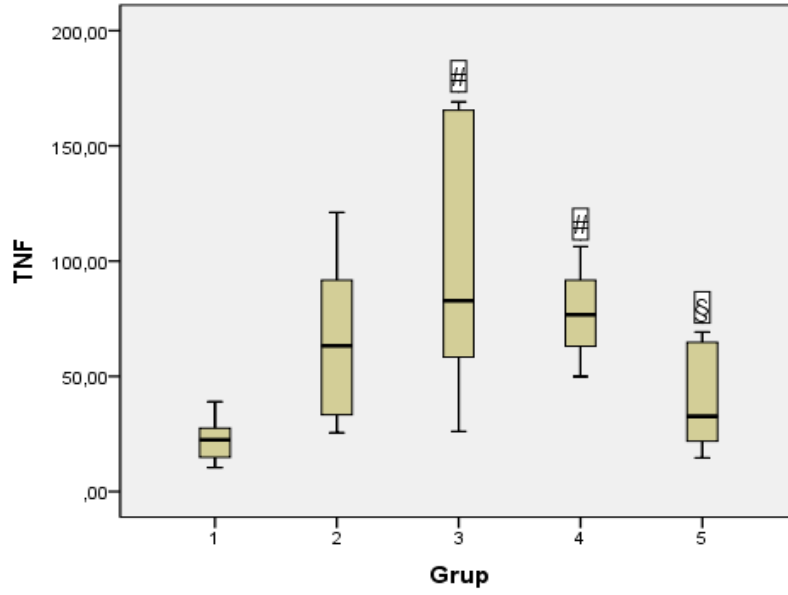
	IL-6 (Mean\pmSD)	TNF-α (Mean\pmSD)	AST (Mean\pmSD)	Total Bilirubin (Mean\pmSD)
Grup 1 (n=6)	10,99 \pm 1,92	22,75 \pm 10,16	393,5 \pm 82,3	0,05 \pm 0,01
Grup 2 (n=6)	20,2 \pm 14,42	66,36 \pm 39,48	2071,5 \pm 938,4	0,38 \pm 0,20
Grup 3 (n=6)	38,78 \pm 26,27	97,40 \pm 59,11	1192,3 \pm 526,3	0,40 \pm 0,12
Grup 4 (n=6)	26,74 \pm 10,59	77,39 \pm 20,20	1002,8 \pm 348,9	0,33 \pm 0,11
Grup 5 (n=6)	11,54 \pm 2,89	39,2 \pm 22,73	1535,5 \pm 204,8	0,42 \pm 0,13



Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ § Grup 4 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

Slimarin verilerek parsiyel hepatektomi yapılan grup 3 en yüksek IL6 değerine sahiptir.

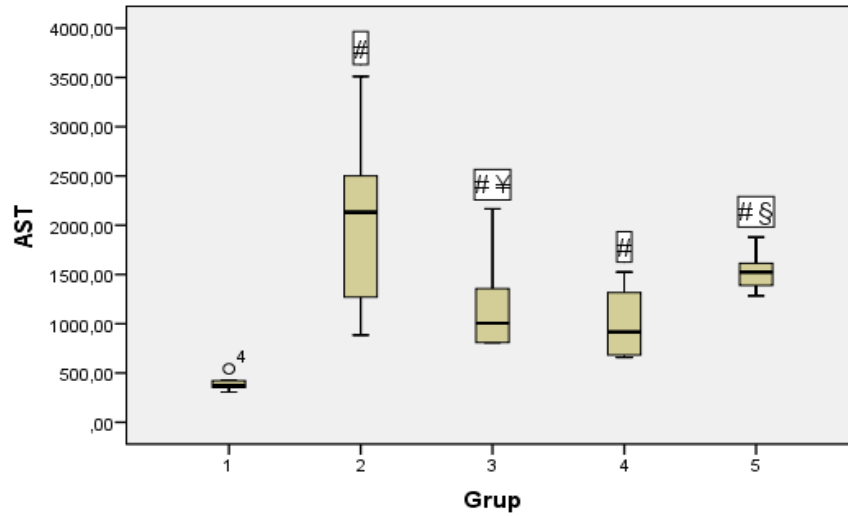
Grafik 1: IL6 Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı



Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ § Grup 4 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

Slimarin verilerek parsiyel hepatektomi yapılan grup 3 en yüksek TNF- α değerine sahiptir.

Grafik 2: TNF- α Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

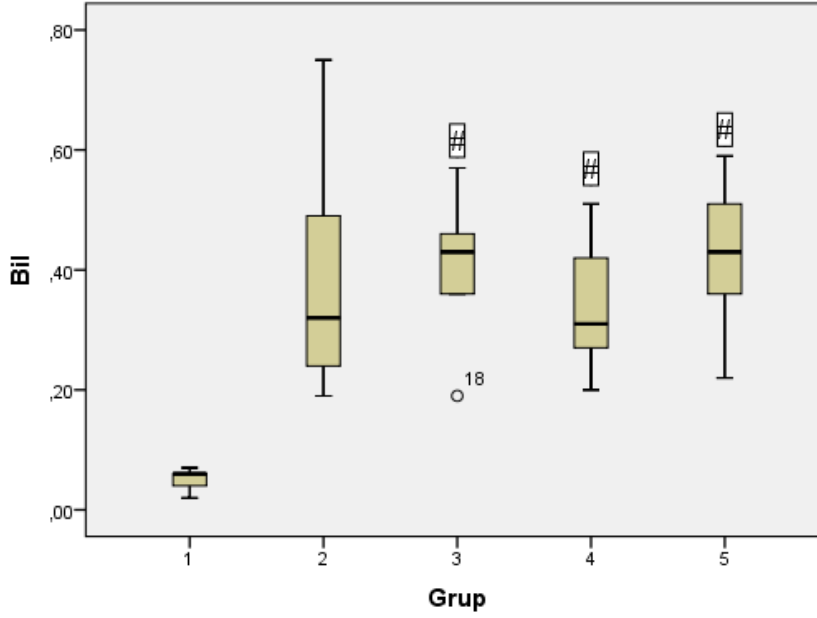


Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ § Grup 4 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

¥ Grup 2 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

Parsiyel hepatektomi yapılan grup 2 en yüksek AST değerine sahiptir. Silimarin +parsiyel hepatektomi yapılan grup 3'te sadece parsiyel hepatektomi yapılan grup 2 ye göre AST değerinde anlamlı bir düşüş görülmüştür.

Grafik 3: AST Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı



Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

3, 4, ve 5. Gruplarda kontrol gurubuna göre, Bilirubin değerleri anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur.

Grafik 4: Total Bilirubin Değerlerinin Gruplara Göre Dağılımı

Tablo 2. Grup 1, 2 ve 3'e ait IL-6, TNF- α , AST ve Total Bilirubin değerlerinin karşılaştırılması

	IL-6 Median	TNF-α Median	AST Median	Total Bilirubin Median
Grup 1 (n=6)	11,15 (8,01-13,7)	22,4 (10,3-38,9)	368,5 (306-543)	0,06 (0,02-0,07)
Grup 2 (n=6)	17,5 (6,67-44,9)	63,2 (25,5-121,1)	2131,5 (884-3510) #	0,32 (0,19-0,75)
Grup 3 (n=6)	30,2 (12-85,5) #	82,7 (26,07-169,09) #	1006 (810-2166) # ¥	0,43 (0,19-0,57) #
P*	0,029	0,014	0,001	0,003

*Kruskal-wallis test # Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

¥ Grup 2 ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

Silimarin verilerek parsiyel hepatektomi yapılan grup ile sadece parsiyel hepatektomi yapılan gruplara ait laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması yapıldığında Silimarin verilmesinin (Grup 3) AST değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu görülmüştür (p<0,05).

Tablo 3. Grup 1, 4 ve 5'e ait IL-6, TNF- α , AST ve Total Bilirubin değerlerinin karşılaştırılması

	IL-6 (Mean\pmSD)	TNF-α (Mean\pmSD)	AST (Mean\pmSD)	Total Bilirubin (Mean\pmSD)
Grup 1 (n=6)	11,15 (8,01-13,7)	22,4 (10,3-38,9)	368,5 (306-543)	0,06 (0,02-0,07)
Grup 4 (n=6)	26,43 (10,35-40,26) #	76,7 (49,9-106,2) #	917 (658-1526) #	0,31 (0,2-0,51) #
Grup 5 (n=6)	11,5 (8,3-15,7) §	32,6 (14,5-69,2) §	1523,5 (1283-1879) # §	0,43 (0,22-0,59) #
P*	0,031	0,006	0,001	0,002

*Kruskal Wallis Test # Grup 1 ile karşılaştırıldığında p<0,05

§ Grup 4 ile karşılaştırıldığında p<0,05

Silimarin+İÖKK+Parsiyel hepatektomi yapılan grup ile sham grubunun laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması yapıldığında tüm değerlerin yüksek olduğu bulundu. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05).

İÖKK+Parsiyel hepatektomi yapılan grup ile sham grubunun laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması yapıldığında AST ve Total Bilirubin değerlerinin çok yüksek olduğu ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (p<0,05).

Silimarin+İÖK+Parsiyel hepatektomi yapılan grup 4 ile İÖK+Parsiyel hepatektomi yapılan grup 5'in laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması yapıldığında IL-6, TNF- α değerleri yüksek fakat AST değerinin düşük olduğu bulundu ve bu değerler istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05).

Silimarin+İÖK+Parsiyel hepatektomi yapılan grup 4 ile Parsiyel hepatektomi yapılan grup 2 karşılaştırıldığında AST değerinde anlamlı bir azalma olduğu, ancak TNF α ve IL6 değerlerinde anlamlı bir yükselmeye neden olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 4. Parsiyel hepatektomi sonrası rezeke edilen karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	P
Mitoz Oranı	0	0,6 (0-2) 0,5±0,81	1,3 (0-5) 1,3±2,16	1,1 (0-2) 1,5±0,98	0,8 (0-4) 0,8±1,63	0,27
Konjesyon (%)						0,001*
Hafif	100	100	-	-	33,3	
Orta	-	-	50	66,7	33,3	
Belirgin	-	-	50	33,3	33,3	
Nekroz (%)						0,001*
Yok	100	100	16,7	-	33,3	
Hafif	-	-	66,7	100	50	
Orta	-	-	16,7	-	16,7	
Şiddetli	-	-	-	-	-	
Vakualizasyon (%)						1,0
Yok	100	100	100	100	100	
Hafif	-	-	-	-	-	
Orta	-	-	-	-	-	
Şiddetli	-	-	-	-	-	
Nötrofil (%)						0,06
Yok	100	100	100	50	66,7	
Var	-	-	-	50	33,3	
PCNA (%)	0	0	0,83±0,40 1,0 (0-1)	1,16±0,40 1,0 (1-2)	1,16±0,40 1,0 (1-2)	0,06

Parsiyel hepatektomi sonrası rezeke edilen karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması yapıldığında konjesyon ve nekroz oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu.

Tablo 5. Parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	P
Mitoz Oranı	42,0±21,24 37,0 (18-80)	99,5±96,47 62,0 (13-236)	75,66±98,1 6 24,0(1-206)	23,0±25,76 14,0(1-60)	0,27
Konjesyon (%)					0,001 *
Hafif	100	-	-	-	
Orta	-	66,7	83,3	66,7	
Belirgin	-	33,3	16,7	33,3	
Nekroz (%)					0,006 *
Yok	50	66,7	-	16,7	
Hafif	50	16,7	-	50	
Orta	-	16,7	100	33,3	
Şiddetli	-	-	-	-	
Vakualizasyon (%)					0,39
Yok	-	-	-	-	
Hafif	50	50	16,7	66,7	
Orta	50	50	83,3	33,3	
Şiddetli	-	-	-	-	
Nötrofil (%)					0,44
Yok	100	83,3	66,7	66,7	
Var	-	16,7	33,3	33,3	
PCNA (%)	13,3±8,57 11,5 (6-30)	48,33±17,5 1 47,5 (30-70)	74,16±3,76 75,0 (70-80)	30,83±5,84 32,5 (20-35)	0,001 *

Parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer dokusunun gruplara göre histopatolojik özelliklerinin karşılaştırılması yapıldığında konjesyon, nekroz ve PCNA oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).

Tablo 6. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası mitoz oranlarının 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki mitoz oranlarına göre karşılaştırılması

	Parsiyel hepatektomi sonrası Mitoz Oranları	48 saat sonra Mitoz Oranları	P
Grup 2	0,6 (0-2) 0,5±0,81	42,0±21,24 37,0 (18-80)	0,03*
Grup 3	1,3 (0-5) 1,3±2,16	99,5±96,47 62,0 (13-236)	0,03*
Grup 4	1,1 (0-2) 1,5±0,98	75,66±98,16 24,0(1-206)	0,04*
Grup 5	0,8 (0-4) 0,8±1,63	23,0±25,76 14,0(1-60)	0,11

Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası mitoz oranlarının 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki mitoz oranlarına göre karşılaştırılması yapıldığında grup 2, 3, 4'te mitoz oranlarının arttığı ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0,05$).

Tablo 7. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası konjesyon varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki konjesyon varlığına göre karşılaştırılması

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Parsiyel hepatektomi sonrası konjesyon				
Hafif	100	-	-	33,3
Orta	-	50	66,7	33,3
Belirgin	-	50	33,3	33,3
48 saat sonra Konjesyon				
Hafif	100	-	-	-
Orta	-	66,7	83,3	66,7
Belirgin	-	33,3	16,7	33,3
P	1,0	0,31	0,31	0,31

Tablo 8. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası nekroz varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki nekroz varlığına göre karşılaştırılması

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Parsiyel hepatektomi sonrası				
Nekroz	100	16,7	-	33,3
Yok	-	66,7	100	50
Hafif	-	16,7	-	16,7
Orta	-	-	-	-
Şiddetli	-	-	-	-
48 saat sonra				
Nekroz				
Yok	50	66,7	-	16,7
Hafif	50	16,7	-	50
Orta	-	16,7	100	33,3
Şiddetli	-	-	-	-
P	0,08	0,40	0,01*	0,41

Tablo 9. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası sitoplazmik vakuolizasyon derecesi ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki sitoplazmik vakuolizasyon derecelerine göre karşılaştırılması

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Parsiyel hepatektomi sonrası Sitoplazmik Vakuolizasyon				
Yok	100	100	100	100
Hafif	-	-	-	-
Orta	-	-	-	-
Şiddetli	-	-	-	-
48 saat sonra Sitoplazmik Vakuolizasyon				
Yok	-	-	-	-
Hafif	-	-	-	-
Orta	50	50	16,7	66,7
Şiddetli	50	50	83,3	33,3
P	0,02*	0,02*	0,02*	0,02*

Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası sitoplazmik vakuolizasyon derecesi ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki sitoplazmik vakuolizasyon derecelerine göre karşılaştırılması yapıldığında tüm gruplarda sitoplazmik vakuolizasyon şiddetinin arttığı ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

Tablo 10. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası nötrofilik infiltrasyon varlığı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki nötrofilik infiltrasyon varlığına göre karşılaştırılması

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Parsiyel hepatektomi sonrası Nötrofilik İnfiltrasyon				
Yok	100	100	50	66,7
Var	-	-	50	33,3
48 saat sonra Nötrofilik İnfiltrasyon				
Yok	100	83,3	66,7	66,7
Var	-	16,7	33,3	33,3
P	1,0	0,32	0,32	1,0

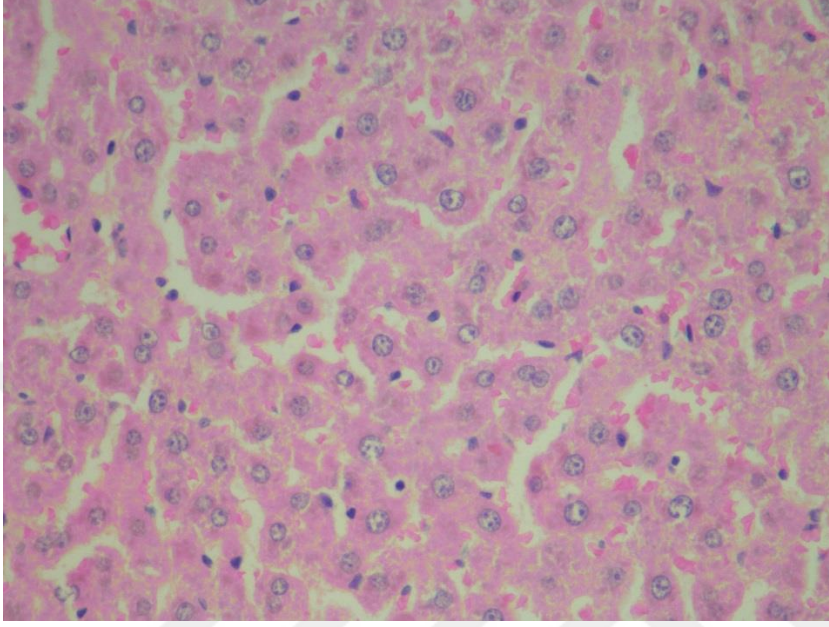
Tablo 11. Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası PCNA oranı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki PCNA oranına göre karşılaştırılması

	Parsiyel hepatektomi sonrası PCNA (%)	48 saat sonra PCNA (%)	P
Grup 1	0	0	
Grup 2	0	13,3±8,57 11,5 (6-30)	0,03*
Grup 3	0,83±0,40 1,0 (0-1)	48,33±17,51 47,5 (30-70)	0,03*
Grup 4	1,16±0,40 1,0 (1-2)	74,16±3,76 75,0 (70-80)	0,03*
Grup 5	1,16±0,40 1,0 (1-2)	30,83±5,84 32,5 (20-35)	0,03*

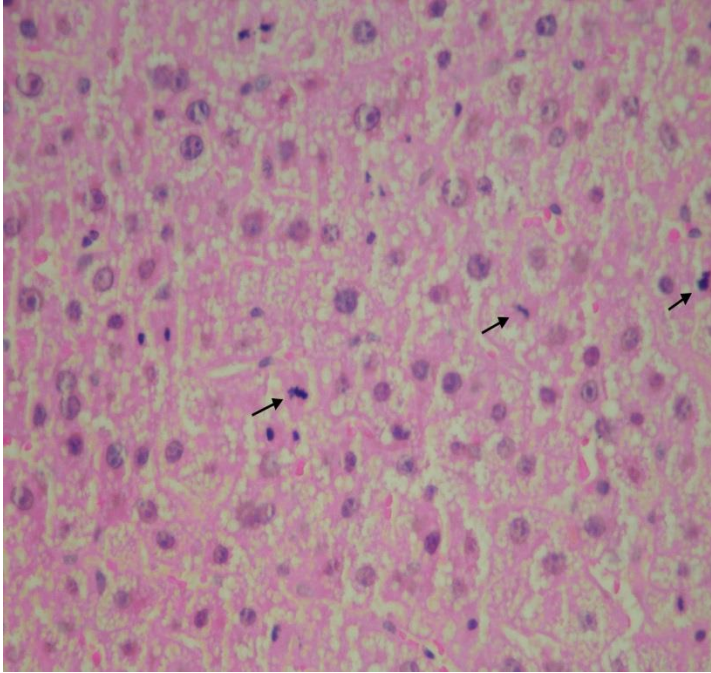
Tüm gruplardaki parsiyel hepatektomi sonrası PCNA oranı ile 48 saat sonra kalan karaciğer dokusundaki PCNA oranına göre karşılaştırılması yapıldığında tüm gruplarda PCNA oranlarının arttığı ve bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.

Tablo 12. Parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon özelliklerinin gruplara göre karşılaştırılması

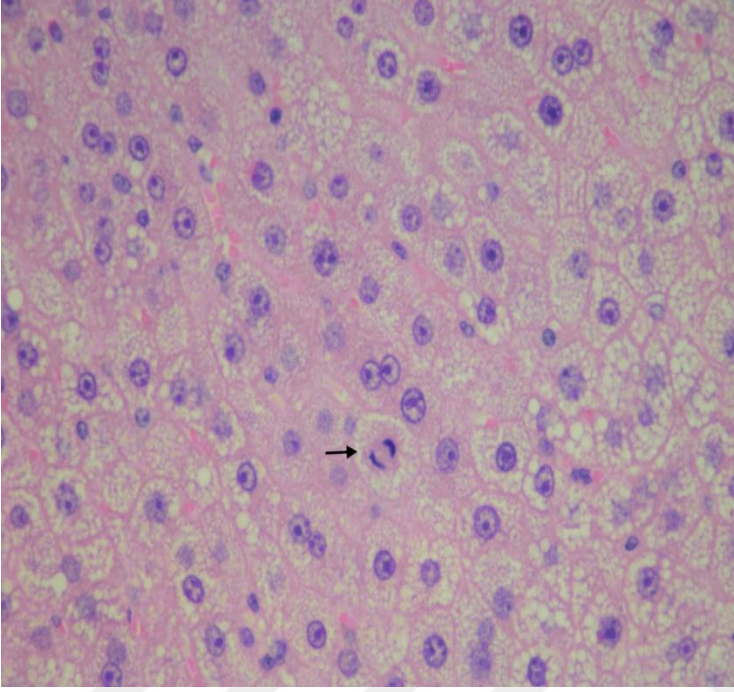
	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	P
Mitoz Oranı	42,0±21,24 37,0 (18-80)	99,5±96,47 62,0 (13-236)	75,66±98,16 24,0(1-206)	23,0±25,76 14,0(1-60)	0,27
PCNA (%)	13,3±8,57 11,5 (6-30)	48,33±17,51 47,5 (30-70)	74,16±3,76 75,0 (70-80)	30,83±5,84 32,5 (20-35)	0,001*
Rejenere karaciğer ağırlığı (%)	21,75±10,94	34,56±12,11	15,08±3,75	19,31±11,58	0,49*



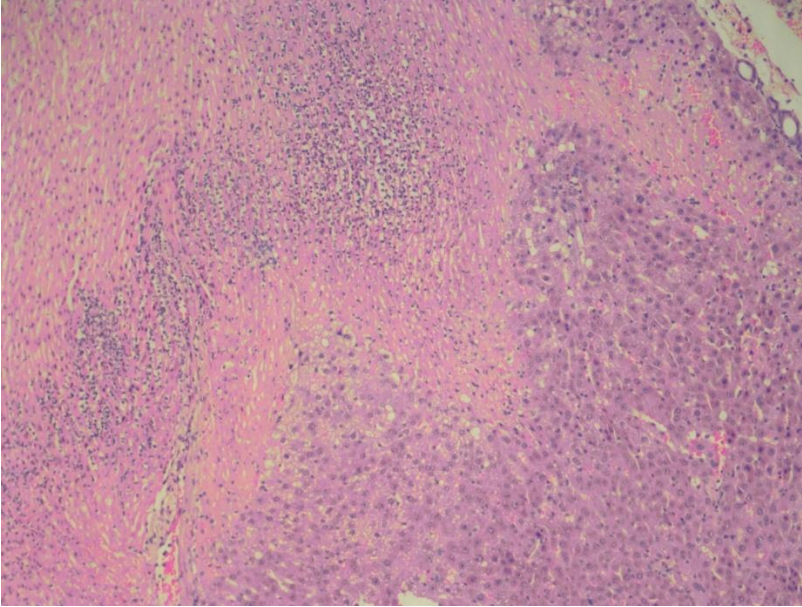
Resim 5: Sham grubunda patolojik değişiklik göstermeyen hepatositler (HEX40)



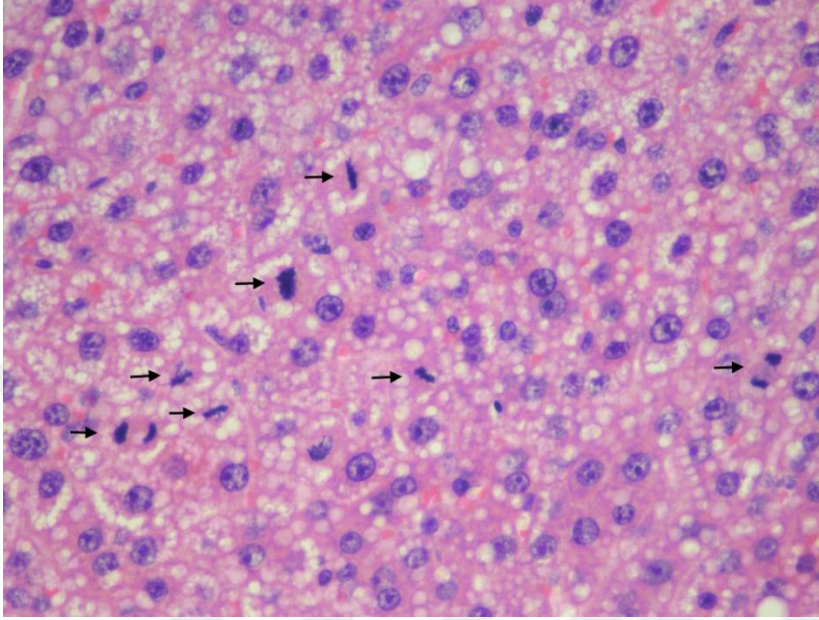
Resim 6. Parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde belirgin sitoplazmik vakuolizasyon ve oklar ile gösterilen artmış mitoz varlığı (HEX40)



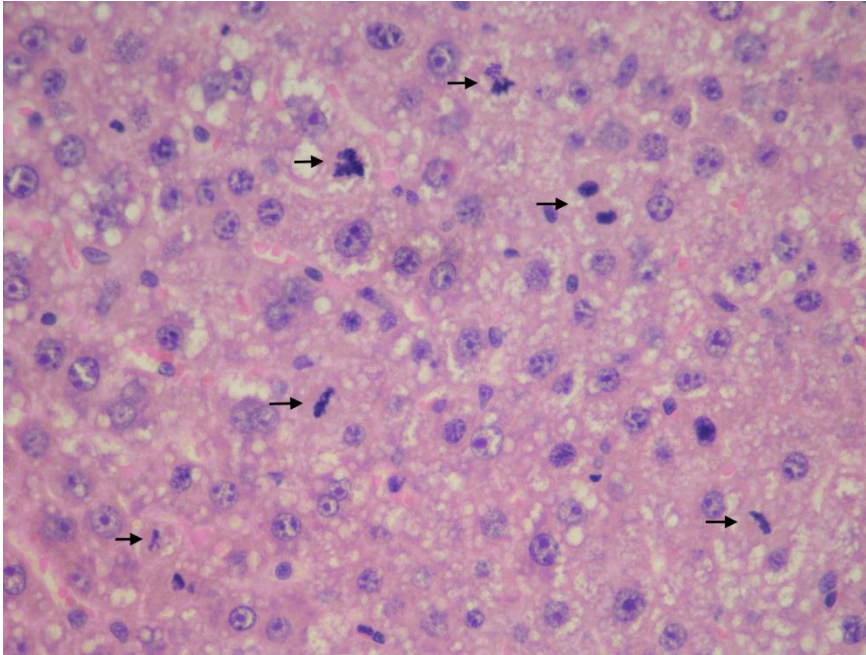
Resim 7. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde belirgin sitoplazmik vakuolizasyon ve ok ile gösterilen eşlik eden mitoz (HEX40)



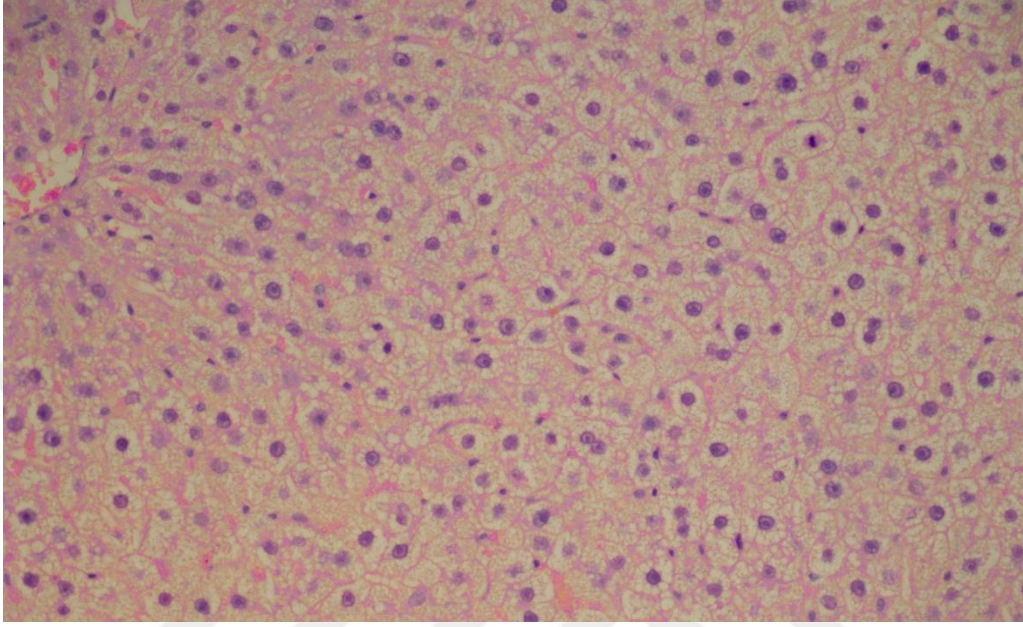
Resim 8. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde geniş nekroz alanları (HEX10)



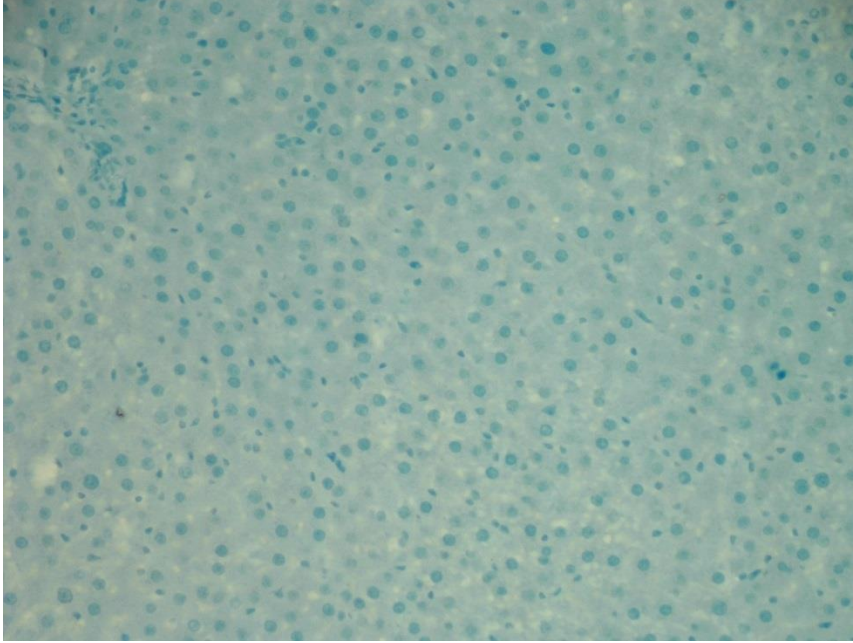
Resim 9. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde oklar ile gösterilen artmış mitoz varlığı (HEX10)



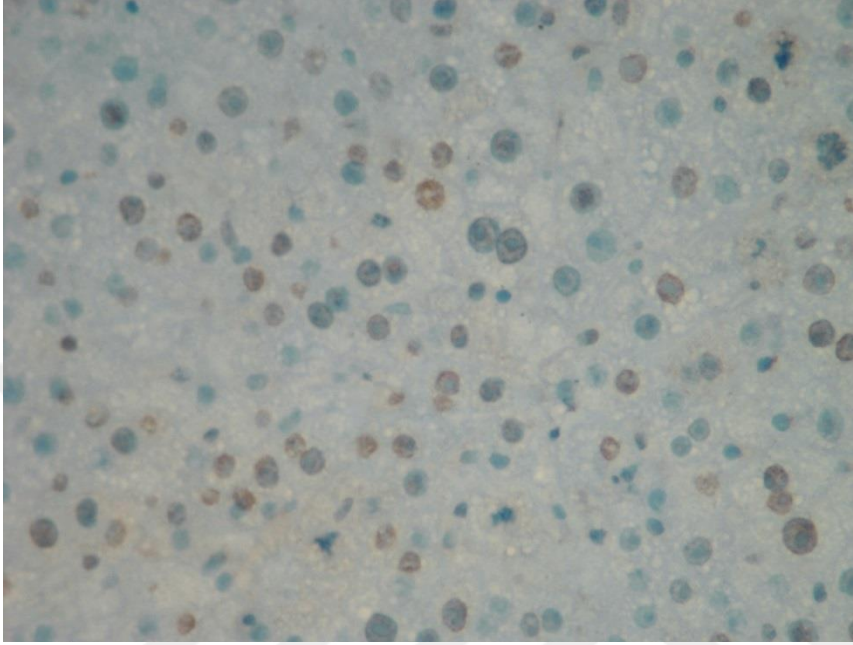
Resim 10 Slimarin+ iskemik önkoşullama ve sonrasında parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde yaygın sitoplazmik vakuolizasyon ve oklar ile gösterilen belirgin mitoz artışı (HEX40)



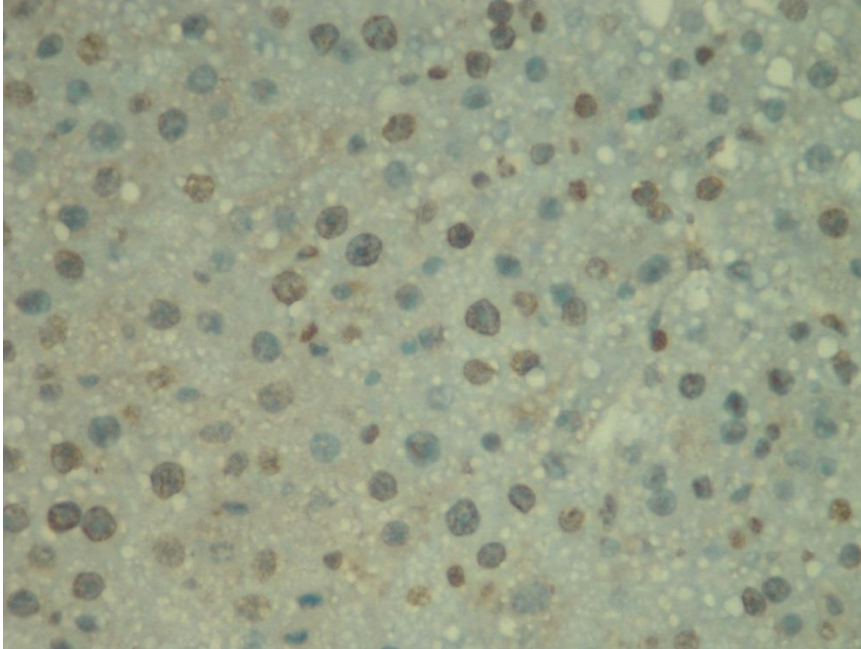
Resim 11. İskemik önkoşullama sonrası parsiyel hepatektomi 2. grupta hepatositlerde yaygın sitoplazmik vakuolizasyon (HEX20)



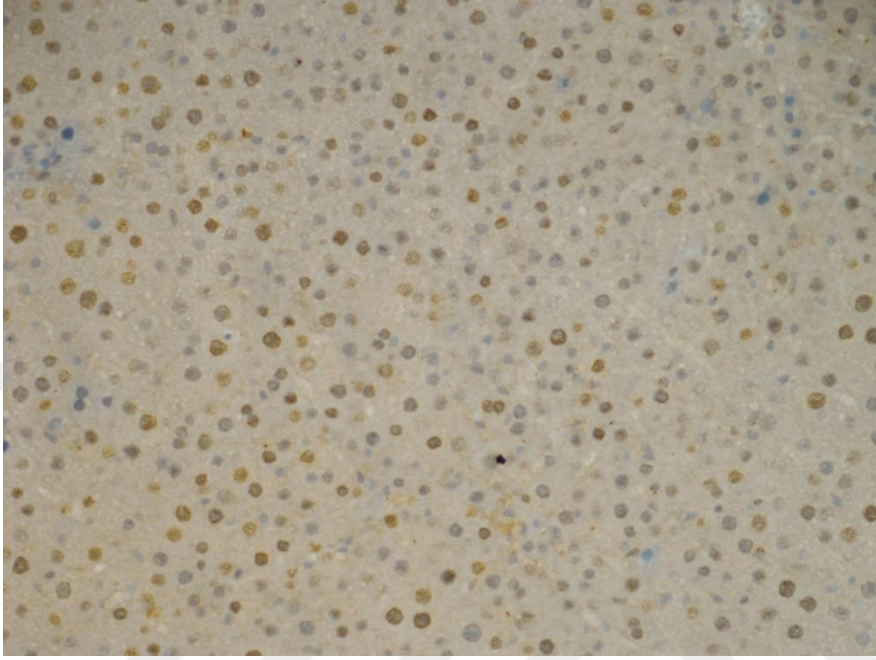
Resim 12. Sham grubunda PCNA ile hepatositlerde immunboyanma yokluğu (X20)



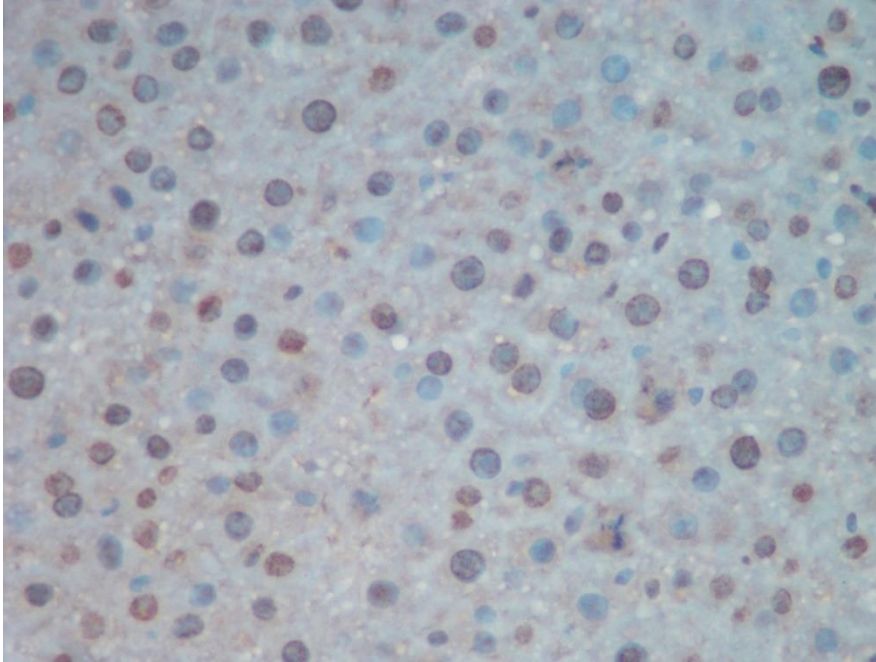
Resim 13. Parsiyel hepatektomi 2. grupta hepatositlerde PCNA ile seyrek nükleer immunboyanma (X40)



Resim 14. Slimarin+parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde PCNA ile immunreaksiyon (X40)



Resim 15. Slimarin+ iskemik önkoşullama ve sonrasında parsiyel hepatektomi yapılan 2. grupta hepatositlerde yaygın PCNA immunboyanması (X20)



Resim 16. İskemik önkoşullama sonrası parsiyel hepatektomi 2. grupta PCNA ile hepatositlerde immunboyanma (X40)

5.TARTIŞMA

Karaciğer rezeksiyonu benign ve malign nedenler ile uygulanabilen majör bir cerrahi girişimdir (144). Bir organın doku kaybı veya bir parçasının eksilmesi sonucu kütesini yeniden tamamlama yeteneği rejenerasyon olarak tanımlanır (145). Karaciğer rejenerasyon yeteneği ile diğer organlardan ayrılır. Rezeksiyon sonrası karaciğer rejenerasyonu, içerisinde proinflatuar sitokinlerin, hormonların, transkripsiyon faktörlerinin ve oksidatif stres ürünlerinin rol oynadığı komplike bir süreçtir (146).

Karaciğer rejenerasyonunun nasıl başladığı, nasıl devam ettiği ve bu süreçte etkin olan sistemlerin birbiriyle nasıl etkileştiği tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte karaciğerin ne zaman rejenerasyona başlayacağını ve ne zaman rejenerasyonu sonlandıracağını bildiği bir gerçektir (145). Karaciğerde meydana gelen doku kaybı rejenerasyonu başlatmaktadır ve geride kalan doku metabolizmayı normal sınırlarda devam ettirecek düzeye ulaşana dek bu süreç devam etmektedir. Rejenerasyonda en hassas nokta vücut kütesi ile karaciğer kütesi arasındaki orandır (147-148).

Karaciğer rejenerasyon kapasitesini en net gösteren model olan parsiyel hepatektomi, ilk defa Higgins ve Anderson tarafından 1931'de tanımlanmıştır. %70 parsiyel hepatektomi modeli sıçanlarda maksimum rejenerasyon stimulusunu oluşturur (149). Normalde, hepatositlerde mitoz çok nadirdir. Fakat parsiyel hepatektomiden sonra 24 saat içinde aktif hücre replikasyonu başlar ve organın ilk ağırlığına erişinceye kadar devam eder. İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır. Eksize edilen loblar aynen eski şekillerini almazlar. Rejenerasyon daha çok yeni lobüller oluşması ve rezidüel lobüllerin büyümesi şeklinde olur. Hepatik rejenerasyon için gerekli uyaranlar pankreas, diğer ekstrahepatik organlar ve rejenere olan karaciğerin bizzat kendisinden kaynaklanan humoral faktörlerdir (150, 151).

Majör karaciğer rezeksiyonu ve karaciğer transplantasyonunda karaciğerin zengin portal, arteriyel ve venöz ağı nedeniyle karaciğer cerrahisinde intraoperatif kanama en önemli problem olup bunu önlemek amacıyla çeşitli teknikler tanımlanmıştır. Bunlardan en iyi bilineni ve en yaygın uygulanan yöntem 1908 yılında Pringle

tarafından tariflenmiş olan 'pringle manevrası'dır. Cerrahi süresince hepatic pedikülün tümüyle klemplenmesi esasına dayanan bu uygulamanın primer amacı rezeksiyon sırasında kaybedilecek kan miktarını azaltmak ve böylece ilişkili olası komplikasyonları önlemektir. Halen yaygın olarak uygulanan bu işlemin sonucu olarak remnant karaciğer dokusunda oluşacak olan iskemi ve takiben reperfüzyon hasarı, çözüm bekleyen ciddi bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. İskemik süreçteki anaerobik metabolizma ve reperfüzyon sonrası özellikle serbest oksijen radikallerinin sorumlu tutulduğu reperfüzyon injurisi; postoperatif graft fonksiyon bozukluğu, morbidite ve mortalite ile yakından ilişkilidir. Dolayısıyla özellikle son iki dekatta kanama kontrolü amacıyla yapılan uygulamanın doğal sonucu olan iskemi reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik arayışlar hız kazanmıştır.

İlk olarak 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından tanımlanan İÖK ve aralıklı klempleme üzerinde çalışmalar yoğunlaşmış ve yapılan sınırlı sayıda çalışmada özellikle İÖK'nın İRH'ın hafifletilmesinde etkin olduğu gösterilmiştir (64).

Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığı çok yüksektir, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer zedelenmesinin sürdüğü tüm durumlarda serum seviyeleri yükselir. Araştırmalarda hücre zarının geçirgenliğindeki değişimlerin, hücrelerin sentezleme faaliyetlerinin ve hücrelerde meydana gelebilecek nekroz gibi çoğu hasarın göstergesi olarak karaciğerdeki AST ve ALT gibi enzimlerin plazmadaki miktarlarının önemi bildirilmiştir (152).

Biz çalışmamızda karaciğer hücre harabiyetinin ve fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra AST düzeyini çalıştık. AST düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak silimarin+İÖK+parsiyel hepatektomi yapılan grup 4 ve silimarin+parsiyel hepatektomi yapılan grup 3'te diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu bulundu. Bu sonuçlardan silimarin ve iskemik önkoşullamanın birlikte hepatosit hasarını daha fazla azalttığını söylemek mümkün olabilir.

Wang ve arkadaşları 2012 yılında 3'er ratlık önkoşullama ve kontrol grubunda rat alt ekstremitesine 4 döngü 5 dakika iskemi ve reperfüzyon sonrasında sol lateral lob ve kaudat lob transplantasyonu uygulamışlardır (153). Histopatolojik hasarın önkoşullama grubunda anlamlı olarak düşük olduğunu, TNF- α 'nın önkoşullama grubunda erken dönemde daha yüksek takip eden dönemlerde daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Ancak IL-6 ekspresyonunun önkoşullama grubunda anlamlı olarak hem erken hem de geç dönemde arttığını bildirmişlerdir. Buna bağlı olarak IL-6'nın hepatosit proliferasyonunu regule ettiğini önermişlerdir. Bizim çalışmamızda kontrol grubuna göre TNF- α ve IL-6 düzeylerinin diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği ve iskemik önkoşullama+parsiyel hepatektomi yapılan grup 5'te diğer gruplara göre değerlerin daha düşük olduğu bulunmuştur. Silimarin+parsiyel hepatektomi yapılan grup 3'te her iki değerinde anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur. Bu sonuçlardan silimarinin IL-6 düzeylerini artırıp iskemik önkoşullamanın ise TNF- α yı düşürerek hepatosit hasarını azalttığı düşünülebilir.

Histopatolojik olarak karaciğer hepatik hasar göstergeleri olan konjesyon, nekroz, sitoplazmik vakuolizasyon ve nötrofilik infiltrasyon oranları değerlendirildiğinde iskemik ön koşullama yapılan grup 4 ve 5'te konjesyon ve nekroz oranlarının artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ve bu sonuçlarla iskemik önkoşullama yapılmasının hepatik hasarı arttırdığı düşünülebilir. Silimarin verilen grup 3 ve 4'teki değerlerin sadece parsiyel hepatektomi yapılan grup 2'ye göre yüksek olmasının silimarinin koruyucu etkisini göstermediğini düşündürdü. Cescon ve ark. direkt İÖK'nin histopatolojik bulguları değiştirmedeğini göstermişlerdir (156).

Okano ve ark. (154) yapılan rejenerasyon çalışmalarından sonra preoperatif ve postoperatif karaciğer hacmi ve ağırlığı ile bunların oranının yaygın olarak kullanılmaya başladığını bildirmişlerdir. Esin H (155)'nin parsiyel hepatektomi yapılan ratlarda dipridamol uygulanması ile karaciğer rejenerasyonunu araştırdıkları çalışmada mitotik indeks, PCNA ve rölatif karaciğer ağırlığının (RA), rejenerasyona paralel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Bizde bu çalışmada Parsiyel hepatektomi yapılan

ratlarda karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmek için mitoz oranı, PCNA yüzdeleri ve rejenerere olan karaciğer ağırlığını hesapladık ve yapılan ölçümlerde silimarin +parsiyel hepatektomi yapılan grupta rejenerere olan karaciğer ağırlığının diğer gruplara göre daha fazla arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu. Tang ve ark. (157) araştırmalarında %70 parsiyel hepatektomiden 24, 48, 72 saat ve 8 gün sonra rejenerasyon oranlarını tespit ederek bu oranın zamana göre yükseldiği sonucuna ulaşmışlardır.

Karaciğer rejenerasyonunu değerlendirilmesinde birçok immünohistokimyasal yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin çoğu PCNA Ki-67, anti-PAA, antiribonükleotid redüktaz gibi endojen moleküllere karşı gelisen antikoranları ölçen tetkiklere dayanır. Biz de literatürde en sık kullanılan PCNA tekniğini tercih ettik (158.159).

Karaciğer rejenerasyonu ile ilgili araştırmalarda mitotik indeksin ve daha önemlisi PCNA indeksinin belirlenmesi sık olarak kullanılmış ve rejenerasyonun yorumlanmasında önemli rol oynamıştır (160,161). Hou ve ark. (162) FR167653 isimli organik bir bileşiğin parsiyel hepatektomi yapılmış sıçanlarda karaciğer rejenerasyonu üzerine etkilerinin belirlenmesinde mitotik indeks ve PCNA indeks verilerinden de yararlanılmıştır. Çalışmalarında parsiyel hepatektomi yaptıkları kontrol grubu sıçanlarının karaciğer kesitlerinden eş zamanlı olarak belirledikleri mitotik indeksin PCNA indeksinden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda silimarin+ parsiyel hepatektomi yapılan grup 3'te mitoz oranının diğer gruplara göre daha yüksek olduğu fakat istatistiksel olarak diğer gruplara göre anlamlı fark olmadığı görülmüştür. PCNA indeksinin İskemik Önkoşullama+Silimarin+Parsiyel hepatektomi yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlarla parsiyel hepatektomi yapılan gruplarda İÖK ve Silimarinin birlikte uygulanmasının rejenerasyon üzerinde daha etkin olduğu düşünülmektedir.

6.SONUÇ

Bu deneysel çalışmada parsiyel hepatektomi yapılan ratlar ile rezeksiyon öncesi 6 hafta silimarin kullanıldıktan sonra parsiyel hepatektomi yapılan ratlara ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. Silimarin verilen grupta verilmeyen gruba göre geride kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon kabiliyetinin daha fazla olduğu ayrıca karaciğer fonksiyonlarının daha az etkilendiği bulunmuştur. Buna ilave olarak parsiyel hepatektomi sırasında İÖK'nın geride kalan karaciğer dokusunun rejenerasyonunu artırdığı ve karaciğer fonksiyonlarının daha az etkilendiği gösterilmekle birlikte hepatektomiden önce silimarin kullanımının rejenerasyonu daha fazla artırdığı ve karaciğer fonksiyonlarını daha az etkilediği bulunmuştur. Bu sonuçlarla hepatektomi yapılmadan önce silimarin kullanımının ve İÖK yapılmasının karaciğer rejenerasyonunu artıracığı söylenebilir. Fakat bu sonuçların klinikte uygulanabilmesi için benzer klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000;32:19-31
2. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:836-847.
3. Koniaris L G, Mckillop I H, Schwartz S I, Zimmers TA. Liver regeneration. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 634–59.
4. Court F G, Wemyss-Holden S A, Dennison A R Maddern G J. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002; 89: 1089–95.
5. R. A. Zager, L. A. Baltes, H. M. Sharma, and M. S. Jurkowitz, “Responses of the ischemic acute renal failure kidney to additional ischemic events,” *Kidney International*, vol. 26, no. 5, pp. 689–700, 1984.
6. C. E. Murry, R. B. Jennings, and K. A. Reimer, “Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium,” *Circulation*, vol. 74, no. 5, pp. 1124–1136, 1986.
7. J.M.Lloris-Carsi, D. Cejalvo, L.H. Toledo-Pereyra, M.A. Calvo, and S. Suzuki, “Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia,” *Transplantation Proceedings*, vol. 25, no. 6, pp. 3303–3304, 1993.
8. Yadav S S, Singram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology* 1999; 30: 1223–31.
9. Koti R S, Yang W, Dashwood MR, Davidson B R, Seifalian A M. Effect of ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of ischemia reperfusion injury. *Liver Transplant* 2002; 8: 1182–91.
10. Peralta C, Hotter G, Closa D, Gelpi E, Bulbena O, Rosello-Catafau J. Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine. *Hepatology* 1997; 25: 934–7.

11. Yoshizumi T, Yanaga K, Soejima Y, Maeda T, Uchiyama H, Sugimachi K. Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *Br J Surg* 1998; 85: 1636–40.
12. Peralta C, Bartrons R, Riera L, et al. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G163–71.
13. Lee WY, Lee SM. Ischemic preconditioning protects postischemic oxidative damage to mitochondria in rat liver. *Shock* 2005; 24: 370–5.
14. Koti RS, Seifalian AM, Davidson BR. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Dig Surg* 2003;20(5):383-96
15. Madrigal-Santillán E, García-Melo F, Morales-González JA, Vázquez-Alvarado P, Muñoz-Juárez S, Zuñiga-Pérez C, Sumaya-Martínez MT, Madrigal-Bujaidar E, Hernández-Ceruelos A. Antioxidant and anticlastogenic capacity of prickly pear juice. *Nutrients* 2013; 5: 4145-4158 (PMID: 24145870 DOI: 10.3390/nu5104145)
16. Mendoza NV, Santillán EM, González AM, et al. Hepatoprotective effect of silymarin. *World J Hepatol.* 2014;27; 144–49.
17. Davis-Christopher. *Temel Cerrahi. Sabiston 9. Baskı. 2 – 1175.*
18. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr.* 1990; 137:1-53
19. Blumgart L H, Fong Y. *Surgery of the liver and biliary tract.* Edinburgh: Churchill Livingstone. 2000;3: 5.
20. Dere F. Karaciğer anatomisi. 1994; 3: 633-635.
- 21- Kuran O. *Sistemik Anatomi. Filiz Kitabevi, İstanbul* 1983;429–443.
- 22- Meyers WC, Jones RS. *Anatomy.* In Meyers WC, Jones RS (eds) *Textbook of liver and biliary surgery,* JB Lippincott Company, Philadelphia 1990;18-38.
23. Lygidakis N J, Tytgat G N J. *Hepatobiliary and pancreatic malignancies.* New York, Thieme Medical Publishers Inc. 1989: 458.
24. Scheele J, Stangl R. *Segment oriented anatomical liver resections.* 1994; 1557 -1578.

25. Goldsmith N A, Woodburne R T. Surgical anatomy pertaining to liver resection. *Surg Gynecol Obstet.* 1957;195:310-318.
26. Couinaud C. *Le Foi. Etudes anatomiques et chirurgicales.* Medical Publishers Inc. 1973;1:285-31.
- 27 . Kitagawa S, Yuo A, Souza LM, Saito M, Miura Y, Takaku F. Recombinant human granulocyte colonystimulating factor enhances superoxide release in human granulocytes stimulated by chemotactic peptide.1987;1443:1146.
28. Schwartz S I. *Principles of Surgery.* Mc Graw-Hill Co, 1999; 7: 1395-1433.
- 29 Carter D S, Russel R C G, Pitt H A, Bismuth H. *Hepatobiliary and pancreatic Surgery.* Cahpman- Hall Med. 1996;5: 688.
30. Bismuth H. *Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver.* W J Surg.1982;8:2.
31. Ratych RE, Smith GW. *Anatomy and physiology of the liver.* GD Zuidema.(Ed). *Shackelfords Surgery Of The Alimentary Tract.* Fourth ed. Philadelphia: Saunders 1996;3:357-73.
- 32- Gerbe MA, Swan NT. *Histology of the liver.* *Am J Surg Pathol* 1987;11:709-722.
- 33- Dominioni L, Chiappa A, Cuffari S, et al. *Vascular occlusions during resection of the liver.* In: Dionigi R, Madariaga J (eds). *New technologies for liver resections.* Karger Landes Systems Basel 1997;88-102.
34. Guyton AC. *Liver.* In: Guyton AC (Ed.). *Textbook of medical physiology (7th ed.).* WB Saunders, Philadelphia 1986;1203-1208.
- 35- Emre A, Kalaycı G. *Karaciğerin Cerrahi Anatomisi.* *Genel Cerrahi Cilt 2* 2002;1083-1090.
- 36- Foster JH. Berman MM. *Liver Resection. Operative Technique In. Solid Liver tumors.* *Major Problems in Clinical Surgery.* Philadelphia WB saunders 1977;25-33.
37. *Surgical Treatment and Other Regional Treatments for Colorectal Cancer Liver Metastases*
38. Schaffner F. *Structural and functional aspects of regeneration of human liver.* *Dig Dis Sci* 1991;36:1282-1286.

39. Ethier C, Kestekian R, Christine B, et al. Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in the rat. *Endocrinology* 1990;126:2947-2959.
40. Diehl AM, Rai R. Review: regulation of liver regeneration by pro- inflammatory cytokines. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:466-470.
41. Holt DR, Thiel DV, Edelstein S, et al. Hepatic resections. *Arch Surg* 2000;135:1353-1358.
42. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver Restoration oh the liver of the white rat following surgical removal. *Arch Pathol* 1931;12:186-206.
43. Perek S, Kapan S, Ed: Değerli Ü, Bozfakıoğlu Y, Cerrahi Gastroenteroloji. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul 2000;5:194-208.
44. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y et al. Human liver regeneration after major hepatic resection. *Ann Surg* 1987;206:309.
45. Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992;15:149-55.
46. Lindroos PM, Zornegor R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (Hepatopietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administation. *Hepatology* 1991;13:743-750.
47. Nishizaki T, Takenaka K, Yoshizumi T et al. Alteration in levels of human hepatocyte growth factor following hepatectomy. *J Am Coll Surg* 1995;181:6-10.
48. Noguchi S, Ohba Y, Oka T et al. Influence of epidermal growth factor on liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Endocrinol* 1991;128:425-31.
49. Amfiregülin: Farelerde Karaciğer Rejenerasyonunun Erken Tetikleyicisi. *Gastroenterology*. Türkçe baskı 2005;43-51.
50. Hashimoto M, Kothary BC, Raper S. The effects of transforming growth factor alpha and somatostatin on regenerating hepatocytes in the rat. *Regulatory peptides* 1993;44:49-
51. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997;60-66.

52. Francavilla A, Polimeno L, Barone M et al. Hepatic regeneration and growth factors. *J Surg Oncol* 1993;13:1-7.
53. Van Thiel DH, Stauber R, Gavalier JS et al. Hepatic regeneration, Effects of age, sex hormone status, prolactine and cyclosporine. *Dig Dis Sci* 1991;36:1309-12.
54. Svonos GW, Eagon PK, Elm M et al. Effect of antiandrogen flutamide on measures of hepatic regeneration in rats. *Dig Dsi Sci* 1989;34:1916-1923.
55. Ekberg S, Luther M, Nakamura T et al. Growth hormone promotes early initiation of hepatocyte growth factor gene expression in the liver of hypophysectomised rats after partial hepatectomy. *J Endocrinol* 1992;135:59-67.
56. Tsujii H, Okamoto Y, Kikuchi E. et al. Prostaglandin E2 and liver regeneration. *Gastroenterology* 1993;105:495-499.
57. Goss JA, Mangino MJ, Callery MP et al. Prostaglandin E2 down regulates kupffer cell production of IL-1 and IL-6 during hepatic regeneration. *Am J Physiol* 1993;601-608.
58. Hopf NJ, Brem J, Bohl J et al. Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system: an immunohistological study with the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1994;35:917-923.
59. Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R et al. MIB-1 (Ki-67) immunostaining cancer cells in cytologic smears. *Acta Cytol* 1997;41:229- 237.
60. Hopf NJ, Brem J, Bohl J et al. Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system: an immunohistological study with the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1994;35:917-923.
61. Dalquen P, Baschiera B, Chaffard R et al. MIB-1 (Ki-67) immunostaining cancer cells in cytologic smears. *Acta Cytol* 1998;42:229-237.
62. Batman F, Arslan S Karaciğer fizyolojisi. Sayek İ.(ed). *Temel cerrahi* 1996;2:1205-1206.
63. Navarro-Gonzalves JA, Garcia-Benayas C, Arenas J Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin* 1998;44:679-681.

64. Murry, C.E., R.B. Jennings, and K.A. Reimer, Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986. 74(5): p. 1124-1136
65. Liu, Y. and J.M. Downey, Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1992. 263(4): p. H1107-H1112.
66. Van Winkle, D.M., et al., The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coronary Artery Disease*, 1991. 2(5): p. 613-620.
67. Grace, P., Ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*, 2005. 81(5): p. 637-647.
68. Nieminen, A., et al., Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Cell Calcium*, 1988. 9(5): p. 237-246.
69. Carini, R., et al., Alterations of cell volume regulation in the development of hepatocyte necrosis. *Experimental cell research*, 1999. 248(1): p. 280-293. 71
70. Parks, D.A. and D.N. Granger, Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1986. 250(6): p. G749-G753.
71. Kharbanda, R., et al., Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation*, 2002. 106(23): p. 2881-2883.
72. Epstein, F.H. and J.M. McCord, Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New England Journal of Medicine*, 1985. 312(3): p. 159-163.
73. Huang, S.-S., F.-C. Wei, and L.-M. Hung, Ischemic preconditioning attenuates postischemic leukocyte--endothelial cell interactions: role of nitric oxide and protein kinase C. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*, 2006. 70(8): p. 1070.
74. Carden, D.L. and D.N. Granger, Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of pathology*, 2000. 190(3): p. 255-266.

75. Teoh, N.C. and G.C. Farrell, Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2003. 18(8): p. 891-902.
76. Birincioğlu, M., İskemi-reperfüzyon tekniklerine genel giriş.
77. Takaoka, A., et al., Renal ischemia/reperfusion remotely improves myocardial energy metabolism during myocardial ischemia via adenosine receptors in rabbits: effects of “remote preconditioning”. *Journal of the American College of Cardiology*, 1999. 33(2): p. 556-564.
78. Váli, L., et al., Reduced antioxidant level and increased oxidative damage in intact liver lobes during ischaemia-reperfusion. *World Journal of Gastroenterology*, 2006. 12(7): p. 1086. 72
79. Lentsch, A.B., et al., Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology*, 2000. 32(2): p. 169-173.
80. Nieuwenhuijs, V.B., M.T. De Bruijn, and R.T. Padbury, Hepatic ischemia-reperfusion injury: roles of Ca²⁺ and other intracellular mediators of impaired bile flow and hepatocyte damage. *Digestive diseases and sciences*, 2006. 51(6): p. 1087-1102.
81. Quireze Jr, C., et al., Ischemic preconditioning prevents apoptotic cell death and necrosis in early and intermediate phases of liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Investigative Surgery*, 2006. 19(4): p. 229-236.
82. Peralta, C., et al., Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology*, 1999. 30(6): p. 1481-1489.
83. Fernandez, L., et al., Role of ischemic preconditioning and the portosystemic shunt in the prevention of liver and lung damage after rat liver transplantation¹. *Transplantation*, 2003. 76(2): p. 282-289.
84. Hawaleshka, A. and E. Jacobsohn, Ischaemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Canadian journal of anaesthesia*, 1998. 45(7): p. 670-682.

85. Cohen, M., G. Liu, and J. Downey, Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation*, 1991. 84(1): p. 341-349.
86. Li, Y., P. Whittaker, and R.A. Kloner, The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. *American heart journal*, 1992. 123(2): p. 346-353.
87. Murry, C.E., et al., Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1991. 260(3): p. H796-H804.
88. Pagliaro, P., et al., Ischemic preconditioning: from the first to the second window of protection. *Life sciences*, 2001. 69(1): p. 1-15.
89. Lloris-Carsi, J., et al. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. in *Transplantation proceedings*. 1993.
90. Koti, R.S., A.M. Seifalian, and B.R. Davidson, Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Digestive surgery*, 2003. 20(5): p. 383-396.
91. Peralta, C., et al., Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology*, 1998. 28(3): p. 768-773.
92. Peralta, C., et al., Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through blockade of tumor necrosis factor-induced P-selectin up-regulation in the rat. *Hepatology*, 2001. 33(1): p. 100-113.
93. Howell, J.G., et al., Both Ischemic and Pharmacological Preconditioning Decrease Hepatic Leukocyte/Endothelial Cell Interactions 1. *Transplantation*, 2000. 69(2): p. 300-307.
94. Yadav, S.S., et al., Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology*, 1999. 30(5): p. 1223-1231.

95. Peralta, C., et al., Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Hepatology*, 2001. 34(6): p. 1164-1173.
96. Koti, R.S., et al., Effect of ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of ischemia reperfusion injury. *Liver transplantation*, 2002. 8(12): p. 1182-1191.
97. Peralta, C., et al., The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology*, 1999. 29(1): p. 126-132.
98. Carini, R., et al., Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes. *Hepatology*, 2001. 33(1): p. 131-139.
99. Ricciardi, R., et al., Protective effects of ischemic preconditioning on the cold-preserved liver are tyrosine kinase dependent. *Transplantation*, 2001. 72(3): p. 406-412.
100. Funaki, H., et al., Essential role for nuclear factor (kappa) B in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver. *Transplantation*, 2002. 74(4): p. 551-556.
101. Weinbrenner, C., et al., Remote preconditioning by infrarenal occlusion of the aorta protects the heart from infarction: a newly identified non-neuronal but PKC-dependent pathway. *Cardiovascular research*, 2002. 55(3): p. 590-601.
102. Pell, T.J., et al., Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1998. 275(5): p. H1542-H1547.
103. Weinbrenner, C., et al., Remote preconditioning by infrarenal aortic occlusion is operative via $\delta 1$ -opioid receptors and free radicals in vivo in the rat heart. *Cardiovascular research*, 2004. 61(3): p. 591-599.
104. Rastaldo, R., et al., Nitric oxide and cardiac function. *Life sciences*, 2007. 81(10): p. 779-793.
105. Ishikawa, Y., et al., Heat shock preconditioning on mitochondria during warm ischemia in rat livers. *Journal of Surgical Research*, 1999. 87(2): p. 178-184.

106. Lai, I.-R., et al., Transient limb ischemia induces remote preconditioning in liver among rats: the protective role of heme oxygenase-1. *Transplantation*, 2006. 81(9): p. 1311-1317.
107. Glantzounis, G.K., et al., Formation and role of plasma S-nitrosothiols in liver ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 2007. 42(6): p. 882-892.
108. Suzuki, Y., et al., Inducible nitric oxide synthase gene knockout mice have increased resistance to gut injury and bacterial translocation after an intestinal ischemia-reperfusion injury. *Critical care medicine*, 2000. 28(11): p. 3692-3696.
109. Phillips, L., et al., Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury. *Investigative Surgery*, 2009. 22(1): p. 46-55.
110. Chen, T., et al., Role of nitric oxide in liver injury. *Current molecular medicine*, 2003. 3(6): p. 519-526.
111. Caban, A., et al. Influence of ischemic preconditioning and nitric oxide on microcirculation and the degree of rat liver injury in the model of ischemia and reperfusion. in *Transplantation proceedings*. 2006. Elsevier.
112. Koti, R.S., et al., Nitric oxide synthase distribution and expression with ischemic preconditioning of the rat liver. *The FASEB journal*, 2005. 19(9): p. 1155-1157.
113. Abu-Amara, M., et al., Role of endothelial nitric oxide synthase in remote ischemic preconditioning of the mouse liver. *Liver transplantation*, 2011. 17(5): p. 610-619.
114. Tapuria, N., et al., Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury—a review. *Journal of Surgical Research*, 2008. 150(2): p. 304-330.
115. Wang, F., et al., Remote ischemic preconditioning by hindlimb occlusion prevents liver ischemic/reperfusion injury: the role of High Mobility Group-Box 1. *Annals of surgery*, 2010. 251(2): p. 292-299.
116. Izuishi, K., et al., Cutting edge: high-mobility group box 1 preconditioning protects against liver ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Immunology*, 2006. 176(12): p. 7154-7158.

117. Belghiti, J., et al., Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study. *Annals of surgery*, 1999. 229(3): p. 369.
118. Hardy, K.J., D.N. McClure, and S. Subwongcharoen, Ischaemic preconditioning of the liver: a preliminary study. *Australian and New Zealand journal of surgery*, 1996. 66(10): p. 707-710.
119. Kume, M., et al., Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1996. 128(3): p. 251-258.
120. Clavien, P.-A., et al., A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Annals of surgery*, 2003. 238(6): p. 843.
121. Clavien, P.-A., et al., Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Annals of surgery*, 2000. 232(2): p. 155.
122. Rüdiger, H.A., et al., Comparison of ischemic preconditioning and intermittent and continuous inflow occlusion in the murine liver. *Annals of surgery*, 2002. 235(3): p. 400.
123. Yoshizumi, T., et al., Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *British Journal of Surgery*, 1998. 85(12): p. 1636-1640.
124. Madrigal-Santillán E, Madrigal-Bujaidar E, Cruz-Jaime S, Valadez-Vega MC, Sumaya-Martínez MT, Pérez-Ávila KG, Morales-González JA. The Chemoprevention of Chronic Degenerative Disease Through Dietary Antioxidants: Progress, Promise and Evidences. In: Morales-González JA, editor. *Oxidative stress and chronic degenerative diseases-a role for antioxidants*. Rijeka: Croatia InTech, 2013: 155-185 (DOI: 10.5772/52162)
125. Hamid S, Sabir A, Khan S, Aziz P. Experimental cultivation of *Silybum marianum* and chemical composition of its oil. *Pak J Sci Ind Res* 1983; 26: 244-246
126. Morazzoni P, Bombardelli E. *Silybum marianum* & *Cardusarianum*. *Fitoterapia* 1995; 66: 3-42

127. Lee DY, Liu Y. Molecular structure and stereochemistry of silybin A, silybin B, isosilybin A, and isosilybin B, Isolated from *Silybum marianum* (milk thistle). *J Nat Prod* 2003; 66: 1171-1174 (PMID: 14510591 DOI: 10.1021/np030163b)
128. Ligeret H, Brault A, Vallerand D, Haddad Y, Haddad PS. Antioxidant and mitochondrial protective effects of silibinin in cold preservation-warm reperfusion liver injury. *J Ethnopharmacol* 2008; 115: 507-514 (PMID: 18061382 DOI: 10.1016/j.jep.2007.10.024)
129. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 803-806 (PMID: 20034535 DOI: 10.1016/j.fct.2009.12.011)
130. Abou Zid S. Silymarin, Natural Flavonolignans from Milk Thistle. In: Venketeshwer R, editor. *Phytochemicals-A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. Rijeka: Croatia InTech, 2012: 255-272
- 131 Deep G, Oberlies NH, Kroll DJ, Agarwal R. Isosilybin B and isosilybin A inhibit growth, induce G1 arrest and cause apoptosis in human prostate cancer LNCaP and 22Rv1 cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1533-1542 (PMID: 17389612 DOI: 10.1093/carcin/bgm069)
132. Sotoa, C., Recobaa, R., Barrona, H. Alvareza, C., Favarib, L. (2003). Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 136, 205-212.
133. Hikino H, Kiso Y, Wagner H, Fiebig M. Antihepatotoxic actions of flavonolignans from *Silybum marianum* fruits. *Planta Med* 1984; 50: 248-250 (PMID: 6091165)
134. Flora K, Hahn M, Rosen H, Benner K. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 139-143 (PMID: 9468229 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.00139.x)
135. Pietrangelo A, Borella F, Casalgrandi G, Montosi G, Ceccarelli D, Gallesi D, Giovannini F, Gasparetto A, Masini A. Antioxidant activity of silybin in vivo during long-term iron overload in rats. *Gastroenterology* 1995; 109: 1941-1949 (PMID: 7498660 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90762-9)

136. Bosisio E, Benelli C, Pirola O. Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. *Pharmacol Res* 1992; 25: 147-154 (PMID: 1635893 DOI: 10.1016/1043-6618(92)91383-R)
137. Carini R, Comoglio A, Albano E, Poli G. Lipid peroxidation and irreversible damage in the rat hepatocyte model. Protection by the silybin-phospholipid complex IdB 1016. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 2111-2115 (PMID: 1599497 DOI: 10.1016/0006-2952(92)90168-I)
138. Sonnenbichler J, Goldberg M, Hane L, Madubunyi I, Vogl S, Zetl I. Stimulatory effect of Silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers: non-response in hepatoma and other malign cell lines. *Biochem Pharmacol* 1986; **35**: 538-541 (PMID: 3004503 DOI: 10.1016/0006-2952(86)90233-9)
139. Fraschini F, Demartini G, Esposti D. Pharmacology of silymarin. *Clin Drug Invest* 2002; **22**: 51-65 (DOI: 10.2165/00044011-200222010-00007)
140. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* 1996; **23**: 749-754 (PMID: 8666328 DOI: 10.1002/hep.510230415)
141. Schwartz's Principles of Surgery (8.th ed) McGraw-Hill. Philadelphia 2005;1139-1142.
142. Koti RS, Seifalian AM, Davidson BR. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Dig Surg* 2003;20:383-396
143. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver Restoration of the liver of the white rat following surgical removal. *Arch Pathol* 1931;12:186-206.
144. Pinkerton JA, Sawyers JL, Foster JH. A study of the postoperative course after hepatic lobectomy. *Ann Surg* 1971; 173:800.
145. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000;32(Suppl):19-31
146. Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. *World J Surg* 1982;6:10-24.

147. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2001;48:556-62
148. Fausto N. Hepatic regeneration. In: Zakim D, Boyer TD (eds). *Hepatology*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. 32-58.
149. MacDonald RA, Rogers AE, Pechet G. Regeneration of the liver. Relation of the regenerative response to size of partial hepatectomy. *Lab Invest* 1962;11:544-48
150. Linder RM, Cady B. Hepatic resection. *Surg Clin North Am* 1980;60: 349-67.
151. Iwatsuki S, Shaw BW Jr, Starzi TE. Experience with 150 liver resections. *Ann Surg* 1983;197:247-52.
152. El-Ashmawy IM, el-Nahas AF, Salama OM. Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005;97:238-43.
153. Wang, M. et al, Remote ischemic preconditioning promotes early liver cell proliferation in a rat model of small-for-size liver transplantation. *Journal of Surgical Research*, 2012.
154. Okano T, Ohwada S, Nakasone Y, Sato Y, Ogawa T, Tago K et al. Blood transfusion causes deterioration in liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *J Surg Res* 2001; 101(2): 157-65.
155. Esin H. Deneysel hepatik rezeksiyon modelinde dipridamolün hepatik rejenerasyon üzerine etkisi (tez). Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD; 2005.
156. Cescon M, Grazi GL, Grassi A, Ravaioli M, Vetrone G, Ercolani G, et al. Effect of ischemic preconditioning in whole liver transplantation from deceased donors. A pilot study. *Liver Transpl* 2006;12(4):628-35.
157. Tang TX, Hashimoto T, Chao LY, Itoh K, Manabe T, Effects of partial pancreatectomy on liver regeneration in rats. *J Surg Res* 1997;72(1):8-14.
158. Furuta K, Kakita A, Takahashi T, Tomiya T, Fujiwara K. Experimental study on liver regeneration after simultaneous partial hepatectomy and pancreatectomy. *Hepatology Research* 2000; 17:223-236.

159. Kaya Y, Aral E, Coskun T, Erkasap N, Var A. Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats, *Journal of Surgical Research* 2002; 108(8): 250-7.
160. Assy N, Minuk GY. Liver regeneration: methods for monitoring and their applications. *J Hepatol* 1997; 26: 945-52.
161. Picard C, Lambotte L, Starkel P, Sempoux C, Saliez A, Berge VVD et al. Steatosis is not sufficient to cause an impaired regenerative response after partial hepatectomy in rats. *J Hepatol* 2002;32:645-52
162. Veteläinen R, van Vliet AK, van Gulik TM. Severe steatosis increases hepatocellular injury and impairs liver regeneration in a rat model of partial hepatectomy. *Ann Surg* 2007 ;245:44-50.

8. ÖZET

Giriş: Karaciğerin rejenerasyon kabiliyetini artırmaya yönelik birçok cerrahi teknik ve medical ya da bitkisel ilaç denenmiştir ve denenmeye devam edilmektedir. Bu nedenle deneysel olarak yapılan karaciğer rezeksiyonu sırasında İÖK yapılan ratlara hepatektomi öncesi verilen silimarinin karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metodlar: Çalışmaya Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'undan 26/06/2015 tarihli G.Ü.ET-15.047 kod numarası ile onam alındıktan sonra başlandı.Çalışmada 30 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Sham grubundaki ratlara sadece hepatik manüplasyon ve portal triad diseksiyonu yapıldı ve 48 saat sonra sakrifiye edildi. **Grup II'de** (Parsiyel hepatektomi grubu) %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı. Rezeke edilen karaciğer dokusu tartıldı. 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. **Grup III** de (Silimarin + Parsiyel hepatektomi grubu) 6 hafta boyunca Silimarin 200 mg/kg dozunda içme sularına katılarak verildi. 6 hafta sonra ratlara %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. **Grup IV** de (İskemik önkoşullama + Silimarin grubu + Parsiyel hepatektomi) işlem öncesi 6 hafta boyunca Silimarin verildikten sonra iskemik önkoşullama sonrası %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. **Grup V** de (İskemik önkoşullama + Parsiyel Hepatektomi grubu) iskemi önkoşullama sonrasında %70'lik karaciğer rezeksiyonu uygulandı ve 48 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. Ratlardan hepatektomi sonrası serum AST, LDH, Bilirubin, TNF- α , IL-6 değerleri ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Histopatolojik olarak doku örnekleri mitoz sayısı, konjesyon, nekroz, sitoplazmik vakuolizasyon, nötrofil varlığı açısından değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak PCNA (proliferating cell nuclear antigen) antikoruna çalışıldı. **Bulgular:** Silimarin verilen grupta verilmeyen gruba göre geride kalan karaciğer dokusunun rejenerasyon kabiliyetinin daha fazla olduğu ayrıca karaciğer fonksiyonlarının daha az etkilendiği bulunmuştur. Buna ilave olarak parsiyel hepatektomi sırasında İÖK'nın geride kalan karaciğer dokusunun rejenerasyonunu artırdığı ve karaciğer fonksiyonlarının daha az etkilendiği gösterilmekle birlikte

hepatektomiden önce silimarin kullanımının rejenerasyonu daha fazla artırdığı ve karaciğer fonksiyonlarını daha az etkilediği bulunmuştur

Sonuç: Bu sonuçlarla hepatektomi yapılmadan önce silimarin kullanımının ve İÖK yapılmasının karaciğer rejenerasyonunu artıracığı söylenebilir. Fakat bu sonuçların klinikte uygulanabilmesi için benzer klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer Rezeksiyonu, Silimarin, İskemik Önkoşullama

9. SUMMARY

Introduction: Many surgical techniques and medical or herbal drugs have been experimented in order to increase regeneration capacity of the liver and experiments are still in course. Therefore, we have aimed to examine the effects of silymarin, which is administrated to the rats implemented with IPC before hepatectomy during the experimental liver resection, on the liver regeneration.

Materials and Methods: The study has been started after receiving consent, from Local Ethics Committee for Animal Experiments of Gazi University, dated 26/06/2015 and coded G.Ü.ET-15.047. In the study, 30 male Wistar-Albino rats have been used. On the rats in the sham group, only hepatic manipulation and portal triad dissection have been implemented; and they have been sacrificed after 48 hours. **On Group II** (Partial hepatectomy), 70% liver resection has been implemented. Resected liver tissue has been weighed. Rats have been sacrificed after 48 hours. **On Group III** (Silymarin + Partial hepatectomy), 200 mg/kg of Silymarin dose have been implemented by adding it to their drinking water for six weeks. Six weeks later, 70% liver resection has been implemented on rats; and rats have been sacrificed after 48 hours. **On Group IV** (Ischemic preconditioning + Silymarin + Partial hepatectomy), Silymarin is administered for 6 weeks before the process, and then 70% liver resection has been implemented after ischemic preconditioning; and rats have been sacrificed after 48 hours. **On Group V** (Ischemic preconditioning + Partial Hepatectomy), after the ischemic preconditioning, 70% liver resection has been implemented; and rats have been sacrificed after 48 hours. After the hepatectomies implemented on rats, serum AST, LDH, Bilirubin, TNF- α and IL-6 values have been studied with ELISA method. Tissue samples have been histopathologically evaluated in terms of a number of mitosis, congestion, necrosis, cytoplasmic vacuolization and presence of neutrophils. PCNA (proliferating cell nuclear antigen) antibodies have been immunohistochemically studied.

Results: In the group administered with Silymarin, it has been found out that regeneration capacity of remaining liver tissue had been higher, and liver functions had

also been affected lesser compared to the group on which silymarin has not been administered. In addition to this, during the partial hepatectomy, it has been observed that IPC had increased regeneration rate of remaining liver tissue and liver functions had been affected lesser, and, at the same time, it has been found out that silymarin administration before hepatectomy had increased the regeneration rate much more and affected liver functions lesser.

Conclusion: With these results, it can be said that silymarin administration and IPC implementation before hepatectomy would increase liver regeneration rate. However, in order for these results should be implemented in the clinic, similar clinical studies are required.

Key Words: Liver resection, Silymarin, Ischemic preconditioning

10. EKLER

10.1. Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 26/06/2015-77181



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Aydın DALGIÇ
Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Aydın DALGIÇ, Aydın YAVUZ, Kürşat DİKMEN, Hasan BOSTANCI, Tuba TAŞKIN TÜRKMEÑOĞLU, Özlem GÜLBAHAR ve Mehmet ÇİNGİRT'ten oluşan, G.Ü.ET-15.047 kod numaralı ve "*DeneySEL Olarak Yapılan Karaciğer Rezeksiyonu Sırasında İskemik Önkoşullama Yapılan Ratlara Hepatektomi Öncesi Verilen Silimarinin Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-15.047 and entitled "*Silymarin and ischemic preconditioning effects of liver regeneration on experimental liver resection in rats* " is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-İmzalıdır
Prof. Dr. Leyla AÇIK
Kurul Başkanı

EK :
1 Liste

Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 Faks:0 (312) 202 20 63
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://dhak.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.