

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

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Aydın ALTAN

**DENEYSEL HEPATİK REZEKSİYON MODELİNDE  
KAFEİK ASİT FENETİL ESTERİN KARACİĞER  
REJENERASYONUNA ETKİSİ**

**( Uzmanlık Tezi )**

**Dr. Orhan YAĞMURKAYA**

EDİRNE – 2013

## TEŐEKKÖR

Cerrahi sanatında yetişmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Aydın ALTAN, Prof. Dr. Zeki HOŐCOŐKUN, Prof. Dr. İrfan COŐKUN, Prof. Dr. Cengiz ERENOğLU, Doç. Dr. Ahmet R. HATİPOğLU, Doç. Dr. A. Cem İBİŐ, Doç. Dr. Atakan SEZER, Doç. Dr. Serhat OęUZ, Doç. Dr. Tamer SAğİROğLU ve Yrd. Doç. Dr. Doęan ALBAYRAK' a, tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Turan KARACA' ya, cerrahi eğitimim sürecinde benden desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, biricik aőkım Dr. Öznur YAğMURKAYA' ya ve aileme teőkükürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| GİRİŞ VE AMAÇ.....               | 1  |
| GENEL BİLGİLER.....              | 3  |
| KARACİĞER.....                   | 3  |
| KARACİĞER HASARI .....           | 9  |
| KARACİĞER TRANSPLANTASYONU ..... | 10 |
| KARACİĞER REJENERASYONU .....    | 11 |
| CAPE .....                       | 16 |
| GEREÇ VE YÖNTEMLER .....         | 18 |
| BULGULAR.....                    | 24 |
| TARTIŞMA.....                    | 41 |
| SONUÇLAR.....                    | 46 |
| ÖZET .....                       | 47 |
| SUMMARY .....                    | 49 |
| KAYNAKLAR.....                   | 51 |
| EKLER                            |    |

## SİMGE VE KISALTMALAR

|                                   |                                    |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| <b>AI</b>                         | : Apoptotik İndeks                 |
| <b>CAPE</b>                       | : Kafeik Asit Fenetil Ester        |
| <b>CAT</b>                        | : Katalaz                          |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik Asit           |
| <b>EBF</b>                        | : Epidermal Büyüme Faktörü         |
| <b>ESM</b>                        | : Ekstrasellüler Matriks           |
| <b>GSH-Px</b>                     | : Glutasyon Peroksidaz             |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen Peroksit                |
| <b>HE</b>                         | : Hematoksilen-eozin               |
| <b>HGF</b>                        | : Hepatosit Büyüme Faktörü         |
| <b>HSCORE</b>                     | : Histolojik Skorlama              |
| <b>HSH</b>                        | : Hepatik Stellat Hücre            |
| <b>IL-6</b>                       | : İnterlökin-6                     |
| <b>MDA</b>                        | : Malondialdehit                   |
| <b>PBS</b>                        | : Fosfat Buffer Solüsyonu          |
| <b>PCNA</b>                       | : Prolifere Hücre Nükleer Antijeni |
| <b>PI</b>                         | : Proliferasyon İndeksi            |
| <b>RA</b>                         | : Rölatif Ağırlık                  |
| <b>SF</b>                         | : Serum Fizyolojik                 |
| <b>SOD</b>                        | : Süperoksit Dismutaz              |
| <b>TGF</b>                        | : Transforming Büyüme Faktörü      |

**TNF- $\alpha$**  : Tümör Nekrosis Faktör-Alfa

**TUNEL** : Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated dUTP-Biotin Nick End-Labeling

## GİRİŞ VE AMAÇ

Bazı kişiler tarafından vücudun can damarı olarak da adlandırılan karaciğer, birçok metabolik işlevi yerine getirmenin yanı sıra, kanın pıhtılaşma fonksiyonunu ayarlar ve kendini yeniler. Yaklaşık ağırlığı, yetişkin bir insanda 1,5 kg olup, vücuttaki en büyük solid organdır (1). Safra asit sentezi ve sekresyonu, kan-glikoz dengesi ve lipoprotein sentezi, vitaminlerin depolanması (A, D, E, K ve B12), endojen ve eksojen bileşiklerin biyotransformasyonu, detoksifikasyonu ve ekspresyonu gibi birçok temel fizyolojik olayda merkezi bir rolü vardır (2). İlaçlar, kimyasal maddeler, travma, karaciğer tümörleri, viral kökenli karaciğer hastalıkları, karaciğere doğrudan etkili organların bozukluğundan kaynaklanan hasarlar ve cerrahi girişimler gibi çok sayıda etken, karaciğer dokusunun zarar görmesine neden olabilir. Bu da, normalde nadiren bölünen hepatositlerde, hücrelerin G0 fazından G1 fazına geçmesine ve rejenerasyon başlamasına sebep olur. Bu olaylar öncül hücrelerle değil normal karaciğer hücrelerinin rejenerasyon kapasitesi ile sağlanır. Bu proliferatif kapasite ve adaptasyon yeteneği, değişik metabolik koşullara karşı da sürdürülmektedir. Bunun doğal sonucu olarak, karaciğer rezeksiyonu sonrası; erişkinlerde 3-6 ayda, çocuklarda 3 aydan daha kısa bir süre içerisinde karaciğerin eski ağırlığına ulaştığı gösterilmiştir. Siroz varlığında ise bu süre 9-15 aya kadar çıkmaktadır (3,4). İnsan karaciğerinin %80-85' e varan rezeksiyonları bile tolere edebildiği bildirilmektedir (5). Rezeksiyon %10' dan az bile olsa rejenerasyon gerçekleşmektedir (6).

Parsiyel hepatektomiden sonra geride kalan karaciğer dokusunda rejenerasyonun ilk günden itibaren başladığı ve deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin, hepatektomi sonrasında ilk 24-48 saatte maksimuma ulaştığı gösterilmiştir. Bu rejenerasyon daha çok yeni lobüllerin

oluşması ve rezidü lobüllerin büyümesi şeklinde olur. Fakat rezeke edilen loblar rezeksiyondan önce şekillerini bir daha alamazlar (7).

Karaciğer rezeksiyonu son yıllarda preoperatif tanı, cerrahi teknikte, postoperatif bakım gelişmesiyle daha güvenilir ve kontrol edilebilir işlem haline gelmesi modern cerrahideki en önemli aşamalardan biri olmuştur. Rezeksiyon öncesi ve rezeksiyon sırasında uygulanan iskeminin etkisi ve süresi azaltılması gerekmektedir. Bununla birlikte rezeksiyon sonrası hepatik kan akımının artırılması ve bir dizi inflamatuvar olayın kontrol altında tutulması önem kazanmış olup, birçok ajanla çalışma yapılmasına rağmen, hiçbiri yaygın olarak kullanıma girememiştir (8).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE), propolis maddesinin aktif bir bileşeni olup güçlü antiinflamatuvar, antimikrobik, immünomodülatör, antimitojenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Yapıca flavonoidlere benzer ve iki halkasal yapı içerir. Bu halkasal yapılardan bir tanesi hidroksil grubu taşımaktadır. Bu hidroksil grup sayesinde redoks reaksiyonlarında aktif rol oynayarak, E ve C vitaminleri gibi antioksidan özellik göstermektedir (9).

Rejenerasyon için etkin ve yaygın kabul görecek yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Biz bu çalışmamızda; deneysel parsiyel hepatektomi modelinde, rejenerasyona olumlu etkisi olduğunu düşündüğümüz CAPE' nin, karaciğer dokusuna etkisini şık mışkroskopu, proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA) ile inceleme ve Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated dUTP-Biotin Nick End- Labeling (TUNEL) metoduyla ortaya koymayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### KARACİĞER

#### Embriyolojisi

Karaciğer, ön barsağın (foregut) endoderminden ve septum transversumun mesoderminden köken alır. Dört haftalık embriyoda ön barsağın, daha sonra duodenum gelişeceği ventral bölgesinde bir divertikül meydana gelir. Bu divertikülün kaudal kısmından duktus sistikus ve safra kesesi, kranial bölümden ise karaciğer meydana gelir (10). Septum transversumdan, diyaframın bir kısmını ve bu bölgedeki ventral mezogastriyumu oluşturur.

Küçük kaudal parça; safra kesesi olarak gelişir. Hepatik divertikülün sapından ise sistik kanalı oluşturur. Başlangıçta, ekstrahepatik safra yolları epitel hücreleriyle tıkalıdır fakat daha sonra bu hücrelerin dejenerasyonu sonucu vakuoller oluşur ve safra yolları kanalize olur. Kolodek ise hepatik kanal ve sistik kanalı duodenuma bağlayan yapıdan gelişir. Karaciğer hücreleri onikinci haftada, safra oluşturmaya başlarlar (11). Safranin duodenuma gelişini onüçüncü haftadan sonra olur ve bağırsağa geçerek mekonyuma koyu yeşil rengi verir (12,13).

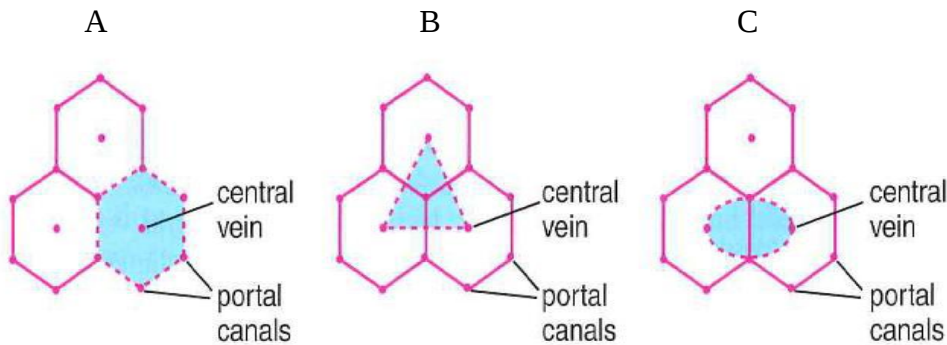
Büyük olan kranial parça, karaciğer taslağını oluşturur. Çoğalan endodermal hücreler, ağ şeklinde yayılan hepatik kordonları ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitelyum hücrelerini yaparlar. Karaciğerin kupffer hücreleri, fibröz ve hematopoetik dokusu ise septum transversum mezenşiminden köken alır (11,14). Gelişimin ileri dönemlerinde, karaciğer kordonları vitellin ve umblikal venlerle karışarak hepatik sinüzoidleri oluştururlar. Karaciğer kordonları parankime farklılaşır ve safra kanallarının iç yüzünü döşerler (12,15).

Karaciğer 10. haftaya kadar karın boşluğunun büyük bölümünü kaplar. Vena umblikalisten karaciğere akan kanın miktarı karaciğerin gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler (11). Doğumda karaciğer ağırlığı vücut ağırlığının %5' i kadardır (14). Gelişimin ilk evrelerinde lob büyüklükleri aynıdır. İlerleyen zamanlarda ise sağ lob, sol loba göre daha fazla büyür (14,15).

### Histoloji

Karaciğer, lobül olarak isimlendirilen asıl fonksiyonel ünitesi olan birimlerden oluşmaktadır. Bu lobüller birkaç  $\mu\text{m}$  uzunluğunda 0,7-2  $\mu\text{m}$  çapında ve silindirik yapıda 50.000-100.000 adet bulunan poligonal doku kitleleridir. Bu birimlerin temel elemanı ise hepatositlerdir. Hepatositler karaciğer hücre kitlesinin %60' ını oluştururlar. Karaciğer lobülleri birçok bölümlerinde birbirleriyle yakın temasta oldukları için sınırlarını belirlemek oldukça güçtür (16). Her lobülün merkezinde santral venler bulunur (Şekil 1). Bu santral venler giderek genişleyen sublobüler venlerle, oradan da infrahepatik venlere drene olur. Bu venler vena hepaticaları oluşturur ve vana kava inferiora drene olurlar. Lobüllerin köşelerinde portal alan adı verilen aynı zaman da portal triad veya traktus adıyla da bilinen, içinde safra kanalı, lenfatik, sinir ve kan damarları oluşturduğu çevresinde bağ dokusu bulunan yapılar vardır. Sinüzoidlerin endotel tabakası ile hepatositler arasında "Disse" aralığı denilen boşluk vardır, bu kısımda karaciğer lenf sıvısı oluşur.

Karaciğerde endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan Kupffer hücreleri bulunur, bu hücreler endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde yerleşmiştir. Kupffer hücreleri tipik makrofajlardır (17,18,19).



**Şekil 1. Karaciğer lobülünün histolojik sınıflandırılması: A-Klasik karaciğer lobülü, B-Portal lobül, C-Karaciğer sinüsü (20).**

## Anatomi

Karaciğer, sağ 4-6. interkostal aralıkta midklaviküler hat boyunca kostal arka kadar uzanan vücudun en büyük solid organıdır. Ortalama 16 cm yüksekliğinde, 14 cm genişliğindedir ve ağırlığı ortalama 1300-1700 g arasında değişmektedir. Göreceli olarak yumuşak bir organ olup komşu organlar tarafından şekillendirilir (21). Karaciğerin konveks olan yüzü diyafragma komşu olup, konkav olan yüzü ise iç organlarla komşudur. Karaciğer inferiorunda sağ böbrek, duodenum, sağ sürrenal bez, transvers kolonla, medialde ise mide ve özofagusla komşuluk yapmaktadır. Karaciğer üst yüzü ise diyafragma ile sınırlıdır. Tüm karaciğer ince bağ dokusundan oluşan Glisson kapsülü ile sarılıdır. Bu kapsül düzenli sıralanmış tip I, daha az oranda tip III kollogen lifler, fibroblastlar ve küçük kan damarlarından oluşmuştur. Karaciğeri örten Glisson kapsülü iki yaprak halinde anterior ve posterior koronar ligamentler olarak diyafragma yapışır. Bu ligamentler sağda ve solda triangüler ligamentleri oluşturur, önde birleşerek de falsiform ligamenti oluştururlar. Falsiform ligament karaciğeri karın ön duvarına bağlar (22-24). Laparotomi esnasında karaciğer ön yüzü falsiform ligaman tarafından iki parçaya ya da loba ayrıldığı görülür. Karaciğer sağ lobu önemli ölçüde sol lobdan büyüktür. Sağ lobun üst yüzeyi diyafram altında anterior kenarı safra kesesi yatağının anterioru tarafından ikiye bölünür. Kuadrat lob, sağ lobun alt yüzünde hilusun önünde ve safra kesesinin solunda uzanır. Kaudat lob transvers fissürün posteriorunda bulunur (21). Karaciğerin en alt kısmında oblitere olan sol umblikal venin oluşturduğu ligamentum teres hepatis yer alır. Karaciğerle duodenum arasında hepatoduodenal ligaman bulunur ve içinde; lateralde koledok, bunun medialinde hepatik arter ve inferiorunda da vena porta bulunur.

Fonksiyonel anatomi; modern cerrahinin anatomik temelini oluşturan hepatik segmentasyonu tanımlar. Fonksiyonel anatomide ön yüzden görünüş dikkate alınarak saat yönünde kaudat lob 1. segment olmak şartıyla karaciğer sekiz segmente ayrılır. Glisson pedikülü, glisson kapsülün oluşturduğu kılıf içinde safra kanalı, hepatik arter ve portal ven üçlüsünden oluşur.

Sağ, orta ve sol hepatik venin içinde olduğu oluşum portal yarık olarak adlandırılır. Portal yarık karaciğeri Couinaud' un portal sektör dediği dört sektöre ayırır. Her bir sektör birbirinden bağımsız olup glisson pedikülü ve dalları ile sarılmıştır. Orta hepatik venin bulunduğu ana portal oluk ön tarafta safra kesesi yatağının ortasından ve arka tarafta da vena kavanın solundan başlar ve karaciğeri iki eşit parça böler. Buna göre sağ lobda segment 5, 6, 7, 8 ve sol lobda segment 2, 3, 4 vardır (Şekil 2). Kaudat lob ayrı bir segment kabul edilip

segment 1 olarak isimlendirilmektedir (21). Karaciğer intraperitoneal bir organ olup diyafragma komşu olan area nuda kısmı hariç neredeyse tamamı periton ile kaplıdır (25). Diyafragma aracılığı ile akciğer, plevra, fibröz perikardiyum ve kalbin ventriküler bölümünden ayrılır (26,27).

### **Dolaşım**

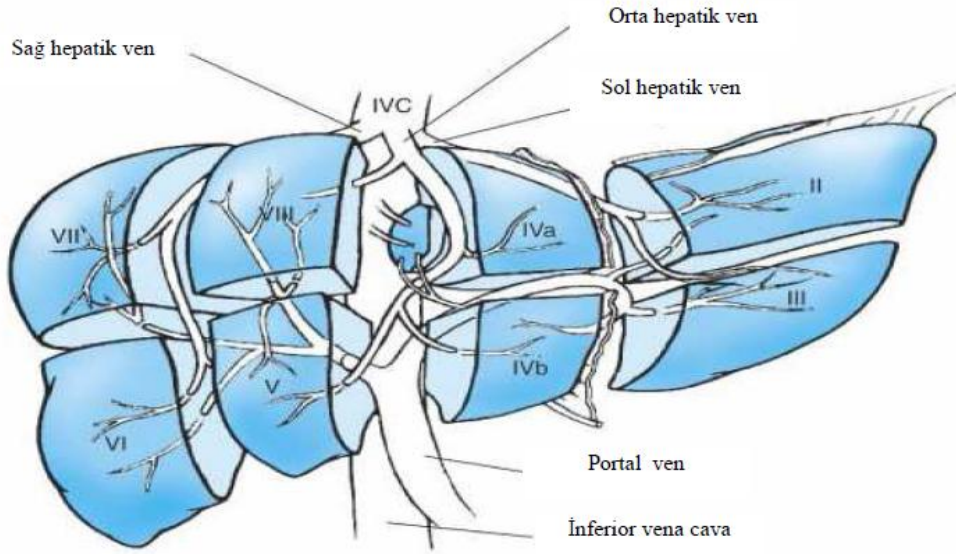
**1-Arteryal dolaşım:** Karaciğer vücutta dolaşan toplam kanın %15' ini içerir (27). Karaciğer bağırsaklardan gelen besin maddelerini metabolize etmek üzere vücudun dolaşım sistemi içinde yerleşmiştir. Karaciğer portal ven ve hepatik arter olmak üzere iki kan damarından beslenir (28). Dakikada karaciğere gelen 1500 ml kanın % 25' i hepatik arterden, % 75' i ise portal venden gelmektedir (29,30). Hepatik arter karaciğer kanlanması %20' sini, oksijenlenmenin ise %50' sini sağlar (31). Çöliak trunkustan çıkan A. hepatica propria, A. hepatica communis' in dalıdır ve omentum minus içerisinde, koledokun solunda, vena portanın önünde seyrederek karaciğere girer (32). Hepatik arter karaciğer pedikülü içinde sağ ve sol dala daha sonra da segmentlerine göre dallara ayrılarak interlobüler arterleri oluşturur. Bu arterlerden bazıları portal yapıya akarken, bazıları da portal alanlardan farklı uzaklıklarda sinüzoidler içinde direkt olarak sonlanan arteriyollerini oluşturur. Bu sayede sinüzoidler içinde arteriyel ve portal venöz kan karışır (17,22).

**2-Venöz dolaşım:** Karaciğerin venöz drenajı üç major hepatik venle sağlanır. Sol hepatik ven 2. ve 3. segmentlerin kanını alır, orta hepatik venle birleşmek üzere yukarı yönde parankim içinde oldukça yüzeysel bir durumda seyreder. Sağ lobun kanı ise; sağ hepatik ven ile inferior vena kavaya boşalır. İnsanların %50' sinde 3. ve 4. segmentten kan alıp sol hepatik vene getiren ve “umbilikal fissür veni” adı verilen bir ven daha vardır. Bu ven orta hepatik venin bağlandığı fakat 4. segmentin rezeke edilmediği durumlarda bu segmentin drenajını sağlar (22,23,33). Orta hepatik ven genellikle sol hepatik venle birleşip tek trunkus halinde inferior vena kavaya açılır. Ayrıca, %25 oranında sağ karaciğerden doğrudan inferior vena kavaya ulaşan hepatik venler vardır. İzole segment rezeksiyonlarında bu hepatik venlerin varlığı rezeksiyonu kolaylaştırır (33,34).

**3-Portal dolaşım:** Splenik ven ve süperior mezenterik ven, pankreas boynu hizasında birleşirler ve inferior mezenterik veninde bu venlere katılmasıyla portal ven oluşur. Portal ven duodenum birinci kısmın arkasından hepatoduodenal ligaman içinde karaciğer ulaşır. Portal ven karaciğer hilusuna gelmeden sol gastrik ven ve bazı küçük dalları katılır. Portal ven dalları karaciğer içinde segmentlere göre dağılım gösterir (35,36). Portal ven dallanarak portal

triadlara portal venüller verir. Bazen interlobüler dallar olarak da isimlendirilen portal venüller lobülün periferinde seyreden dağıtıcı venleri oluştururlar. Dağıtıcı venlerden çıkan küçük giriş venülleri sinüzoidlere açılır. Sinüzoidler lobülün merkezinde santral veni oluşturmak üzere birleşirler. Santral ven, lobül boyunca ilerledikçe daha fazla sinüzoid alır ve çapı giderek artar. Sonunda lobülü terk eder ve daha büyük olan sublobüler ven ile birleşir. Sublobüler venler giderek birbirine yaklaşır ve kaynaşır. Böylece iki ya da daha fazla sayıdaki büyük hepatik venler oluşur. Bu venler de vena kava inferiora açılır (10,22,37). Portal ven akımı, karaciğer kanlanmasının %80' ini, oksijenlenmesinin ise %50' sini sağlar ve gastrointestinal emilim sonrası emilen sıvıları karaciğer kapillerine doğru taşır (28,31).

Karaciğer hem sempatik hem de parasempatik sinirlerle uyarılır. Karaciğerin innervasyonu medulla spinalisin T9 ve L1 segmentlerinden gelen sempatik liflerle ve vagus sinirinden gelen parasempatik liflerle olur. Porta hepatis bölgesinden portal kanallar yoluyla karaciğer içersinde ilerler. Sempatik lifler kan damarlarını, parasempatik lifler de duvarında düz kas içeren büyük safra kanallarını uyarırlar (22,30,38,39).



**Şekil 2. Karaciğerin anatomisi (40)**

### **Fizyoloji**

Karaciğer fonksiyonlarını özetleyecek olursak; bağırsaklardan gelen sindirilen proteinlerin, karbonhidratların ve lipidlerin metabolize edilmesi, kan pıhtılaşmasında rol oynayan proteinlerin sentezi, yağ asitlerinin oksidasyonu, kolesterol, fosfolipit, lipoprotein sentezi, glikojenez, glikojen depolama, plazma proteinlerinin sentezi, amonyağın

temizlenerek üre oluşumu, birçok hormonun yıkım ve atılımı, safra üretimi, vitamin deposu olmak üzere birçok hayati fonksiyonun gerçekleştirildiği eşsiz bir organdır.

**1- Karbonhidrat metabolizması:** Karbonhidrat metabolizmasında karaciğerin çok önemli düzenleyici işlevi bulunmaktadır. Glikoneogenez ve glikolizde gibi tepkimelerle birlikte birçok kimyasal ürünün oluşması, glikojen depolama, kandaki fazla glikozu glikojen şeklinde depo edilmesi, kandaki normal glikoz konsantrasyonunun devamlılığının sağlanması gibi birçok işlevde düzenleyici görevi üstlenmektedir.

**2- Yağ metabolizması:** Yağ metabolizması kısmen vücudun tüm hücrelerinde yapılırsa da, bu metabolizmanın başlıca işlemleri karaciğerde yapılır. Yağ asitlerinin oksidasyonu, kolesterol, fosfolipit ve lipoprotein sentezi, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezi gibi birçok reaksiyon gerçekleşmektedir.

**3- Protein metabolizması:** Karaciğer hücresi, öncelikle kendi varlığı için gerekli proteinlerin senteziyle beraber çeşitli plazma proteinlerinin de sentezine katılır. Karaciğerin protein metabolizmasındaki görevleri; plazma proteinlerinin sentezi, vücut sıvılarından amonyağın temizlenerek üre oluşumu, aminoasitlerin deaminasyonu ve değişik aminoasitlerin sentez ve birbirine dönüşümüdür. Karaciğerin sentezlediği plazma proteinleri arasında ise bağlayıcı ve taşıyıcı proteinler, hemostaz elemanları, proteaz inhibitörleri, doku inflamasyonunda rol oynayan immünglobülinler ve C-reaktif protein bulunmaktadır. Bu fonksiyonların sadece karaciğer tarafından yürütülmesi ve başka organların bu fonksiyonları geçici veya kalıcı olarak yerine getirememesi, karaciğeri protein metabolizması açısından alternatifsiz tek seçenek olarak yapar (22,41).

**4- Demir metabolizması:** Vücuttaki hemoglobin molekülünde bulunan demirin haricindeki geriye kalan demirin büyük bir kısmı karaciğerde ferritin olarak depo edilmekte olup, ayrıca karaciğer hücrelerin üretilen ve demir ile birleşebilen apoferritin adlı protein de tampon işlevini yürütür (22,41).

**5- Detoksifikasyon fonksiyonu:** Karaciğer başta kalsiyum olmak üzere elektrolitlerin, vücutta salgılanan birçok hormonun (östrojen, kortizol, tiroksin) yıkım ve atılım fonksiyonunu yürütür. Elektrolitlerin, hormonların yanı sıra sefalosporinler ve eritromisin gibi antibiyotikler dâhil çeşitli ilaç grupları da safra yoluyla karaciğerden atılır (27). Karaciğer bu detoksifikasyon fonksiyonunu, oksidasyon, metilasyon, asetilasyon, esterifikasyon ve konjugasyon gibi işlemlerle yapar (41).

**6-Hematolojik fonksiyonlar:** Karaciğer öncelikle kan pıhtılaşmasında rol oynayan proteinlerin çoğunun sentezinde görev alır. Bu arada fibrinojen, protrombin ve V, VII, VIII, IX, X, XI ve XII. faktörlerin sentezi karaciğerde yapılır. Protrombin ile VII, IX ve X' uncu faktörlerin yapımı için K vitamini gereklidir. Karaciğer kandaki plazminojen aktivatörlerini uzaklaştırarak kontrolsüz fibrinolizis olayına da engel olur. Karaciğer bu fibrinolitik faktörlerin yapım ve yıkımından sorumludur (41-43).

**7-İmmünolojik fonksiyonu:** Karaciğer, retiküloendotelyal sistemdeki Kupffer hücreleri aracılığı ile bakterilerin, boya maddelerinin ve diğer artıkların fagositoz yoluyla kandan temizlendikleri büyük bir filtre görevi görür. Karaciğerdeki kupffer hücreleri, retiküloendotelyal sistem hücrelerinin % 60' ını oluşturur (22,43).

**8-Safra salınımı:** Safra üretimi hepatositlerin kan komponentlerini alıp, dönüştürerek safra kanaliküllerine salgılamaları nedeniyle bir anlamda ekzokrin bir fonksiyondur. Safra, yağların sindirim ve emilimde önemli rol oynar (36,41-43).

**9-Vitamin metabolizması:** Karaciğerde başta vitamin A olmak üzere D, E, K ve B12 ana deposudur (41-44).

## **KARACİĞER HASARI**

### **Siroz**

Siroz, karaciğer fibrozisin ilerlemiş en son şeklidir ve geri dönüşümsüzdür (45). Sirozda tip I ve tip III kollajenler, lobülün tüm bölümlerinde birikir. Sirozdaki fazla kollajenin başlıca kaynağı; Disse aralığında bulunan hepatik stellat hücrelerdir (HSH). Bu hücreler normalde yağ ve A vitamini depolamakla görevli iken siroz gelişimi sırasında HSH' ler aktive olarak retinil ester depolarını kaybeder ve miyofibroblast benzeri hücrelere dönüşürler (46). Sirozda hepatosit hasarı, hepatosit rejenerasyonu, iltihabi reaksiyon, bağ dokusu septumlarının oluşması, safra kanalı proliferasyonu ve karaciğer içi damar yatağının distorsiyonu gibi histopatolojik değişiklikler görülebilir (47).

Hepatik fibrozisin ilerleyici ve geri dönüşsüz olduğu düşünülse de, fibrozisinin eskiden bilindiğinin aksine irreversibl olmadığı, ekstraselüler matriks ve skar doku birikiminin statik değil dinamik ve regüle edilebilen bir süreç olduğu anlaşılmıştır (48).

### **İskemi– Reperfüzyon Hasarı**

İskemi–reperfüzyon hasarı cerrahi uygulamalarda operasyon sırasında sık karşılaşılan ve hücre hasarı ile sonuçlanan bir durumdur. Oksijen yokluğunda oksidatif fosforilasyon yapılamaz ve ATP yapımı azalır ve bunun sonucunda hücre enerji gereksinimini anaerobik metabolizma ile sağlar ve sonuç olarak laktik asit yapımı artar ve laktik asidoz gelişir (49,50). İskemik dokuların reperfüzyonu ile hücrede oluşan toksik metabolitler dolaşıma karışır ve sonucunda paradoksal olarak reperfüzyonla ortaya çıkan hasar, iskemik süreçteki hasardan daha fazla olmaktadır (51). Günümüzde elektif şartlarda yapılan karaciğer rezeksiyonlarında, portal triad klempaj süresinin 90 dakikaya kadar uzatılabileceği kabul edilmektedir (52,53).

### **İnflamasyon**

Akut ya da kronik inflamatuvar hücrelerin karaciğer de hepatositlerde oluşturduğu hasara hepatit adı verilir. İnflamasyon sadece lökositlerin giriş bölgesi olan portal bölgede sınırlı olabileceği gibi, tüm parankime de yayılabilir. Hepatositler nekroza uğradığında kupffer hücreleri ölü hücreleri hemen fagosit ederler ve normal parankim içerisinde inflamatuvar hücre gruplarını oluştururlar (54).

### **Dejenerasyon**

Toksik ya da immünolojik nedenlerle meydana gelen hasar, hepatositlerde düzensiz kümelenmiş, büyük berrak boşluklar içeren, sitoplazmalı, ödemli bir görünüm oluşmasına neden olur. Hepatositlerde demir, bakır, atılamayan safra materyali gibi bazı maddeler birikebilir. Biriken bu maddeler hücresel düzeyde ve tüm parankimde nekroza sebep olup doku kaybına neden olur.

### **KARACİĞER TRANSPLANTASYONU**

Günümüze yapılan organlar nakilleri arasında teknik açıdan en güç olanı şüphesiz karaciğer transplantasyonudur. Teknik özelliklerinin yanında karaciğer metabolizmasının oldukça kompleks olması transplantasyon sonrasında önemli sorunlara yol açmaktadır. Tüm bu güçlüklerle rağmen karaciğer transplantasyonu günümüzde başarı ile uygulanabilen altın standart tedavi yöntemidir. Karaciğer transplantasyonunun başarı ile yapılabilirliği şüphesiz immünsüpresyon ve teknikteki gelişmelere bağlıdır (54).

## KARACİĞER REJENERASYONU

Rejenerasyon kaybolan fonksiyonel kitlenin yeniden yerine konulması amacıyla oluşan hücre proliferasyonunun bir sonucu olarak, kalan loblarda kompensatuar bir hiperplazi ve hipertrofisi demektir (55). Karaciğer rejenerasyonu fikrini ilk kez 1833' de Cruveilhier ortaya atmıştır (56). Bilimsel çalışmalar 1900' lü yıllarda Amerikalı Higgins ve Anderson (57) adlı bilim adamları tarafından sıçanlarda eter anestezisi altında subtotal lobektomiyle (%70-80) orta ve sol lobu çıkartmışlardır, %75' lik karaciğer ağırlığının kaybının bir ayda giderildiğini gözlemişlerdir. Normal bir karaciğerin herhangi bir zamanda yapılan kesitlerinde hepatosit popülasyonunun çok seyrek mitoz göstermesi bu durgunluğun bir ifadesidir (58). Deneysel hayvan rezeksiyon modelinde rejenerasyon cevabı karaciğerin 2/3' ü rezeke edildiğinde maksimumdur. Daha küçük miktarda parankim çıkarıldığı zaman restorasyon daha yavaş ilerler, 2/3' ü aşan rezeksiyonlarda DNA sentezi ve mitotik aktivite de bozulma olur, sıçanlarda subtotal (% 90) hepatektomi rejenerasyon olmaksızın ölüme yol açar. Segmental veya lobar rezeksiyonlar ise insanlarda tümör cerrahisinde veya canlı donörlerden transplantasyon amacıyla sıklıkla uygulanmaktadır (59). 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 kalan karaciğer dokusunda bir büyüme görülür ve bu büyüme karaciğer erişkin boyutlarına ulaştığında durur. Hepatik rejenerasyon için kabul gören genel görüş organizmadan çıkan sinyallerin düzenleyici etkisi ile karaciğer optimum boyuta ulaşana kadar devam eden son derece mükemmel organize olmuş bir olaylar zinciridir. Fakat organ morfolojisi parsiyel hepatektomi sonrası orijinal sekline dönmez.

Karaciğerin 2/3' nin kaybindan sonra iki hafta içinde fonksiyonel karaciğer iyileşmesi tamamlanmaktadır. Rejenerasyon cevabı tipik olarak kalan karaciğer dokusunun asiler yapısının proliferasyonuna bağlıdır. Rezeksiyon vakalarında bu sonuç, rezeke edilen lobun restorasyonundan ziyade kalan karaciğer dokusunun hipertrofisine bağlıdır. Parsiyel hepatektomi sonrası geride kalan hepatik segmentler artan portal kan akımı ve basıncının etkisi altında kalmasına rağmen, parsiyel hepatektominin halen hücresel hasarın eşlik etmediği saf 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 (Şekil 3). İlk 10 gün içinde önemli ölçüde rejenerasyon oluşur ve bu olay 4-5 haftada tamamlanır (4). Karaciğer rejenerasyonunda birçok asama olmasına karşın kritik önemi olan iki basamaktan

bahsedilmektedir. Hepatositlerin hücre döngüsüne (siklusuna) girişi ve döngünün G1 fazında ilerlemenin yanı sıra sınırlamanın da başlamasıdır. Bu aşamaların tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin-6 (IL-6) gibi sitokin ailesi tarafından başlatıldığı, hepatosit büyüme faktörü (HGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve transforming büyüme faktörü (TGF) gibi büyüme faktörlerince de kontrol altında tutulduğu düşünülmektedir (54, 60-63).



**Şekil 3. Karaciğer rejenerasyonu (64)**

### **Rejenerasyon ve Hücresel Mekanizmalar**

Karaciğer rezeksiyonu sonrası karaciğer rejenerasyonunda büyümeden sorumlu iki dizi hücre grubu olup bunlar hepatositler ve oval hücreler (prekürsör hücreler) olarak bilinen progenitor (kök) hücrelerdir (65). Oval hücreler rezerv kompartmanı olarak görev yaparken karaciğerde yaralanma veya rezeksiyon durumunda ilk olarak ayrılmış hücreler olan hepatositler devreye girer. Hepatositler karaciğerin kütle olarak %80' ini, hücre sayısı olarak da %60' ını oluştururlar, rejenerasyon sonrası hücre siklusuna en hızlı başlayan hücrelerdir (66,67). Karaciğerde normalde hepatosit replikasyonu yok denecek kadar azdır. Hepatositlerin replikasyon göstermediği sessiz dönemi G0 fazı olarak adlandırılır. Bu dönemde hücreler henüz siklusa girmemiştir. Siklus hepatositlerin hücre siklusuna girdiği G1 fazı, DNA replikasyonunun gerçekleştiği S fazı ve mitozun gerçekleştiği M fazlarından oluşur. Kemirgen hayvanlarda karaciğerin yaklaşık %70' inin çıkarıldığı standart bir parsiyel hepatektomi sonrasında, genç hayvanlarda rejenerasyon boyunca hepatositlerin yaklaşık olarak %95' i bölünür. Yaşlı hayvanlarda ise karaciğer onarımının belirgin olarak daha yavaş olması sebebiyle bu oran yaklaşık % 70' e düşer (68).

Normal şartlarda uykuda olan hepatositler rejeneratif bir uyarı alması durumunda ise çok yüksek bir proliferatif kapasiteye sahiptir. Hepatosit proliferasyonunun inhibe olduğu durumlarda rezerv kompartmandaki oval hücreler aktive olurlar. Akut karaciğer yetmezliği

sonrasında alınan seri biopsilerde bu progenitör hücrelerin hepatositlerin rejenerasyonundan büyük ölçüde sorumlu oldukları gösterilmiştir. Geç dönem sirozlarda kök hücre proliferasyonunun önemi anlaşılamamıştır. Bunlarda hücre fonksiyonlarında bir düzelme görülmediğinden, kök hücre proliferasyonu, muhtemelen hepatositlerin proliferatif kapasitesinin tükenmesinin bir sonucudur ve bu durum malign transformasyon riskini de artırabilir.  $\alpha$ -Fetoprotein, karaciğerde kök hücreler tarafından üretildiğinden, karaciğer yaralanmasında ortaya çıkan serum  $\alpha$ -fetoprotein miktarı karaciğerdeki progenitör hücre proliferasyonunun düzeyini gösterir (69-71).

Karaciğer rejenerasyonunda hepatosit ve kök hücrelerden başka parankim dışı hücreler de önemli rol oynarlar. Hepatositler kadar parankim dışı hücrelerin replikasyon zamanı da göreceli olarak iyi ayarlanmıştır. Hepatositlerin replikasyon pikinden birkaç saat sonra parankim dışı hücrelerin pik replikasyonu gerçekleşir. Fonksiyonel olarak Kupffer hücreleri, endotelial hücreler, stellat hücreleri normal hepatosit proliferasyonunda önemlidir. Çünkü bu hücreler hepatosit replikasyonu için gerekli olan hemen tüm sitokinlerin ve büyüme aktörlerinin kaynağıdır.

### **Karaciğer Rejenerasyonunda Moleküler Mekanizmalar**

Karaciğer rejenerasyonunda devreye giren en az 3 yol belirlenmiştir (72).

**1- Sitokin Yolu:** Bu yol sessiz hepatositlerin hücre siklusuna girişinden sorumludur. (G0 fazından G1 fazına geçiş)

**2- Büyüme Faktörü Yolu:** Hücre siklusunun G1 ve S fazları boyunca ilerlemesini sağlar.

**3- Metabolik Sinyal Yolu:** Ribozom sentezi ve DNA sentezi gerçekleşir.

Rejenerasyon için bu yolların her biri önemli olmasına rağmen hiç biri tek başına yeterli değildir. Rejeneratif büyüme için her bir yolun birbiri ile etkileşimi önemlidir (73). Karaciğer rejenerasyonunun bir takım stimülatör ve inhibitör maddelerin karşılıklı kompleks ilişkileri sonucu regüle edildiği kabul edilmektedir (68).

### **Karaciğer Rejenerasyonunu Rol Oynayan Faktörler**

**1- Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF):** Karaciğer rejenerasyonunun kontrol ve düzenlenmesinde yüksek düzeyde mitojenik etki ile önemli rol oynayan protein yapısında bir büyüme faktörüdür (74,75). HGF mezenkimal hücreler tarafından üretilir ve hepatositler üzerine endokrin ve parakrin etki gösterir. HGF, parsiyel hepatektomi yapılan, kimyasal hasarlı ve akut hepatitli sıçanlarda daha fazla hasarın oluşmasına engel olmak için karaciğer

rejenerasyonunu uyarır (76,77). Hepatektomiye takiben 5 dakika içinde ürokinaz aktive olur ve plazminojenin plazmine dönüşümünde rol alır. Plazmin matriks yıkıcı metaloproteinazları uyarır. Matriks yıkımı sonucu HGF salgılanır (74). Ratlarda hepatektomi sonrası bir saat içinde plazma HGF konsantrasyonu 20 katına çıkar (78). İnsanlarda karaciğer rezeksiyonunu takiben 1. ile 3. günler arasında plazma HGF seviyesi maksimuma ulaşır (79). %30 parsiyel hepatektomi yapılmış hayvanlarda, karaciğere infüzyon ile çok az miktarlarda HGF ve TGF  $\alpha$  verildiğinde DNA sentezinde büyük artışlar olmaktadır. Fakat aynı uygulama hiç hasara uğratılmamış karaciğerde bu sonuca neden olmaz (74,80-83).

**2- TNF-  $\alpha$  :** TNF hepatositler için direkt mitojen değildir. HGF gibi direkt mitojenlerin mitojenik etkilerini artırır. Hepatektomi sonrası TNF -  $\alpha$  plazma düzeyleri artar (84-86).

**3- IL-6:** Salgılanmasında major etkiyi IL-1 ve TNF $\alpha$  sağlar, IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından baskılanır (87,88). Sıçanlarda parsiyel hepatektomiden sonraki 24-48. saatler arasında IL-6' nın serum konsantrasyon seviyesi artar (89). IL-6 sitokininin hepatosit büyümesi üzerine etkisi otokrin mekanizma ile olabilir. Ayrıca IL-6' nın karaciğeri toksik hasarlardan korumada da önemli rolü vardır.

**4- Epidermal büyüme faktörü (EGF):** Hepatositlerde DNA sentezini uyardığı belirlenen ilk faktördür (90). Hepatosit kültürlerinde mitojen etkisi kanıtlanmıştır (91).

**5- Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa (TGF-  $\alpha$  ):** Karaciğer rejenerasyonunun başlangıç safhasından sonra rol oynadığı düşünülmektedir. EGF ile aynı reseptör üzerine etki eder. Hepatosit kültürlerinde DNA sentezini arttırmaktadır (92).

**6- Norepinefrin:**  $\alpha$ 1-adrenerjik reseptörler yoluyla direkt EGF' yi arttırarak indirekt yoldan karaciğer rejenerasyonunu artırır. Sempatik innervasyon ve  $\alpha$ 1 reseptör blokajı DNA sentezini azaltmaktadır (6).

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

**8- Hepatosit Uyarıcı Madde:** 53 kilodalton ağırlığında bir proteindir. İn vitro ve in vivo olarak hepatotrofik etkisi vardır (93).

**9- Seks Hormonları:** Hepatektomi sonrası hepatositlerde östrojen reseptörleri artarken androjen reseptörleri azalmaktadır. Östrojenin hücre kültürlerinde hepatosit bölünmesini artırıcı etkisi vardır, tamoksifenin ise karaciğer rejenerasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Buna karşın antiandrojenlerin belirgin bir etkisi gösterilememiştir (94,95).

**10- GM-CSF:** Granülosit makrofaj koloni stimulan faktör' ün (GM-CSF), deneysel çalışmalarda hepatik rejenerasyonu arttırdığı, kupffer hücrelerinin diferansiyasyon ve proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (96).

**11- TGF- $\beta$ 1:** Bilinen en önemli rejenerasyon inhibitörüdür. İto hücreleri tarafından hepatektomi sonrası erken dönemde salgılanır. Rejenerasyon devam ettiği sürece  $\alpha$ 2 makroglobuline bağlı inaktif formdadır, zamanı geldiğinde rejenerasyonu sonlandırır, bu zamanlamayı etkileyen faktörler bilinmemektedir.

**12- Diğerleri:** Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) , triiyodotironin (T3), Fibroblast büyüme faktör(FGF), retinoik asit, bazı ilaçlar(barbitüratlar, diazepam, hipolipidemik ajanlar, antiepileptik ajanlar), büyüme hormonu, PGE2, siklosporin, FK506, vazopressin gibi faktörlerin karaciğer rejenerasyonuna olumlu katkıları olduğu bildirilmektedir (97-99).

### **TUNEL ve Prolifere Hücre Nükleer Antijeni**

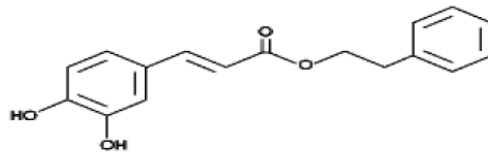
Apoptotik hücre fraksiyonları, ilk kez Gavrieli ve ark. tarafından tanımlanan TUNEL yöntemi ile gösterilebilir. Yapılan işlem yalnızca apoptotik çekirdekler boyanır. Yöntem Tdt' ın “polydeoxynucleotide” polimerinin sentezini takiben DNA' nın 3'-OH uçlarına özgün olarak bağlanması üzerine dayanır. Kesitlerdeki çekirdek DNA' sı önce proteolitik bir işleme tabi tutulur ve terminal Tdt, DNA kırılmalarının olduğu alanlarda biotinli deoksiüridini birleştirmek için kullanılır (100,101). Serbest olarak bulunan nükleotidler digoksisigeninin-konjugat eklenmesiyle bir oligomer oluştururlar. Daha sonra digoksisigenin ile konjuge olan nükleotidler peroksidaz reaksiyonu verebilen anti-digoksisigenin antikoru ile bağlanması sağlanır. Böylece bağlanmış peroksidaz antikoru, immunositokimya da hassas görünüm sağlayan kromojenik substratlarla bağlanması sağlanır. Sonuç olarak apoptotik cisimciklerde çok yüksek oranda bulunan 3'-OH uçlarının hassas ve spesifik boyanması sağlanır (101).

Prolifere hücre nükleer antijeni, ilk kez 1986 yılında Bravo (102) tarafından bulunmuş ve siklin olarak adlandırılmıştır. Geni 20. kromozomda yerleşiktir. Bu protein hem bitkilerde hem hayvanlarda bulunur. Hücrelerde başlıca DNA replikasyonu veya sentezi olan yerlerde bulunur (103). Genomik DNA replikasyonu, rekombinasyonu, tamiri ve DNA polimeraz gama için gerekli hücre proliferasyonunun başlamasında önemli rolü olan 36 kilodalton ağırlığında temel bir proteindir (104,105). PCNA boyanan hücreler normal karaciğer dokusunda oldukça az sayıda iken, rejenere olan karaciğer dokusunda artar (106). Hücre siklusunun G1 fazında sentezlenmeye başlayan PCNA, S fazında en yüksek seviyesine ulaşır.

G2 ve mitoz evresinde ise PCNA miktarı düşer. G1 evresinden S evresine geçen hücrelerde PCNA ekspresyonu çekirdekte belirlenerek bir hücrenin mitotik aktivitesi izlenebilir (102). Normal karaciğerde PCNA antikoru ile immünohistokimyasal inceleme sonrası önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejenere olan karaciğerde 24. ve 48. saatlerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanmaktadır. Selzner ve Clavien (107) sıçanlarda hepatektomi sonrası PCNA oranını 24. saatte % 23, 48. saatte ise % 25 olarak bildirmişlerdir.

### CAPE

Antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik, immünmodülatuvar özellikleri bulunan flavonoid benzeri yapıda bal arısının ürettiği propolis maddesinin aktif bir bileşenidir (108). Diğer propolis bileşenlerine göre arşidonik asit kaskadını güçlü şekilde modüle ettiğinden antiinflamatuvar etkisi daha belirgindir (109). CAPE' nin iki halkasal yapısı vardır. Bu halkalardan biri fonksiyonel iki hidroksil (OH-) grubu taşır (Şekil 4). Bu hidroksil grupları, elektronları aktif bir şekilde alıp verir ve bu sayede oksitleyici ve redükleyici özellik gösterir. Aromatik ve alifatik yapıda çok uzun karbon grupları taşımasına bağlı olarak lipofilik özelliğe sahiptir (110,111). İnsan vücudundaki normal hücrelere karşı bilinen hiçbir zararlı etkisi bulunmamaktadır. CAPE intraperitoneal uygulandığı zaman yeterli kan konsantrasyonuna ulaşmaktadır. CAPE, kafeik asit ve fenetil alkol üzerinden asit ile esterifikasyon ile kimyasal olarak da üretilmektedir. CAPE, 10 mikromol/kg konsantrasyonda ksantin- ksantin oksidaz sistemini ve reaktif serbest onbeş oksijen radikali oluşumunu bloke etmektedir (110). CAPE, antioksidan özelliğini zincirinde bulunan iki hidroksil grubu ile sağlamaktadır.



**Şekil 4. Kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) kimyasal yapısı (112)**

### Kafeik Asit Fenetil Esterinin Antioksidan Etkisi

Kafeik Asit Fenetil Ester, linoleik asit ve arşidonik asidin 5'-lipooksijenaz enzimi tarafından oluşturulan oksijenasyonunu inhibe eder. Gökalp ve arkadaşları izoniazid ile ratların eritrositlerinde oksidatif hasar oluşturarak CAPE' nin bu hasarı önlemede ki etkinliğini araştırmışlardır. Ratların eritrositlerinde Malondialdehit (MDA) seviyeleri, Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim

aktivitelerini incelemişlerdir. İzoniazid grubunda eritrositlerde MDA seviyesinin kontrol grubuna göre artmış olduğunu bulmuşlardır. İzoniazid + CAPE grubunda ise MDA seviyesinin kontrol grubuyla benzer olduğunu görmüşlerdir. Yazarlar SOD enzim aktivitesini izoniazid grubunda anlamlı artmış bulmuşlardır. İzoniazid + CAPE grubunda ise SOD enzim aktivitesinde artış olmamasını, CAPE' nin ksantin oksidaz enzimi inhibisyonu yolu ile serbest oksijen radikallerin temizlemesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin izoniazid grubunda azalmış olarak tespit edilmesinin artmış oksidatif stresi desteklediğini savunmuşlardır. İzoniazid+ CAPE grubunda GSH-Px seviyesinin izoniazid grubundan yüksek tespit edilmesini CAPE' nin antioksidan enzim sistemi üzerine regülatör etkisine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Yazarlar izoniazid ile ratların eritrositlerinde oluşan oksidatif hasarı CAPE' nin önleyebileceğini savunmuşlardır (113).

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek 1) 30.03.2012 tarihinde onay alınmış ve çalışmamız Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na (proje: 2012-163) desteklenmiştir.

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip Wistar Albino türü, 40 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları ( $22\pm1$  °C, 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina®) beslendi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı.

Deneyde toplam 5 grup oluşturuldu;

### **Grup 1**

Kontrol grubu olarak planlanmıştır. Deneklere, sham laparotomiden 3 gün önce başlamak kaydıyla, deney süresince (sacrifiye edilene kadar), intraperitoneal, günde 1 kez, 1 cc Serum Fizyolojik (SF) uygulandı. Sham laparotomi sonrası 3. gün denekler sacrifiye edilerek, inceleme için tüm karaciğer dokuları alındı.

### **Grup 2**

Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + SF grubu olarak planlanmıştır. Deneklere, laparotomiden 3 gün önce başlamak kaydıyla, deney süresince (sacrifiye edilene kadar), intraperitoneal, günde 1 kez, 1 cc SF uygulandı. Laparotomi yapılarak parsiyel hepatektomi

modelinde belirtildiği gibi rezeksiyon uygulandı. Rezeksiyon sonrası 1. gün denekler sakrifiye edilerek, inceleme için tüm karaciğer dokuları alındı.

### **Grup 3**

Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + SF grubu olarak planlanmıştır. Deneklere, laparotomiden 3 gün önce başlamak kaydıyla, deney süresince (sacrifiye edilene kadar), intraperitoneal, günde 1 kez, 1 cc SF uygulandı. Laparotomi yapılarak parsiyel hepatektomi modelinde belirtildiği gibi rezeksiyon uygulandı. Rezeksiyon sonrası 3. gün denekler sakrifiye edilerek, inceleme için tüm karaciğer dokuları alındı.

### **Grup 4**

Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + CAPE grubu olarak planlanmıştır. Deneklere, laparotomiden 3 gün önce başlamak kaydıyla, deney süresince (sacrifiye edilene kadar), intraperitoneal, günde 1 kez, 10 µmol/kg CAPE uygulandı. Laparotomi yapılarak parsiyel hepatektomi modelinde belirtildiği gibi rezeksiyon uygulandı. Rezeksiyon sonrası 1. gün denekler sakrifiye edilerek, inceleme için tüm karaciğer dokuları alındı.

### **Grup 5**

Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + CAPE grubu olarak planlanmıştır. Deneklere, laparotomiden 3 gün önce başlamak kaydıyla, deney süresince (sacrifiye edilene kadar), intraperitoneal, günde 1 kez, 10 µmol/kg CAPE uygulandı. Laparotomi yapılarak parsiyel hepatektomi modelinde belirtildiği gibi rezeksiyon uygulandı. Rezeksiyon sonrası 3. gün denekler sakrifiye edilerek, inceleme için tüm karaciğer dokuları alındı.

## **HEPATİK REZEKSİYON YÖNTEMİ**

Sıçanlara; laparotomi öncesi, 25 mg/kg/intramuskuler ketamin (Ketalar®, 10ml, 50 mg/ml, Pfizer, ABD), 5 mg/kg/intramuskuler xylazine (Rompun® 50ml, 20 mg/ml, Bayer, Almanya) ile genel anestezi uygulandı. Povidone iodine ile cerrahi alan temizliği yapıldıktan sonra üst orta hat insizyonu yapıldı (Şekil 5,6). Karaciğerin sol lateral ve median lob pedikülleri 4/0 ipekle bağlanarak Higgins ve Anderson (57) tarafından tanımlandığı şekilde %70 parsiyel hepatektomi gerçekleştirildi. Cerrahi işlem sonrasında fasya 3/0 vikril, cilt 3/0 prolenle kapatıldı. İşlem sonrası 24. saatten itibaren oral su ve diyet alımına izin verildi.



**Şekil 5. Karaciğer sol lob ligasyonu**



**Şekil 6. Karaciğer rezeksiyonu**

### **DENEY DÜZENİ**

Her grupta 8 denek olacak şekilde 5 gruba oluşturuldu.

|        |                                       |       |
|--------|---------------------------------------|-------|
| Grup 1 | : Kontrol grubu                       | (n=8) |
| Grup 2 | : Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + SF   | (n=8) |
| Grup 3 | : Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + SF   | (n=8) |
| Grup 4 | : Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + CAPE | (n=8) |
| Grup 5 | : Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + CAPE | (n=8) |

Alınan karaciğer örnekleri ışık mikroskop ve immünohistokimyasal inceleme için Bouin fiksatifinde (75 cc pikrik asit + 25 cc formalin + 5 cc Asetik asit) tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

## HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER

### Proliferasyon İndeks (PI)

Bouin fiksatifinde 4 gün fikse edildikten sonra karaciğer dokusu rutin doku takibinden sonra parafin de bloklandı ve immünohistokimyasal boyalardan PCNA ile boyanarak incelendi. Proliferasyon indeks; 30 büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı. Daha sonra her 1000 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

$$\text{Proliferasyon indeks (PI)} = (\text{PCNA boyanmış hücre sayısı}) / (\text{toplam hücre sayısı}) \times 100$$

### Apoptotik İndeks (AI)

Bouin fiksatoründe 4 gün fikse edildikten sonra karaciğer dokusu rutin doku takibinden sonra parafin de bloklandı ve apoptozis markeri olan TUNEL kiti ile boyanarak incelendi. Apoptotik indeks; 30 büyük büyütme sahasındaki TUNEL ile boyanmış hücre sayısı ve total hepatosit sayısı hesaplandı. Daha sonra her 1000 hücreye oranı şeklinde tanımlandı.

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

## IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için karaciğer dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işlemlendirildi. Bu amaçla karaciğer dokuları Bouin fiksatifinde dört gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular iki gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyona hazırlandı. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) birer saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular üç kez onbeşer dakika toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde bir gece tutuldu. Bir sonraki gün karaciğer dokuları yumuşak parafinden alınarak bir saat sıvı sert parafinde tutularak bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Karaciğerdeki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler hemotoksilen eozinle (HE) ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

## **İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME**

İmmünohistokimyasal inceleme için karaciğer dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında yirmi dakika kaynatıldı. Oda ısısında yirmi dakika soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler fosfat buffer solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Häen 24229) hazırlanan %3' lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile yirmi dakika muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS (ph: 7,6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere % 1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile bir saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikor, mouse monoclonal anti-PCNA antibody (MS-106-B, Thermo LabVision, USA) idi. Kesitler üç kez PBS ile yıkama sonrasında yirmi dakika sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS' de yıkanan kesitlere yirmi dakika streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere üç kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9 etil karbazol kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra beş dakika Mayer hematoksilin uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda beş dakika yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı.

Proliferasyon indeksi; 30 büyük büyütme sahasındaki PCNA ile boyanmış hücre sayısı ile total hepatosit sayısı hesaplanarak her 1000 hücreye oranı şeklinde tanımlandı. Her µm<sup>2</sup> deki ortalama PCNA pozitif hücre sayısı tespit edildi.

## **TUNEL BOYAMA**

Parafin bloklardan lam üzerine alınan 5 µm' lik kesitler bir gece 37 °C' lik etüvde tutulduktan sonra toluolde üç kez beş dakika bekletilerek parafinden iyice arındırılarak azalan alkol serilerinden (%100, %95, %70) üçer dakika geçirilip distile suya indirildi. Beş dakika distile suda tutulan kesitlere daha sonra antijen iyileştirme amacıyla onbeş dakika oda ısısında proteinaz K (20 µg/ml, Chemicon, 21627) uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitler endojen peroksidazı bloklamak için metanolde hazırlanan %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' de beş dakika bekletildi. Distile su ve PBS ile çalkalandıktan sonra lam üzerinde kesitlerin etrafı hidrofobik kalem (Zymed, 00-8899) ile çizilerek havuz oluşturuldu ve kesitlere beş dakika oda ısısında

dengeleme tamponu uygulandı. Daha sonra kesitler 37 °C' de terminal deoksinükleotidil transferaz enziminde bir saat bekletildikten sonra durdurma/yıkama tamponuyla onbeş saniye çalkalandı ve oda ısısında on dakika bekletildi. Üç kez PBS' de yıkanan kesitlere anti digoksinin konjugatı uygulandı ve oda ısısında otuz dakika tutuldu. Kesitlere üç kez PBS ile yıkama sonrasında on dakika diaminobenzen kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra on dakika metil green uygulanarak zıt boyama yapıldı. Distile sudan hızla geçirilen kesitler %100 N-Butanolden de hızla geçirildi. Dehidrate edilen kesitler üç kez ikişer dakika toluolde tutulduktan sonra kapatma solüsyonu konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı.

### **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Çalışmaya alınan gruplara ait sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında Anova testi kullanılmış olup, gruplar arasındaki anlamlı farklılık saptanması durumunda iki gruba ait değişkenlerin karşılaştırılmasında post-Tukey testi kullanıldı.  $p < 0,05$  olması durumunda, fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm analizler Sosyal Bilimler için istatistik paketi kullanılarak yapıldı (SPSS 15.0, Chicago, IL). Ayrıca tüm gruplarda hepatosit vakuolizasyonu ve sinüzoidal dilatasyon sayıları semikantitatif olarak saptandı. Semikantitatif değerlendirme, şu şekilde yapıldı; yok (-), nadir (+), az (++) , belirgin (+++), yaygın (++++).

## BULGULAR

### İŞIK MİKROSKOPİK BULGULAR

Tüm çalışma grupların HE boyalı karaciğer dokusu kesitleri ışık mikroskobu altında incelendi. Tüm gruplarda ortak özellik olarak parankim hücreleri olan hepatositlerin santral venler etrafında düzenli şekilde yerleşerek hepatosit kordonlarını oluşturduğu, hepatik lobüllerin etrafında yer alan portal alanlarda ise portal vene ait dal, arteriyol ve safra kanalının olduğu gözlemlendi.

Tüm doku kesitlerinde hepatik vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyon, aynı Histoloji ve Embriyoloji uzmanı tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi ve skorlandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 1’ de gösterilmiştir.

**Tablo 1. Kontrol ve çalışma gruplarında hepatosit vakuolizasyonu ve sinüzoidal dilatasyonun semikantitatif değerlendirilmesi**

| Grup                        | Grup 1<br>(Kontrol) | Grup 2<br>(SF 1) | Grup 3<br>(SF 3) | Grup 4<br>(CAPE 1) | Grup 5<br>(CAPE 3) |
|-----------------------------|---------------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| Hepatosit<br>vakuolizasyonu | -                   | ++++             | +++              | +++                | ++                 |
| Sinüzoidal<br>dilatasyon    | -                   | +++              | +                | ++++               | ++                 |

**SF 1:** Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + SF grubu; **SF 3:** Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + SF grubu; **CAPE 1:** Karaciğer rezeksiyonu 1. gün + CAPE grubu; **CAPE 3:** Karaciğer rezeksiyonu 3. gün + CAPE grubu

Kontrol grubunda; hepatik vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyon izlenmedi (Şekil 7).

Grup 2' de; santral ven çevresinde yaygın (dört pozitif) hepatik vakuolizasyon ve belirgin (üç pozitif) sinüzoidal dilatasyon izlendi (Şekil 8).

Grup 3' de; santral ven çevresinde belirgin (üç pozitif) hepatik vakuolizasyon ve nadir (bir pozitif) sinüzoidal dilatasyon izlendi (Şekil 9).

Grup 4' de; santral ven çevresinde belirgin (üç pozitif) hepatik vakuolizasyon ve yaygın (dört pozitif) sinüzoidal dilatasyon izlendi (Şekil 10).

Grup 5' de; santral ven çevresinde az sayıda (iki pozitif) hepatik vakuolizasyon ve az sayıda (iki pozitif) sinüzoidal dilatasyon izlendi (Şekil 11).

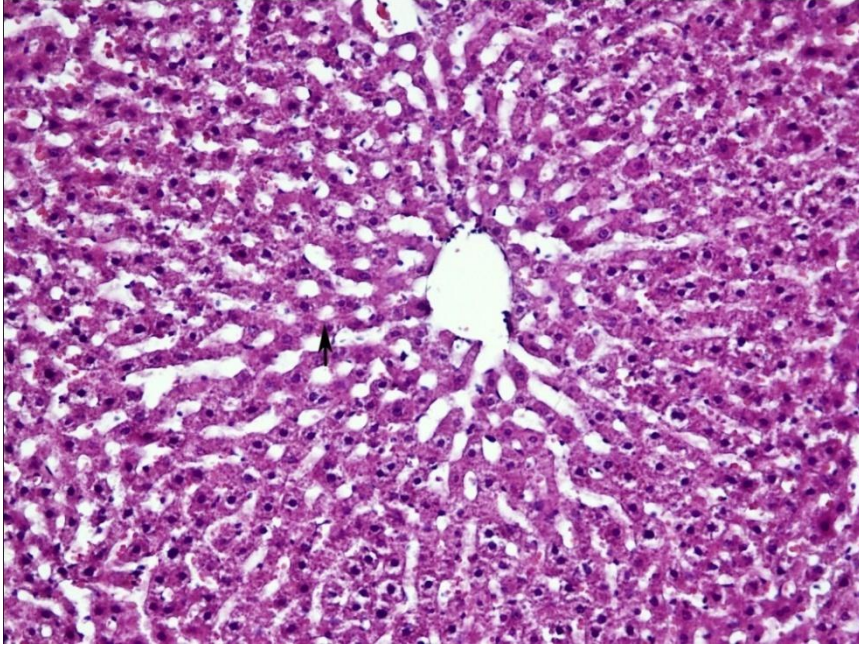
Kontrol grubu karaciğerine rezeksiyon yapılmadığı için parsiyel hepatik rezeksiyon yapılan çalışma gruplarında görülen hepatik vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyon izlenmedi.

Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana SF verilen gruplar (Grup 2 ve 3) kendi içlerinde değerlendirildiğinde; Grup 2' de hepatik vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyonun Grup 3' e göre daha fazla olduğu görüldü.

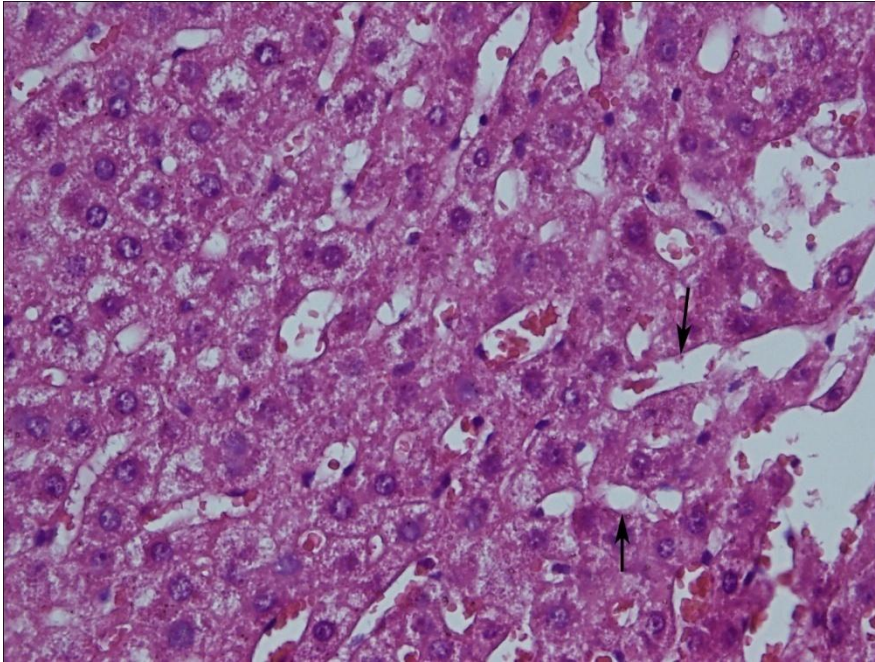
Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana CAPE verilen gruplar (Grup 4 ve 5) kendi içlerinde değerlendirildiğinde; Grup 4' de hepatik vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyonun Grup 5' e göre daha belirgin olduğu görüldü.

Hepatik rezeksiyon yapıp 1. gün karaciğer dokuları alınan SF ve CAPE grupları (Grup 2 ve 4) birbirleriyle karşılaştırıldığında; hepatik vakuolizasyonun SF verilen grupta (Grup 2) daha belirgin olduğu, sinüzoidal dilatasyonun ise CAPE grubunda (Grup 4) daha belirgin olduğu görüldü.

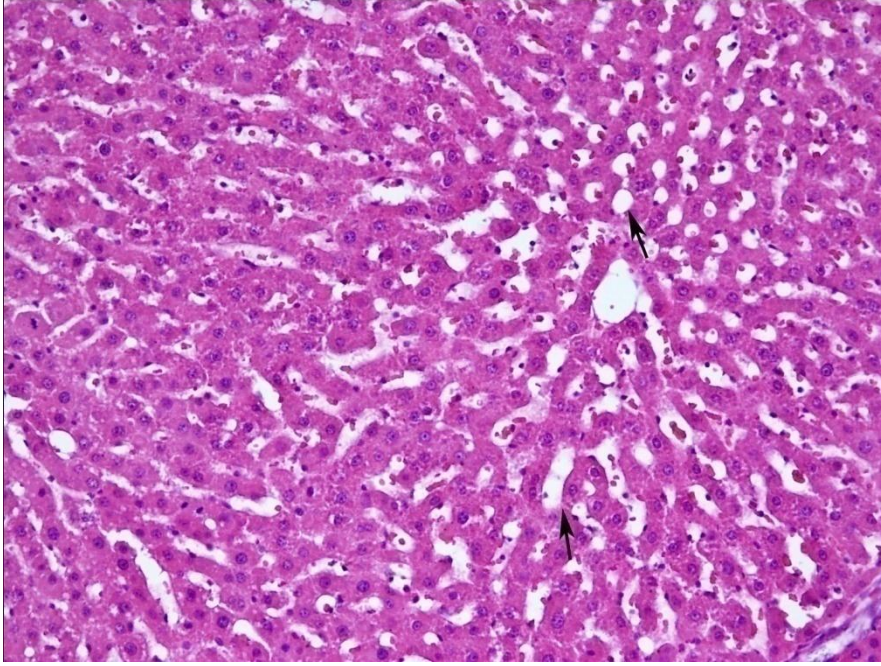
Hepatik rezeksiyon yapıp 3. gün karaciğer dokuları alınan SF ve CAPE grupları (Grup 3 ve 5) birbirleriyle karşılaştırıldığında; hepatik vakuolizasyonun SF verilen grupta (Grup 3) daha belirgin olduğu, sinüzoidal dilatasyonun ise CAPE grubunda (Grup 5) daha belirgin olduğu görüldü.



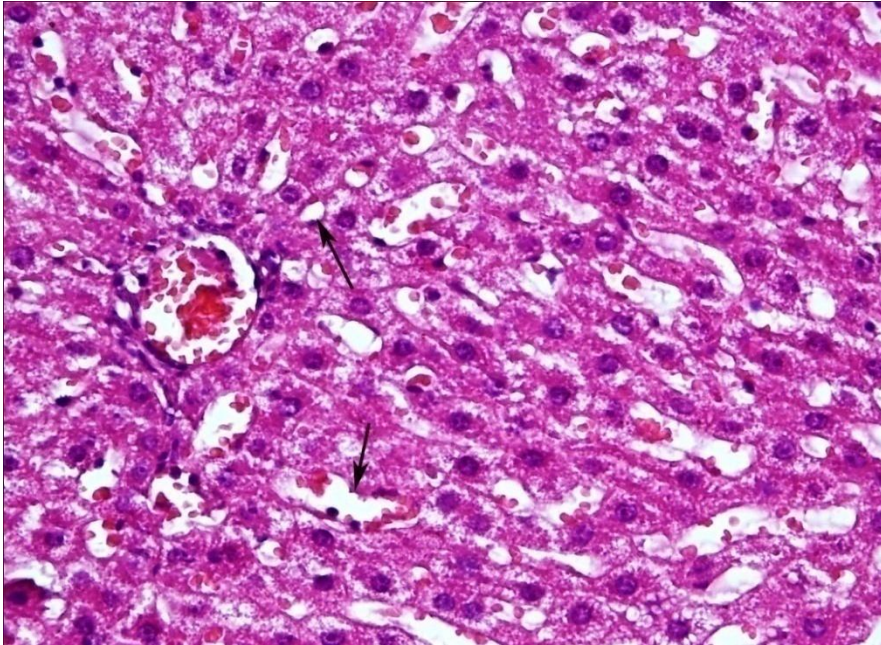
**Şekil 7. 1. Grubun (kontrol) HE boyaması, karaciğerin normal histolojik görünümü ve okla işaretlenmiş hepatosit, X200.**



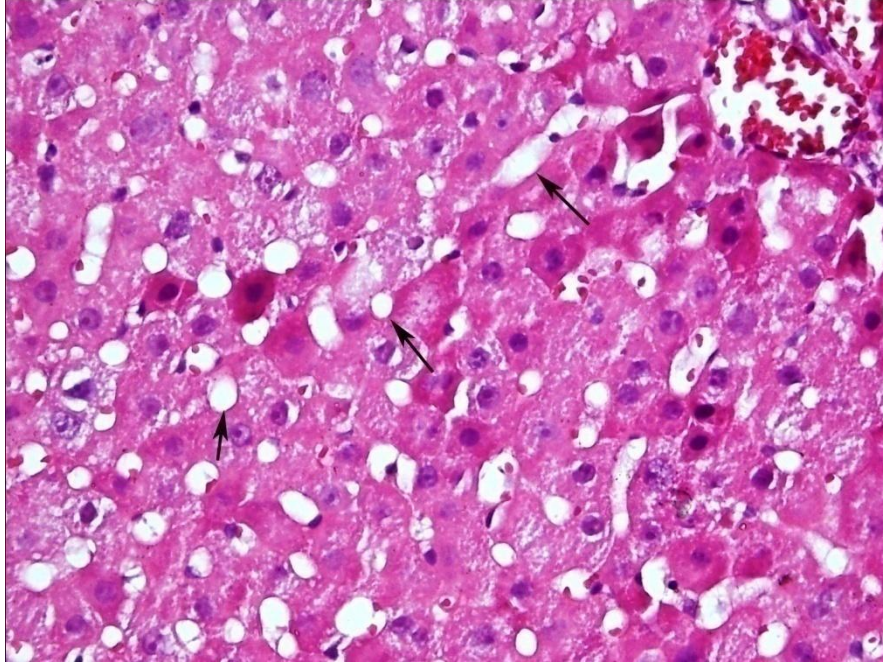
**Şekil 8. 2. Grubun karaciğer kesitine ait HE boyaması. Portal alan çevresinde işaretli vakuolizasyon (alttaki ok) ve sinüzoidal diltasyon (üstteki ok) görülmekte, X400.**



**Şekil 9. 3. Grubun karaciğer kesitine ait HE boyaması. Portal alanlar çevresinde yaygın vakuolizasyon (üstteki ok) ve nadir sinüzoidal dilatasyon (alttaki ok) görülmekte, X400.**



**Şekil 10. 4. Grubun karaciğer kesitine ait HE boyaması. Portal alanlar çevresinde belirgin vakuolizasyon (üstteki ok) ve yaygın sinüzoidal dilatasyon (alttaki ok) görülmekte, X400.**



**Şekil 11. 5. Grubun karaciğer kesitine ait HE boyaması. Portal alanlar çevresinde vakuolizasyon (üstteki ok) ve sinüzoidal dilatasyon (alttaki ok) görülmekte, X400.**

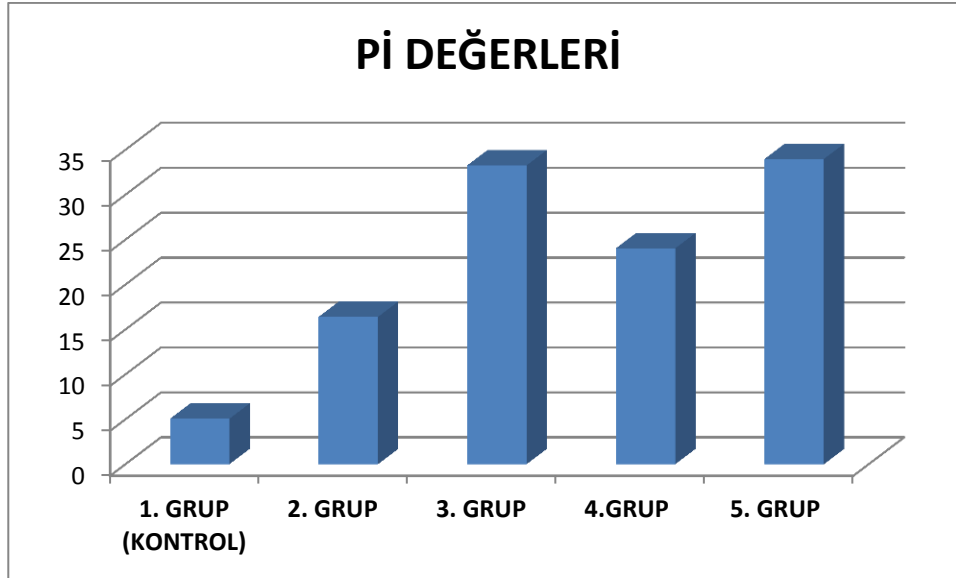
## İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Kontrol ve çalışma gruplarında PCNA ile boyanan hücrelerin değerlendirilmesi sonucu hesaplanan ortalama Pİ değerleri Tablo 2’ de ve Şekil 12’ de sunulmuştur.

**Tablo 2. Kontrol ve çalışma grupların proliferatif hücre nükleer antijeni ile boyanan hücrelerin sonuçlarının değerlendirilmesi**

| Pİ değeri                   | X ± SS       |
|-----------------------------|--------------|
| <b>Grup 1<br/>(Kontrol)</b> | 5,06 ± 4,66  |
| <b>Grup 2</b>               | 16,40 ± 4,63 |
| <b>Grup 3</b>               | 33,26 ± 4,50 |
| <b>Grup 4</b>               | 24,03 ± 5,74 |
| <b>Grup 5</b>               | 33,98 ± 9,17 |

Pİ: Proliferasyon indeksi



**Pİ:** Proliferasyon indeksi

**Şekil 12. Kontrol ve çalışma gruplarının ve çalışma grupların proliferere hücre nükleer antijeni ile boyanan hücrelerin proliferasyon indeksi sonuçları**

Kontrol grubunun ortalama Pİ değeri ve standart sapması;  $5,06 \pm 4,66$ , Grup 2' nin Pİ değeri;  $16,40 \pm 4,63$ , Grup 3' ün ortalama Pİ değeri ve standart sapması;  $33,26 \pm 4,55$ , Grup 4' ün ortalama Pİ değeri ve standart sapması;  $24,03 \pm 5,74$ , Grup 5' ün ortalama Pİ değeri ve standart sapması;  $33,98 \pm 9,17$  olarak hesaplandı.

Grupların PCNA ile boyanmış mikroskopik kesitleri Şekil 13, Şekil 14, Şekil 15, Şekil 16 ve Şekil 17' de gösterilmiştir.

Kontrol grubunun Pİ değerlerinin, çalışma gruplarıyla karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 3' de gösterilmiştir.

**Tablo 3. Kontrol grubunun proliferasyon indeksi değerlerinin çalışma gruplarıyla karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Pİ Değerleri                        | Grup 2<br>(16,40±4,63) | Grup 3<br>(33,26 ± 4,50) | Grup 4<br>(24,03 ± 5,74) | Grup 5<br>(33,98 ± 9,17) |
|-------------------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grup 1<br>(Kontrol)<br>(5,06± 4,66) | p=0,000*               |                          |                          |                          |

**Pİ:** Proliferasyon indeksi

Post-hoc TUKEY, \* p<0,05.

Kontrol grubu ile tüm çalışma grupları karşılaştırıldığında, Pİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $p=0,000$ ).

Grup 2 ve Grup 3' ün Pİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 4' de gösterilmiştir.

**Tablo 4. Grup 2 ve 3' ün proliferasyon indeksi değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + SF | $\bar{X} \pm SS$ | p değeri    |
|-------------------------|------------------|-------------|
| Grup 2                  | $16,40 \pm 4,63$ | $P=0,000^*$ |
| Grup 3                  | $33,26 \pm 4,50$ |             |

**Hepatik Rezeksiyon + SF:** Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana SF verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \*  $p<0,05$ .

Grup 2 ve Grup 3 arasında Pİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $p=0,000$ ).

Grup 4 ve Grup 5' in Pİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 5' de gösterilmiştir.

**Tablo 5. Grup 4 ve 5' in proliferasyon indeksi değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + CAPE | $\bar{X} \pm SS$ | p değeri    |
|---------------------------|------------------|-------------|
| Grup 4                    | $24,03 \pm 5,74$ | $P=0,000^*$ |
| Grup 5                    | $33,98 \pm 9,17$ |             |

**Hepatik Rezeksiyon + CAPE:** Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana CAPE verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \*  $p<0,05$ .

Grup 4 ve Grup 5 arasında Pİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (p= 0,000).

Grup 2 ve Grup 4' ün Pİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 6' de gösterilmiştir.

**Tablo 6. Grup 2 ve 4' ün proliferasyon indeksi değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + 1. gün | X ± SS       | p değeri |
|-----------------------------|--------------|----------|
| Grup 2                      | 16,40 ± 4,63 | P=0,000* |
| Grup 4                      | 24,03 ± 5,74 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + 1. gün:** Hepatik rezeksiyon yapılarak 1.gün doku örnekleri alınan, intraperitoneal alana SF ve CAPE verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \* p<0,05.

Grup 2 ve Grup 4 arasında Pİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (p= 0,000).

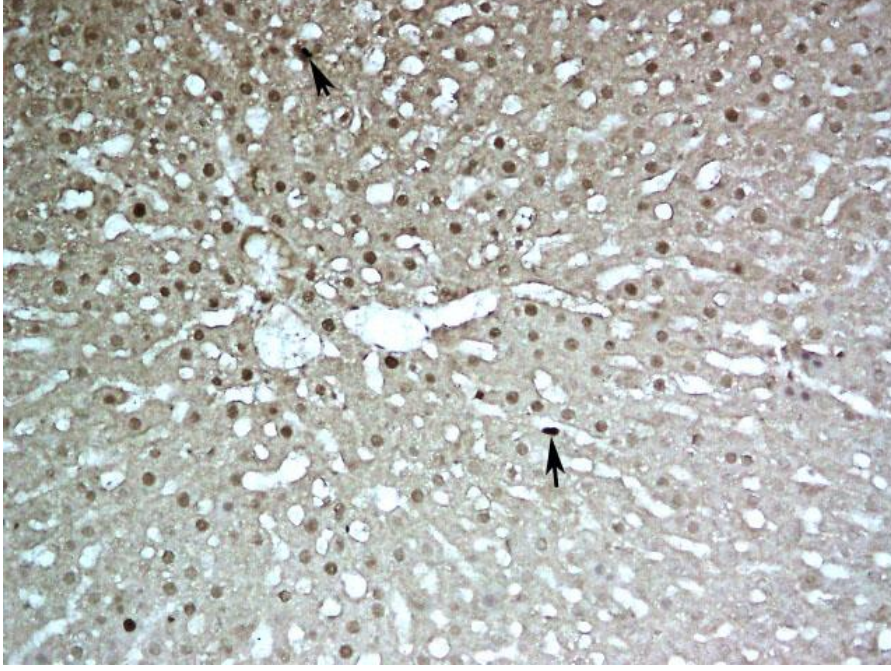
Grup 3 ve Grup 5' in Pİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 7' de gösterilmiştir.

**Tablo 7. Grup 3 ve 5' in proliferasyon indeksi değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

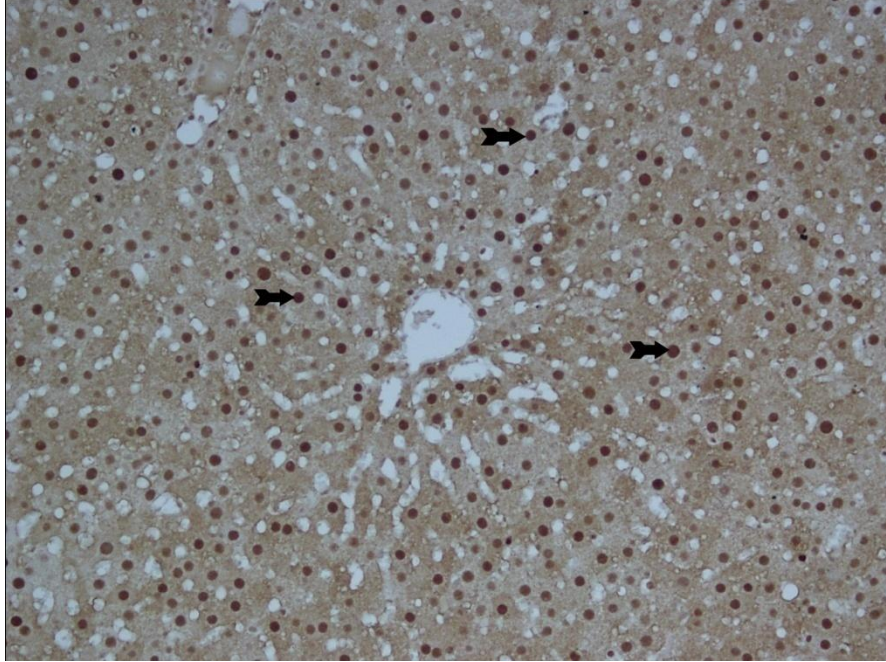
| Hepatik Rezeksiyon + 3. gün | X ± SS       | p değeri |
|-----------------------------|--------------|----------|
| Grup 3                      | 33,26 ± 4,50 | P=0,993* |
| Grup 5                      | 33,98 ± 9,17 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + 3. gün:** Hepatik rezeksiyon yapılarak 3. gün doku örnekleri alınan, intraperitoneal alana SF ve CAPE verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \* p<0,05.

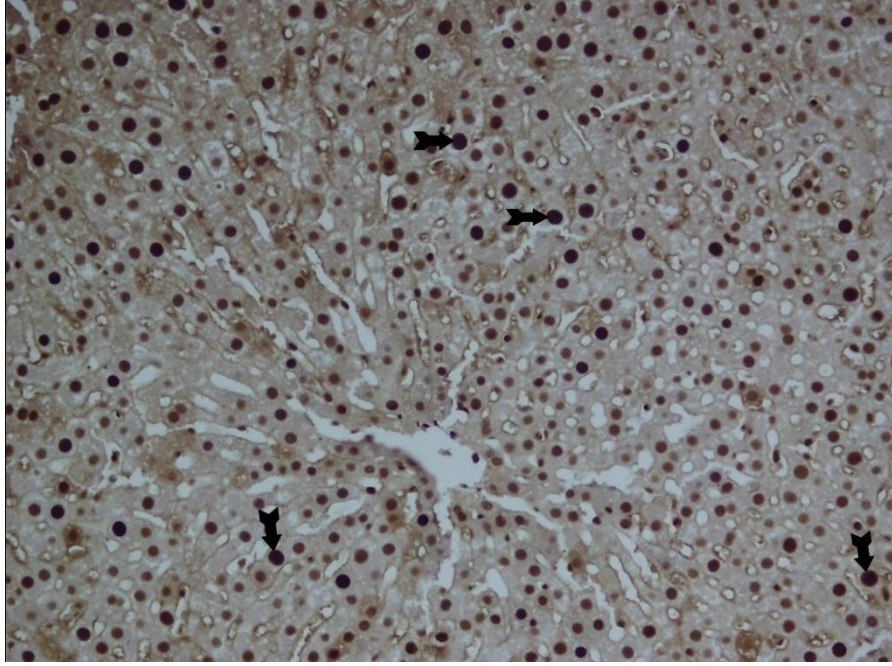
Grup 3 ve Grup 5 arasında Pİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p=0,993$ ).



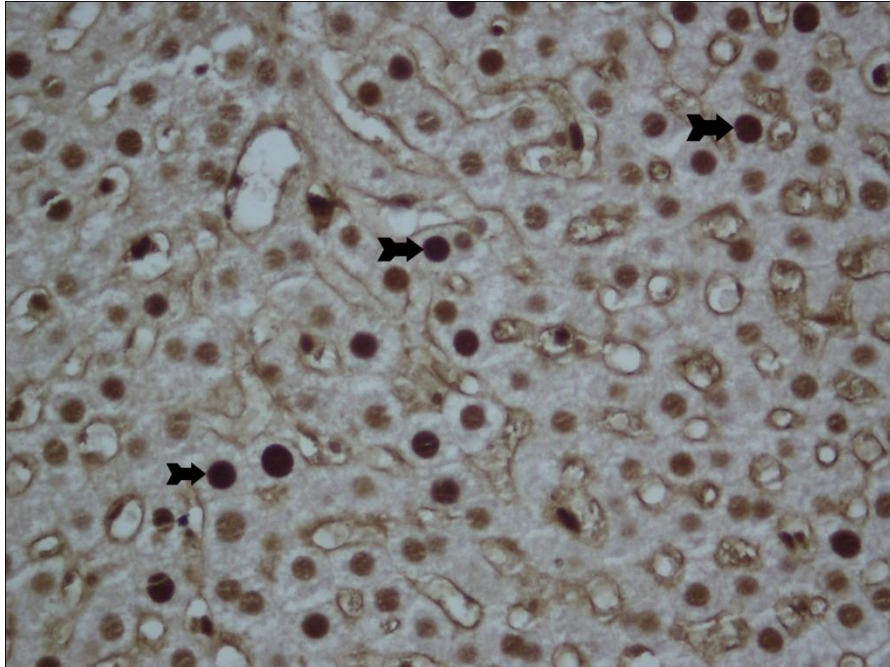
**Şekil 13. 1. Gruba(kontrol) grubu karaciğer kesitine ait Prolifere Hücre Nükleer Antijeni immünboyanması, Prolifere Hücre Nükleer Antijeni ile boyanmış hücre X200.**



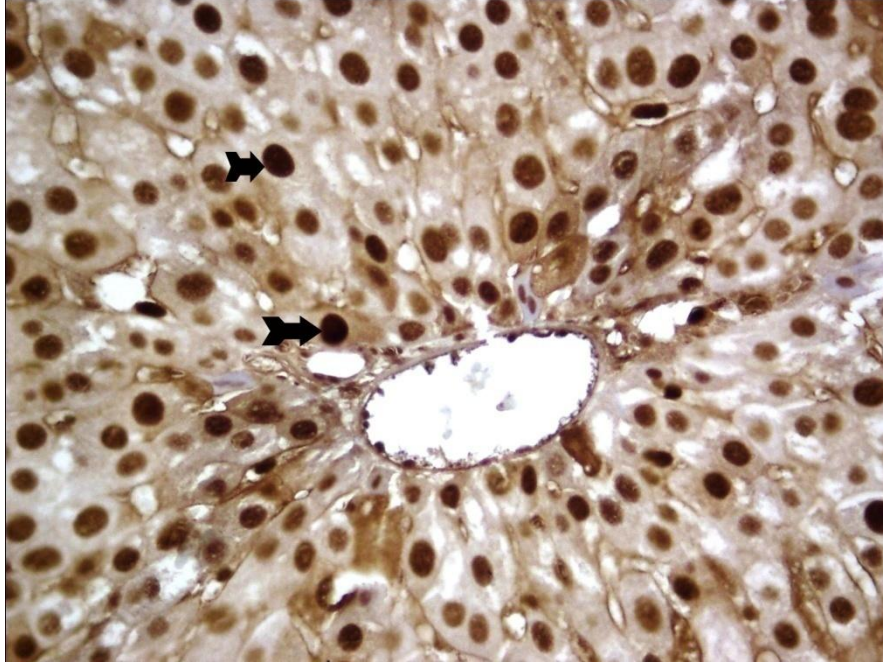
**Şekil 14. 2. Gruba ait Prolifere Hücre Nükleer Antijeni immünboyanması. Prolifere Hücre Nükleer Antijeni pozitif boyanan hücreler görölmekte, X200.**



**Şekil 15. 3. Gruba ait Prolifere Hücre Nükleer Antijeni immünboyaması. Yaygın bir şekilde Prolifere Hücre Nükleer Antijeni ile boyanmış hücreler görülmekte, X200.**



**Şekil 16. 4. Gruba ait Prolifere Hücre Nükleer Antijeni immünboyaması. Yaygın bir şekilde Prolifere Hücre Nükleer Antijeni ile boyanmış hücreler görülmekte, X400.**



**Şekil 17. 5. Gruba ait Prolifere Hücre Nükleer Antijeni immünboyaması. Yaygın bir şekilde Prolifere Hücre Nükleer Antijeni ile boyanmış hücreler görülmekte, X400.**

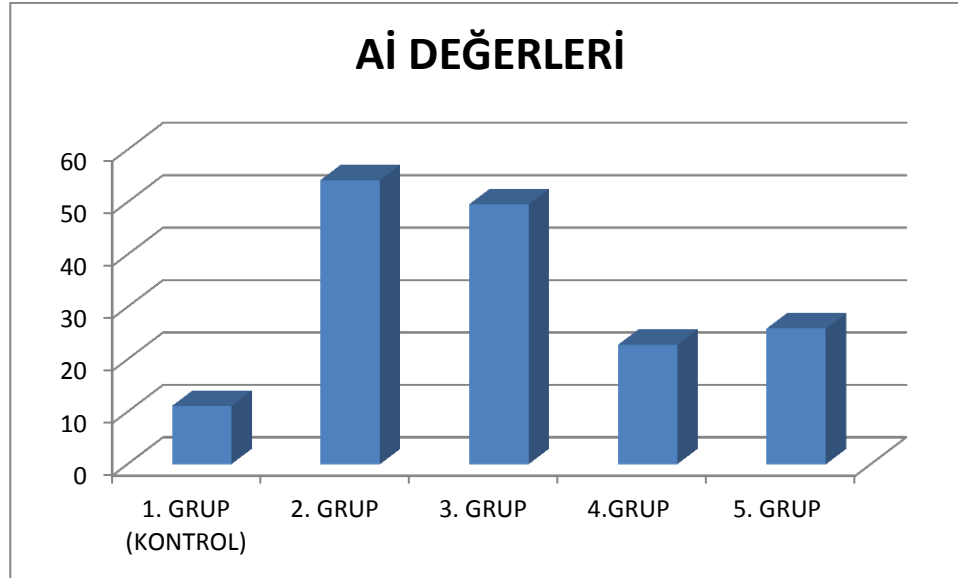
#### **TUNEL BULGULARI**

Kontrol ve çalışma gruplarında TUNEL ile boyanan hücrelerin değerlendirilmesi sonucu hesaplanan ortalama Aİ değerleri Tablo 8’ de ve Şekil 18’ de sunulmuştur.

**Tablo 8. Kontrol ve çalışma grupların TUNEL ile boyanan hücrelerin apoptotik indeks sonuçlarının değerlendirilmesi**

| <b>Aİ değeri</b>            | <b>X ± SS</b> |
|-----------------------------|---------------|
| <b>Grup 1<br/>(Kontrol)</b> | 11,12 ± 15,62 |
| <b>Grup 2</b>               | 54,24 ± 33,15 |
| <b>Grup 3</b>               | 49,60 ± 20,73 |
| <b>Grup 4</b>               | 22,76 ± 41,20 |
| <b>Grup 5</b>               | 25,88 ± 36,37 |

Aİ değeri: Apoptotik indeks



**Aİ değeri:** Apoptotik indeks

**Şekil 18. Kontrol ve çalışma gruplarının ve çalışma grupların TUNEL ile boyanan hücrelerin apoptotik indeks sonuçları**

Kontrol grubunun ortalama Aİ değeri ve standart sapması;  $11,12 \pm 15,62$ , Grup 2' nin Aİ değeri;  $54,24 \pm 33,15$ , Grup 3' ün ortalama Aİ değeri ve standart sapması;  $49,60 \pm 20,73$ , Grup 4' ün ortalama Aİ değeri ve standart sapması;  $22,76 \pm 41,20$ , Grup 5' ün ortalama Aİ değeri ve standart sapması;  $25,88 \pm 36,37$  olarak hesaplandı.

Grupların TUNEL ile boyanmış mikroskopik kesitleri Şekil 19, Şekil 20, Şekil 21, Şekil 22 ve Şekil 23' de gösterilmiştir.

Kontrol grubunun Aİ değerlerinin, çalışma gruplarıyla karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 9' de gösterilmiştir.

**Tablo 9. Kontrol grubunun apoptotik indeks değerlerinin, çalışma gruplarıyla karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Aİ Değerleri                          | Grup 2<br>(54,24 ± 33,15) | Grup 3<br>(49,60 ± 20,73) | Grup 4<br>(22,76 ± 41,20) | Grup 5<br>(25,88 ± 36,37) |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Grup 1<br>(Kontrol)<br>(11,12± 15,62) | p=0,000*                  |                           | p=0,674*                  | p=0,447*                  |

**Aİ:** Apoptotik indeks. Post-hoc TUKEY, \* p<0,05.

Kontrol grubu ile Grup 2 ve 3 karşılaştırıldığında, Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $p= 0,000$ ).

Kontrol grubu ile Grup 4 ve 5 karşılaştırıldığında, Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p> 0,05$ ).

Grup 2 ve Grup 3' ün Aİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 10' da gösterilmiştir.

**Tablo 10. Grup 2 ve 3' ün apoptotik indeks değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + SF | X $\pm$ SS        | p değeri |
|-------------------------|-------------------|----------|
| Grup 2                  | 54,24 $\pm$ 33,15 | P=0,984* |
| Grup 3                  | 49,60 $\pm$ 20,73 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + SF:** Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana SF verilen gruplar.  
Post-hoc TUKEY, \*  $p<0,05$

Grup 2 ve Grup 3 arasında Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p>0,05$ ).

Grup 4 ve Grup 5' in Aİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 11' da gösterilmiştir.

**Tablo 11. Grup 4 ve 5' ün apoptotik indeks değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + CAPE | X $\pm$ SS        | p değeri |
|---------------------------|-------------------|----------|
| Grup 4                    | 22,76 $\pm$ 41,20 | P=0,997* |
| Grup 5                    | 25,88 $\pm$ 36,37 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + CAPE:** Hepatik rezeksiyon yapılarak, intraperitoneal alana CAPE verilen gruplar.  
Post-hoc TUKEY, \*  $p<0,05$

Grup 4 ve Grup 5 arasında Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p>0,05$ ).

Grup 2 ve Grup 4' in Aİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 12' de gösterilmiştir.

**Tablo 12. Grup 2 ve 4' ün apoptotik indeks değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

| Hepatik Rezeksiyon + 1. gün | X ± SS        | p değeri |
|-----------------------------|---------------|----------|
| Grup 2                      | 54,24 ± 33,15 | P=0,004* |
| Grup 4                      | 22,76 ± 41,20 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + 1. Gün:** Hepatik rezeksiyon yapılarak 1. gün doku örnekleri alınan, intraperitoneal alana SF ve CAPE verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \* p<0,05

Grup 2 ve Grup 4 arasında Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı (p=0.004).

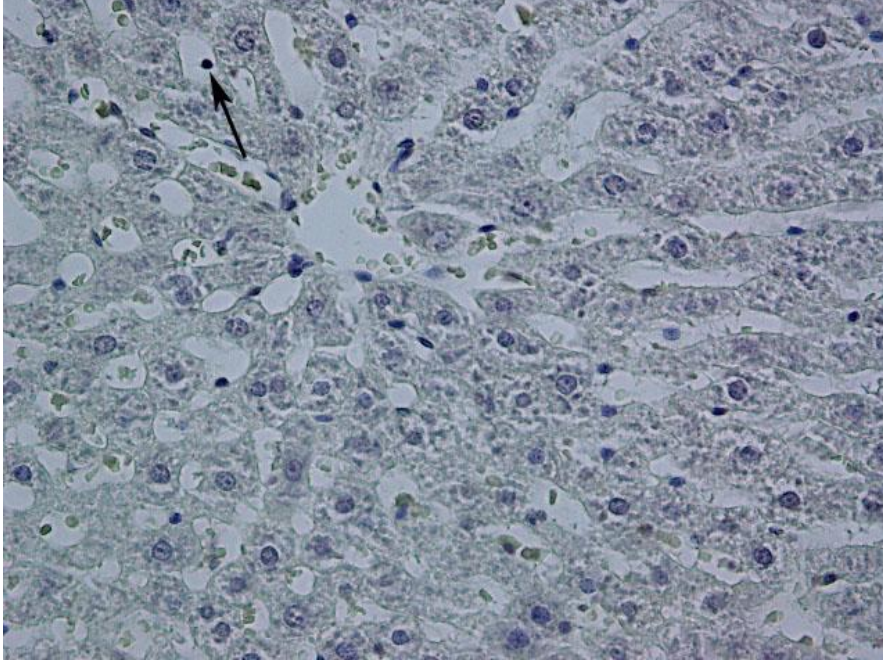
Grup 3 ve Grup 5' in Aİ değerleri açısından karşılaştırılması ve istatistiksel analizi Tablo 13' de gösterilmiştir.

**Tablo 13. Grup 3 ve 5' in apoptotik indeks değerlerinin birbirleriyle karşılaştırılması ve istatistiksel analizi**

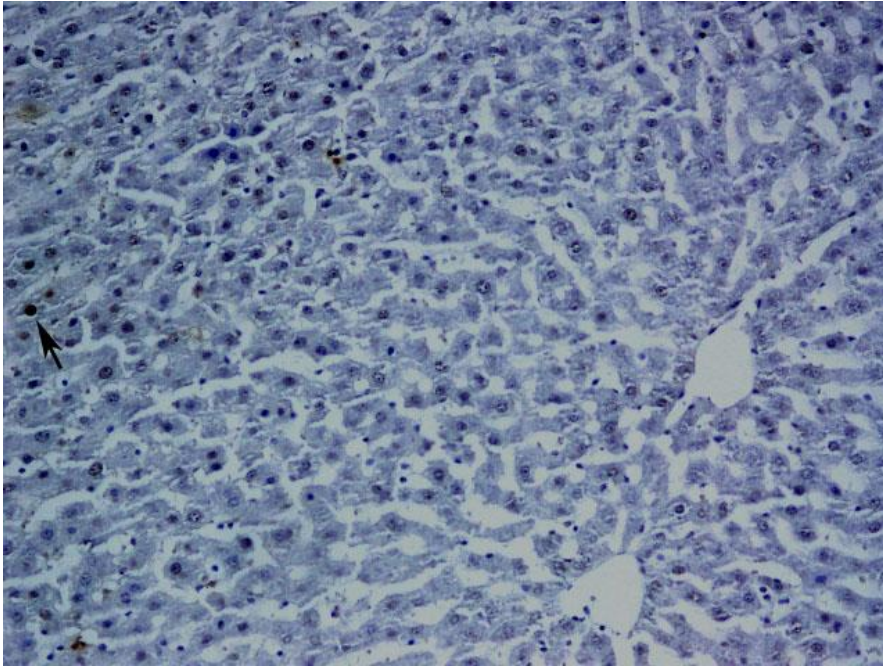
| Hepatik Rezeksiyon + 3. gün | X ± SS        | p değeri |
|-----------------------------|---------------|----------|
| Grup 3                      | 49,60 ±20,73  | P=0,059* |
| Grup 5                      | 25,88 ± 36,37 |          |

**Hepatik Rezeksiyon + 3. gün:** Hepatik rezeksiyon yapılarak 3. gün doku örnekleri alınan, intraperitoneal alana SF ve CAPE verilen gruplar  
Post-hoc TUKEY, \* p<0,05

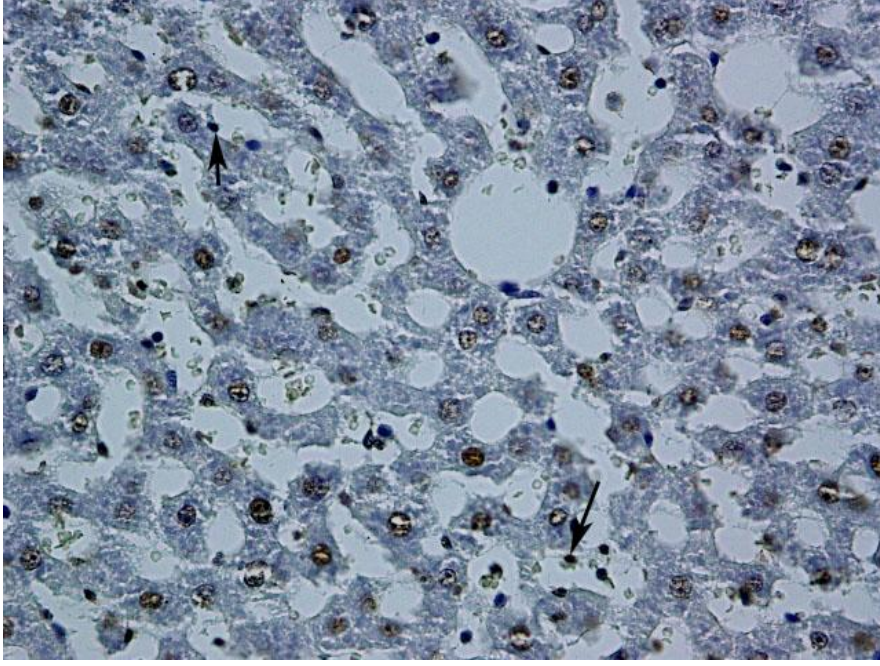
Grup 3 ve Grup 5 arasında Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı ( $p=0,004$ ).



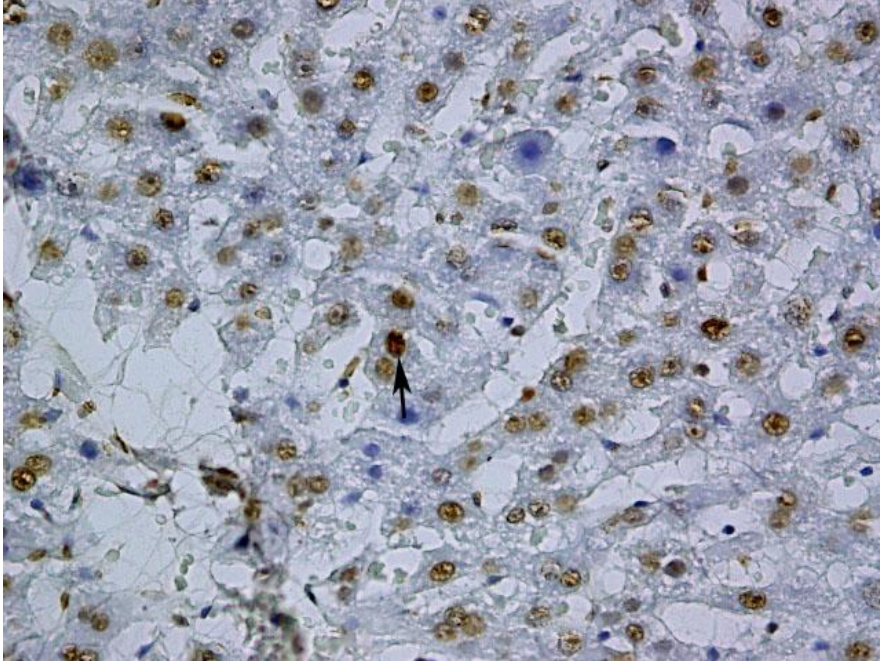
**Şekil 19. 1. gruba (kontrol) ait karaciğer kesitinin TUNEL boyaması, TUNEL pozitif hücre, X400.**



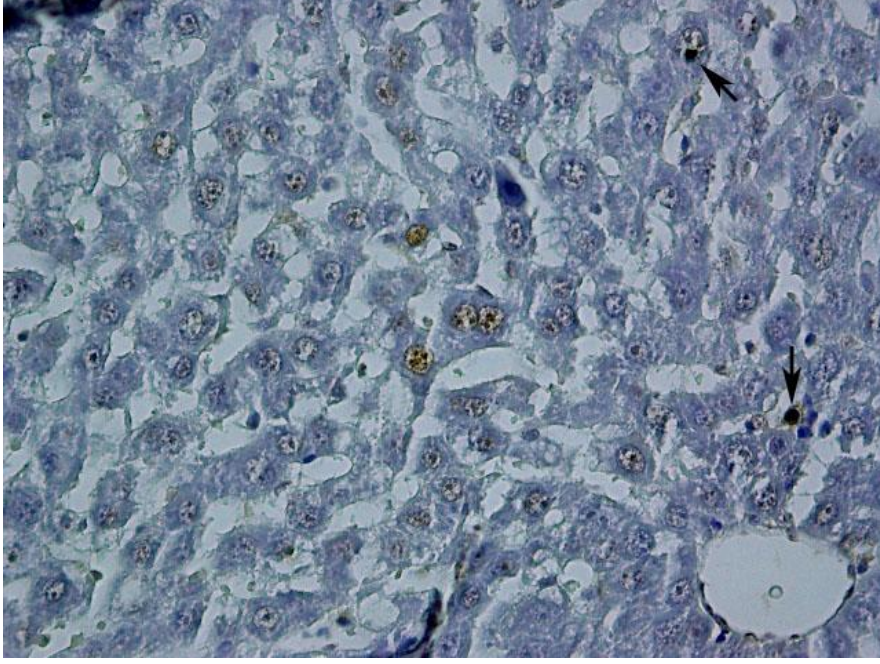
**Şekil 20. 2. gruba ait TUNEL boyaması. TUNEL pozitif hücre yoğunluğu görülmekte, X200.**



**Şekil 21. 3. Gruba ait TUNEL boyaması. TUNEL pozitif hücre yoğunluğunu görülmekte, X400.**



**Şekil 22. 4. gruba ait TUNEL boyaması. Seyrek TUNEL pozitif hücreler görülmekte, X400.**



**Şekil 23. 5. Gruba ait TUNEL boyaması. Seyrek TUNEL pozitif hücreler görülmekte, X400.**

## TARTIŞMA

Bir organın parçasının eksilmesi ya da hasar görmesinden sonra, doku kütlesini yeniden tamamlayabilme yeteneği rejenerasyon olarak tanımlanmıştır (58).

Karaciğerin kompensatuar hiperplazisi, memelilerdeki bilinen en hızlı doku rejenerasyonudur (47,63,114-116). Karaciğer, doku hasarı veya cerrahi rezeksiyon sonrası göstermiş olduğu rejenerasyon kapasitesi ile hayati fonksiyonların idame edilmesinde çok önemlidir. Rejenerasyon esnasında oluşabilecek bir aksaklıkta, karaciğer yetmezliği veya fibrozis gelişebilir (117,118).

Son yıllarda; tanı yöntemlerinin gelişmesi, cerrahi tekniklerde ilerleme, postoperatif bakım şartlarının iyileşmesi, karaciğer rezeksiyonunu daha güvenilir ve uygulanabilir hale getirmiştir (23). Karaciğer rezeksiyonu sonrasındaki mortalite ve morbidite, rezeksiyon sonrası kalan normal karaciğer doku miktarı ile ilişkilidir (55,118). Rejenerasyon, içerisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı karmaşık bir süreçtir (119). Karaciğer rejenerasyonundaki düzenleyici mekanizmaları ve bu mekanizmaların birbiriyle ilişkileri bu alandaki tüm gelişmelere rağmen tam olarak ortaya konulamamıştır. Kesin olarak bilinen ise; karaciğerin kendisinin, rejenerasyona ne zaman başlayacağı ve ne zaman biteceğini bildiğidir (55). Karaciğer dokusundaki oluşabilecek %10-20' lik bir kayıp rejenerasyonu başlatmaktadır. Rejenerasyon, vücudun fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılayacak, metabolizmayı gerçekleştirecek karaciğer doku büyüklüğe erişinceye kadar sürmektedir (119-122). Bunun yanı sıra ihtiyaç fazlası karaciğer dokusu atrofiye uğramakta ve hacmen küçülmektedir. Alıcı vücuduna oranla nispeten büyük doku ile karaciğer transplantasyonu yapıldığında, postoperatif optimal karaciğer/vücut kütle oranı sağlanana kadar karaciğer dokusunun küçüldüğü bilinmektedir (123).

Palmes ve Spiegel (114), sıçanlarda her bir karaciğer lobunun toplam karaciğer kütlesine oranlarını belirleyerek parsiyel hepatektomi modelini oluşturmuşlar ve bunu da sıçan karaciğerin sol ve orta lobu çıkarıldığı ve böylece %68-70' lik bir kısmının rezeke edildiği yöntem olarak belirlemişlerdir. Karaciğer rezeksiyonu için en ideal model, bu araştırmacılar tarafından tarif edilen parsiyel hepatektomi modelidir. Biz de çalışmamızda Palmes ve Spiegel (114) tarafından tarif edilen parsiyel hepatektomi modelini kullandık.

Karaciğerin rezeksiyon sonrası rejenerasyona destek mekanizmalarından biri antioksidan savunma sistemleridir. Bu sistemler etkilerini serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya yaptıkları zararlı etkileri önleyerek göstermektedir. Süregelen çalışmalarda çok çeşitli maddeler karaciğer rejenerasyonundaki fonksiyonları ve faydalarını denenmiş olup parsiyel hepatektomiden kısa bir süre önce verilen antioksidan maddelerin SOR' ni toplayarak karaciğerde lipid peroksidasyonunu engellediği ve karaciğer rejenerasyonunu yükselttiği bildirilmiştir (124). Biz de çalışmamızda; antioksidan özelliği de olan CAPE' nin, karaciğer dokusu üzerine etkisini, parsiyel hepatektomi modelinde araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda, parsiyel hepatektomi yapılmış olan denekleri karaciğer dokularında CAPE' nin etkinliği histopatolojik olarak üç parametre ile değerlendirilmiştir. Işık mikroskopik bulguları değerlendirmesinde; vakuolizasyon ve sinüzoidal dilatasyon oranları semikantitatif olarak ortaya konulmuştur. PCNA ile proliferasyon oranı, TUNEL ile de apoptoz oranları değerlendirilmiştir.

Hou ve ark. (123)' ı yapmış oldukları çalışmalarında; vakuolizasyonun, lipid birikimi sonucu meydana geldiğini, karaciğerde oluşan bu yağlanma sonucu ise dokuda rejenerasyonun azaldığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda kontrol grubu olan Grup 1' de vakuolizasyon olmadığı görülmüştür.

Doku örnekleri 1. gün alınan gruplar olan Grup 2 ve Grup 4 karşılaştırıldığına, CAPE kullanılan grup olan Grup 4' de ki deneklerin karaciğer dokularında vakuolizasyonun Grup 2' ye oranla belirgin olarak azalmış olduğu görülmüştür. İlk 24 saatte CAPE nin, vakuolizasyonu azaltarak rejenerasyona olumlu etki gösterdiği görülmüştür.

Doku örnekleri 3. gün alınan gruplar olan Grup 3 ve Grup 5 karşılaştırıldığına, CAPE kullanılan grup olan Grup 5' de ki deneklerin karaciğer dokularında vakuolizasyonun Grup 3' e oranla belirgin olarak azalmış olduğu görülmüştür. İlk 72 saatte de, ilk 24 saatte olduğu gibi, CAPE nin, vakuolizasyonu azaltarak rejenerasyona olumlu etki göstermeye devam ettiği görülmüştür.

Skolyes (125) artmış hepatik vasküler yatağın dilatasyonu karaciğer kan akımını artırmaktadır (125).Hepatik rezeksiyon sonrası oluşan sinüzoidal dilatasyon; rejenere olan karaciğer dokusunun, damarsal olarak da beslenmesinin sağlanması için karaciğerin gösterdiği uyumu sonucu meydana gelmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubu olan Grup 1' de sinüzoidal dilatasyon olmadığı görülmüştür.

Doku örnekleri 1. gün alınan gruplar olan Grup 2 ve Grup 4 karşılaştırıldığına, CAPE kullanılan grup olan Grup 4' de ki deneklerin karaciğer dokularında sinüzoidal dilatasyonun Grup 2' ye oranla belirgin olarak artmış olduğu görülmüştür. İlk 24 saatte CAPE nin, sinüzoidal dilatasyonu arttırarak rejenerasyona olumlu etki gösterdiği görülmüştür.

Doku örnekleri 3. gün alınan gruplar olan Grup 3 ve Grup 5 karşılaştırıldığına, CAPE kullanılan grup olan Grup 5' de ki deneklerin karaciğer dokularında sinüzoidal dilatasyonun Grup 3' e oranla belirgin olarak artmış olduğu görülmüştür. İlk 72 saatte de, ilk 24 saatte olduğu gibi, CAPE nin, sinüzoidal dilatasyonu arttırarak rejenerasyona olumlu etki göstermeye devam ettiği görülmüştür.

PCNA, Bravo (102) tarafından bulunmuş ve siklin olarak adlandırılmıştır. Geni 20. kromozomda yerleşiktir. . Hücrelerde başlıca DNA replikasyonu veya sentezi olan yerlerde bulunur (103). Genomik DNA replikasyonu, rekombinasyonu, tamiri ve DNA polimeraz gama için gerekli hücre proliferasyonunun başlamasında önemli rolü olan temel bir proteindir (104,105). PCNA boyanan hücreler normal karaciğer dokusunda oldukça az sayıda iken, rejenere olan karaciğer dokusunda artar (106). Normal karaciğerde PCNA antikoru ile immünohistokimyasal inceleme sonrası önemsenmeyecek kadar az sayıda hücrede boyanma saptanırken, rejenere olan karaciğerde son derece yüksek sayıda hücrede pozitif boyanma saptanmaktadır (107).

Çalışmamızda; PCNA ile boyanma sonucu bulduğumuz Pİ değerlerini incelediğimizde, kontrol grubunda (Grup 1) bu değerin beklendiği gibi oldukça düşük olduğu literatürle uyumlu olduğu görülmüştür. Kontrol grubu (Grup 1) ile çalışma grupları karşılaştırıldığında, Pİ değeri çalışma gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde ( $p=0,000$ ) yüksek olarak tespit edildi. Bulunan değerler ve istatistiki analizin literatür ile uyumlu idi.

Doku örnekleri 1. gün alınan gruplar olan Grup 2 ve Grup 4 karşılaştırıldığına, CAPE kullanılan grup olan Grup 4' de ki deneklerin PCNA ile elde edilen Pİ değerleri Grup 2' ye oranla belirgin olarak artmış olduğu görülmüştür. İlk 24 saatte CAPE nin, karaciğer

dokusunda proliferasyonu önemli ölçüde arttırarak rejenerasyona olumlu etki gösterdiği görülmüştür.

Doku örnekleri 3. gün alınan gruplar olan Grup 3 ve Grup 5, PCNA ile elde edilen Pİ değerleri açısından karşılaştırıldığına, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p>0,05$ ) fark olmadığı görülmüştür. İlk 24 saatte CAPE nin, karaciğer dokusunda proliferasyonu önemli ölçüde arttırarak rejenerasyona olumlu etki gösterdiği ancak bu olumlu etkinin 72. saatte devam etmediği belirlenmiştir. Genel olarak elde edilen Pİ değerlerine bakıldığında, karaciğer rezeksiyonu üzerinden geçen süre arttıkça, karaciğer proliferasyonunun literatür ile uyumlu olarak yükselmekte olduğu söylenebilir. İstatistiksel analiz neticesinde; CAPE' nin proliferasyona olumlu etki ettiği, bu etkinin ilk 24 saatte belirgin olduğu görülmüştür.

Apoptoz terimi ilk olarak 1972' de Kerr (126) tarafından nekrozdan farklı olarak gerçekleşen diğer bir ölüm şekli için tanımlanmıştır ve fizyolojik hücre ölümünü olarak tanımlanmıştır(126,127).

Yamamoto ve ark. (128) tarafından yapılan çalışmada; sıçan karaciğer hücrelerinin, karaciğer rezeksiyonu sonrasında, apoptozise karşı durarak canlılıklarını korumaya çalıştıklarını gösterilmiştir. Aynı çalışmada karaciğer hücrelerinin, apoptozisten korunmak için bcl-2 genini eksprese ettiği belirtilmiştir (128). Sowa ve ark. (129)' nın yaptığı çalışmada; parsiyel hepatektomiden sonra karaciğer hücre rejenerasyonunun yanı sıra apoptozisinin de belirgin oranda arttığını gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda; TUNEL kullanarak yaptığımız inceleme sonucunda bulduğumuz Aİ değerleri tüm gruplarda belirli oranlarda yükselmiş olarak tespit edildi. Programlanmış hücre ölümünün göstergesi olan Aİ' in kontrol grubundaki nispeten düşük değeri, karaciğer dokusunda bazal düzeyde apoptozun mevcut olduğunun göstergesi olarak değerlendirildi.

Parsiyel hepatektomi uygulanan ve intraperitoneal SF verilen gruplarda (Grup 2 ve 3), Aİ değeri ilk 24 saatte oldukça yükselmekte, 72. saatte ise Aİ değerleri 24. saattekine oranla düşmekteydi. Parsiyel hepatektomi uygulanan ve intraperitoneal CAPE verilen gruplarda (Grup 4 ve 5) ise, Aİ değeri ilk 24 saatte, 72. saate oranla daha düşük tespit edilmekteydi. Bu durum, CAPE' nin etkinliğinin ilk 24 saatte daha fazla olduğunun, apoptozu bu dönemde etkin baskıladığının ve rejenerasyona etkin katkı sunduğunun göstergesi olarak değerlendirildi.

Kontrol grubu ile Grup 2 ve 3 karşılaştırıldığında, Aİ değerleri açısından, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptandı ( $p= 0,000$ ). Yani rezeksiyon uygulanarak intraperitoneal SF verilen gruplarda apoptoz literatür ile uyumlu bir biçimde anlamlı oranda artmaktaydı.

Kontrol grubu ile Grup 4 ve 5 karşılaştırıldığında ise Aİ değerlerinin nispeten artmış olmakla beraber, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Bu durum, intraperitoneal uygulanan CAPE' nin, parsiyel hepatektomi sonrası meydana gelen apoptoz eğilimini baskılamada, bazal apoptoz değerine yaklaştırmada etkin olduğunun göstergesi idi.

Parsiyel hepatektomi sonrası, karaciğer rejenerasyonunu değerlendirdiğimiz çalışmamızda; bal arısının ürettiği propolis maddesinin aktif bir bileşeni olan CAPE' nin, özellikle rezeksiyon sonrası ilk 24 saatte proliferasyonu önemli oranda artırdığı, apoptozu ise etkin bir şekilde baskıladığı, karaciğer rejenerasyonu üzerine ciddi olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Özellikle karaciğer transplantasyonu canlı vericileri olan donörlerde, karaciğer doku kayıpları olan travma hastalarında, parsiyel karaciğer rezeksiyonu yapılan kanser hastaları gibi karaciğer dokusu kaybı olan hastalarda, bakiye karaciğer dokusu rejenerasyonunu artırmak için, ilk 24 saatte CAPE' nin tedavi amacı ile kullanılabileceği kanaatindeyiz. Bilinen hiç bir yan etkisi bulunmayan ve antioksidan özelliği de mevcut olan CAPE ile prospektif randomize insan çalışmaları yapılabileceğini düşünmekteyiz.

## SONUÇLAR

Deneyssel olarak oluşturulan hepatik rezeksiyon sonrası gelişen karaciğer rejenerasyonunda CAPE' nin etkisini ışık mikroskopik, PCNA ve Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated dUTP-Biotin Nick End - Labeling ile histopatolojik açıdan incelemek amacı ile planladığımız çalışmada;

1- Işık mikroskopisi altında histopatolojik incelemede parsiyel hepatektomiden sonra ilk 72 saatte de, CAPE nin, sinüzoidal dilatasyonu arttırarak ve vakuolizasyonu azaltarak rejenerasyona olumlu etki gösterdiği görülmüştür.

2- CAPE nin, karaciğer dokusunda proliferasyonu önemli ölçüde arttırdığı ve bu önemli etkinin ilk 24 saatte daha belirgin olduğu görülmüştür

3- CAPE' nin, parsiyel hepatektomi sonrası meydana gelen apoptoz eğilimini baskılamada, normal karaciğer dokusundaki azal apoptoz değerine yaklaştırmada v apoptozu baskılamada etkin olduğu ve böylece rejenerasyonun belirgin katkısı olduğu görülmüştür.

## ÖZET

Deneysel olarak oluşturulan karaciğer rezeksiyondan hemen sonra rejenerasyonun başlayıp ilk 24-48 saatte maksimum düzeye ulaştığı bilinmektedir. Bu çalışmada da deneysel olarak oluşturduğumuz karaciğer rezeksiyonundan sonra, ilk 24 saat ve 72 saatlerde ki kafeik asit fenetil esterinin rejenerasyona etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmada 40 adet Wistar Albino cinsi erişkin sıçan kullanıldı. Denekler, rastgele toplam beş gruba ayrıldı. Karaciğer rezeksiyonu oluşturmak için deneklere üst orta hat insizyon ile laparotomi uygulandı. Karaciğerin sol lateral ve median lob pedikülleri 4/0 ipekle bağlanarak %70 hepatektomi yapıldı. İki gruba, rezeksiyondan 3 gün önce başlanarak intraperitoneal olarak kafeik asit fenetil ester ve iki gruba da rezeksiyondan 3 gün önce başlanarak intraperitoneal olarak serum fizyolojik uygulandı. Parsiyel hepatektomi sonrası 24. ve 72. saatlerde kafeik asit fenetil ester verilen ve serum fizyolojik verilen grupların karaciğerleri incelemek için alındı.

Tüm deney gruplarının karaciğer dokularında rejenerasyona olumlu etkisi olan sinüzoidal dilatasyonun ve olumsuz etkileri olan vakuolizasyon ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Kafeik asit fenetil ester verilen gruplar da ilk 72 saatte sinüzoidal dilatasyonun önemli bir şekilde arttığı ve bununla birlikte, vakuolizasyonun da kontrol gruplarına göre azaldığı gözlemlenmiştir.

Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated dUTP-Biotin Nick End- Labeling ile boyama sonucu hesaplanan apoptotik indeks değerleri açısından bakıldığında kafeik asit fenetil ester verilen gruplarda özellikle ilk 24 saatte normal karaciğer dokusunda olan apoptoz değerlerine yaklaştırdığı ve rejenerasyona olumlu etkisi olduğu sonucuna vardık.

Prolifere hücre nükleer antijeni ile boyama sonucu hesaplan proliferasyon indeks değerleri açısından bakıldığında proliferasyon kafeik asit fenetil ester verilen gruplarda özellikle ilk 24 saatte proliferasyonu belirgin bir şekilde arttırarak rejenerasyona olumlu etkisi olduğu sonucuna vardık.

Sonuç olarak, rezeksiyondan sonrası rejenerasyona kafeik asit fenetil esterinin olumlu etkisi ışık mikroskobu, proliferate hücre nükleer antijeni ve Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated dUTP-Biotin Nick End- Labeling metodlarıyla ortaya konmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Parsiyal hepatektomi, CAPE, TUNEL, apoptozis, immünohistokimya, PCNA.

## **THE EFFECT OF CAFFEIC ACID FENETIL ESTER ON LIVER REGENERATION IN EXPERIMENTAL LIVER RESECTION**

### **SUMMARY**

It is well known that experimental liver regeneration starts immediately after liver resection and reaches the maximum level in the first 24-48 hours. Therefore in our study we aimed to observe the effect of caffeic acid fenetil ester in experimental liver regeneration after resection of the liver at maximum regeneration interval at 24. and 72. hours.

40 adult male Wistar albino rats were used in this study. The rats were divided into five groups randomly. Laparotomy incision to abdominal mid line of the rats was performed for liver resection. Left lateral and median lobe pedicles of liver binded with 4/0 silk to complete 70% of hepatectomy. Caffeic acid fenetil ester therapy administered intraperitoneally into two experimental groups 3 days before the resection and serum physiologic administered into two control group. Livers of the caffeic acid fenetil ester therapy group and control group were resected 1. and 3. day postoperatively.

Sinusoidal dilatation and vacuolization of hepatocytes were observed in liver tissues of all groups by light microscope as a tissue regeneration marker. Vacuolization of hepatocytes were significantly lower in caffeic acid fenetil ester therapy group also sinusoidal dilatation was found significantly higher in caffeic acid fenetil ester therapy group.

The proliferation index of the caffeic acid fenetil ester therapy group livers were found higher than the control group livers at 24 hours after surgery but there were no significant difference observed between the therapy and control groups liver proliferation index at 72. hour.

In addition the apoptotic index was significantly suppressed in caffeic acid fenetil ester therapy group than the control group and the index was similar to healthy liver apoptozis index.

As a result, the effect of caffeic acid fenetil ester in regeneration of the liver after resection was revealed immunohistochemically with terminal deoxynucleotidyl transferase - mediated dUTP-biotin nick end- labeling and proliferating cell nuclear antigen methods by light microscope.

**Keywords:** Partial hepatectomy, CAPE, TUNEL, apoptosis, immunohistochemistry, PCNAAs a result, the effect of CAPE in regeneration of the liver after resection was revealed immunohistochemically with TUNEL methods.

**Keywords:** Partial hepatectomy, CAPE, TUNEL, apoptosis, immunohistochemistry, PCNA

## KAYNAKLAR

1. Aktümsek A. Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi. Ankara: Nobel Yayınları; 2006:366-7.
2. Russel L. Gastroentroloji. In: Andreoli TE, Fallon MB, McGuire BM, Abrams GA, Arguedas MR (Eds.). Cecil Essentials of Medicine. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p.365-98.
3. Hamanoue M, Kawaida K, Takao S, Shimazu H, Noji S, Matsumoto K et al. Rapid and marked induction of hepatocyte growth factor during liver regeneration after ischemic or chrush injury. Hepatol 1992;16:1485-92.
4. Perek S, Kapan S. Karaciğer ve safra yolları cerrahisi. Değerli U, Bozfakıoğlu Y (Editörler). Cerrahi Gastroenteroloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.194-208.
5. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T. Human liver regeneration after major hepatic resection. Ann Surg 1987;206:30-9.
6. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. Science 1996;296:60-6.
7. Labrecque DR, Steele G, Fogerty S, Wilson M, Barton J. Purification and physical-chemical characterisation of hepatic stimulator substance. Hepatol 1987;7:100-6.
8. Vetelainen R, Vliet AK, Gulik TM. Severe steatosis increases hepatocellular injury and impairs liver regeneration in a rat model of partial hepatectomy. Ann Surg 2007;245:44-50.
9. Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenetylester. Urol Res 2000;28:360-3.
10. Kelley RO. Liver. Junqueira LC, Carneiro J (Eds.). Basic histology. 10<sup>th</sup> ed. Connecticut: Lange; 2002. p.237-40.

11. Lauren JS. Formation of Liver. In: Hiram TG (Ed). Basic Concepts in Embryology: A Students Survival Guide. New York: McGraw Hill Companies; 1998. p.75-9.
12. Moore KM. Karaciğer, Sindirim sistemi (Çeviri: M. Koyutürk, D. Erdem) Yıldırım M, Dalçık H (Editörler). Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. s.245-70.
13. Peteorak I. Medikal Embriology. 2<sup>nd</sup> ed. İstanbul: Beta Basım Yayım, 1986:212-5.
14. Seftalioglu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Ankara: Tıp Teknik Yayıncılık, 1998:301-2.
15. Sadler TW. Sindirim sistemi (Çeviri: C. Başaklar). Başaklar C (Editör). Langman's Medikal Embriyoloji. Ankara: Palme Yayıncılık; 2005. s.127-35.
16. Junqueira LC, Carneiro J. Sindirim kanalına bağlı bezler (Çeviri: S. Solakoğlu). Aytekin Y (Editör). Temel Histoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. s.332-44.
17. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic histology. 10<sup>th</sup> ed. Connecticut: Lange; 2002:307-20.
18. Terblanche J, Launois B. Liver resection. In: Terblanche J (Ed.). Hepatobiliary alignment its multidisciplinary management. London: Edward Arnold Company; 1994. p. 506-55.
19. Ito T, Shibasaki S. Electron microscopic study on the hepatic sinusoidal wall and the fat-storing cells in the human normal liver. Arch Histol Jpn 1968;29:137-41.
20. Roose MH, Romrell LJ, Kage GI, Histology. A text and atlas. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Williams & Wilkins Company; 1995:496-507.
21. Fischer JE. Karaciğer ve Safra Yollarının Cerrahi Anatomisi (Çeviri: S.Çoban) Özmen MM, Erbil Y, Dilektaşlı E (Editörler). Mastery of Surgery. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011. s.1005-18.
22. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitap Evi, 1993: 429-39.
23. Meyers WC, Jones RS. Liver Anatomy. In: Meyers WC (Ed.). Textbook of liver and biliary surgery. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1990. p.18-38.
24. Lafortune M, Madore F, Patriguin H. Segmental anatomy of the liver. Radiology 1991;181:443-8.
25. Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi. İstanbul: Argos, 2005:684-7.
26. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. Karın (Çeviri: B. Durgun). Yıldırım M (Editör). Gray's Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi; 2007. s.285-306.
27. Guyton AJ, Hall JE. Bir organ olarak karaciğer (Çeviri: C. Güzel). Çavuşoğlu H (Editör). Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996. s.883-8.
28. Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM, Liver. In: Meyers WC, Chan RS (Eds.). Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p.997-1059.

29. Tietz Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4<sup>th</sup> ed. New York: Elsevier Saunders, 2006:1818-30.
30. Cameron JL. Liver anatomy. New York: Current Surgery, 2001:309-10.
31. Yıldırım M. Topografik Anatomi. 2. baskı. Bursa: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:25-33.
32. Townsend MC, Beauchamp RD, Evers BM. Liver. In: Meyers WC, Chan RS (Eds.). Sabiston Textbook of Surgery. 16<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 997-1059.
33. Bismuth H. Surgical anatomy of the liver. In Bengmark S, Blumgart LH (Eds.). Liver Surgery. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1986. p.1-7.
34. Skandalakis JE, Gray SW, Rowe JS. Anatomical complications in general surgery. New York: McGraw-Hill Book Company, 1986:103-24.
35. Williams P, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's Anatomy. 37<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1992:1384-96.
36. Abraham L, Kierszenbaum MD. Sindirim Bezleri (Çeviri: R. Demir). Arbak S (Editör), Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. s.447-74.
37. Gerbe MA, Swan NT. Histology of the liver. Am J Surg Pathol 1987;11:709-22.
38. Ratych ER, SmithWG. Anatomy and physiology of the liver. In: George D. Zuidema GE (Eds.). Surgery of the Alimentary Tract. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1996. p.357-74.
39. Muslumanoglu M. Safra kesesinin selim hastalıkları. İstanbul: Genel cerrahi/ İ.Ü.T.F. temel ve klinik bilimler ders kitapları, 2002:1177-8.
40. Timothy D.S, Steven A.C, Liver . In: Brunicaardi C.F, Andersen D.K (Eds.). Schwartz's Principles of Surgery, 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: McGraw-Hill; 2005. p.1139-42.
41. Guyton AC. Liver. In: Guyton AC (Ed.). Textbook of medical physiology. 7<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1986. p.1203-8.
42. Ganong WF. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Barış Kitabevi, 1999:528-9.
43. Kurus M, Esrefoglu M, Sogutlu G, Atasever A. Melatonin prevents cyclosporine-induced hepatotoxicity in rats. Med Princ Pract 2009;18:407-10.
44. Delattre JF, Avisse C, Flament JB. Anatomic basis of hepatic surgery. Surg Clin N Am 2000;80:345-62.
45. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. J Biol Chem 2000;275:2247-50.
46. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Karaciğer ve safra kanalları (Çeviri: U. Çevikbaş). Çevikbaş U (Editör). Robbins Temel Patoloji. 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000. s.516-8.

47. Okten A, Mungan Z, Cakaloglu Y. Gastroenterohepatoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2001;449–500.
48. Bonis PA, Friedman SL, Kaplan MM. Is liver fibrosis reversible. *N Engl J Med* 2001;344:452-4.
49. Fink MP. Shock. In: Rippe JM (ed.). *Intensive Care Medicine* Little. Boston: Brown and Company; 1991. p.1417–34.
50. Shoemaker WC. Diagnosis and Treatment of the Shock Syndromes. In: Ayres SM, Grenvik A, Holbrook P (eds.). *Textbook of Critical Care*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p.85–102.
51. Grace PA. Ischemia–reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637–47.
52. Delva E, Camus Y, Nordlinger B. Vascular occlusions for liver resections. *Ann Surg* 1989;209:211-8.
53. Eidelman Y, Glat PM, Pachter HL, Cabrera R, Rosenberg C. The effects of topical hypothermia and steroids on ATP levels in an in vivo liver ischemia model. *J Trauma* 1994;37:677–81.
54. Vyas SK, Leyland H, Gentry J, Arthur MJ. Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture. *Gastroenterology* 1995;109(3): 889-98.
55. Fausto N .Liver regeneration. *J Hepatol* 2000;32:1931-2.
56. Ethier C, Kestekian R, Christine B, Dube C, Havrankova J, Gascon-Barré M. Vitamin D depletion retards the normal regeneration process after partial hepatectomy in the rat. *Endocrinology* 1990;126(6):2947-59.
57. Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1991;12(2):186-202.
58. Starzl TE, Porter KA, Francavilla JA, Benichou J, Putnam CW. A hundred years of the hepatotrophic controversy. *Ciba Found Symp* 1977;55:111-29.
59. Francavilla A, Zeng Q, Polimeno L. Small-for-size liver transplanted in to larger recipient: a model of hepatic regeneration. *Hepatology* 1994;19:210-16.
60. Souba WW, Wilmore DW. Animals Models of Liver Regeneration. In: Rozga J (Ed.). *Surgical Research*. San Diego California: Academic Press; 2001. p.623-36.
61. McGowan JA, Strain A and Bucher NLR. DNA synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes in a defined medium: Effects of epidermal growth factor, insulin, glucagon and cyclic-AMP. *J Cell Physiol* 1981;108:353-60.
62. Taub R, Greenbaum LE, Peng Y. Transcriptional regulatory signals define cytokine-dependent and independent pathways in liver regeneration. *Sem Liver Dis* 1999;19:117-27.

63. Diehl AM, and Rai RM. Regulation of signal transduction during liver regeneration. *FASEB J* 1996;10:215-227.
64. Marcos A, Fisher RA, Ham JM. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation* 2000;69:1375-9.
65. Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004;39:1477-87.
66. Mars WM, Kim TH, Stolz DB. Immediate early detection of urokinase receptor after partial hepatectomy and its implications for the initiation of liver regeneration. *Hepatology* 1995;21:1695-701.
67. Laurent S, Otsuka M, De Saeger C, Maiter D, Lambotte L, Horsmans Y. Expression of presumed specific early and late factors associated with liver regeneration in different rat surgical models. *Lab Invest* 2001;81:1299-307.
68. Busher N. Regeneration of mammalian liver. *Int Rev Cytol* 1963;15:245-300.
69. Overturf K, Al-Dhalimy M, Ou CN, Finegold M, Grompe M. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult Mouse hepatocytes. *Am J Pathol* 1997;151:1273-80.
70. Fujita M, Fukawa H, Hattori M, Todo S, Ishida Y, Nagashima K. Sequential observation of liver cell regeneration after massive hepatic necrosis in auxiliary partial orthotopic liver transplantation. *Mod Pathol* 2000;13(5):152-7.
71. Schmidt LE, Dalhoff K. Alfa-fetoprotein is a predictor of outcome in acetaminophen-induced liver injury. *Hepatology* 2005;41:26-31.
72. Nelsen CJ, Rickheim DG, Tucker MM, Hansen LK, Albrecht JH. Evidence that cyclin D1 mediates both growth and proliferation downstream of TOR in hepatocytes. *J Biol Chem* 2003;278:3656-63.
73. Selden AC, Hodgson HJF. Growth factors and the liver. *Gut* 1991;32:601-3.
74. Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* 1997;276:60-6.
75. Lindroos PM, Zornegor R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (Hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* 1991;13:743.
76. Fausto N, Campbell JS. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev* 2003;120:117-30.
77. Kay MA, Fausto N. Liver regeneration: prospects for therapy based on new Technologies. *Mol Med Today* 1997;108-15.
78. Nishizaki T, Takenaka K, Yoshizumi T. Alteration in levels of human hepatocyte growth factor following hepatectomy. *J Am Coll Surg* 1995;181:6-10.

79. Kinoshita T, Tashiro K, Nakamura T. Marked increase of HGF mRNA in nonparenchymal liver cells of rats treated with hepatotoxins. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165:1229-34.
80. Panis Y, Lomri N, Emond J.C. Early gene expression associated with regeneration is intact after massive hepatectomy in rats. *J Surg Res* 1998;79:103-8.
81. Nakamura T, Ueno T, Sakamoto M, Sakata R, Torimura T, Hashimoto O et al. Suppression of transforming growth factor- $\beta$  results in upregulation of transcription of regeneration factors after chronic liver injury. *J Hepatol* 2004;419:74-82.
82. Akino K, Akita S, Mizuguchi T, Takumi I, Yu R, Wang X et al. A novel molecular marker of pituitary tumor transforming gene involves in a rat liver regeneration. *J Surg Res* 2005;213-24.
83. Kaibori M, Sakakura Y, Oda M, Okumura T, Kwo AH, Kamiyama Y. Role of hepatocyte growth factor in hepatic ischemia and reperfusion Injury. *Transplant Proc* 2000;32:2285-6.
84. Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor kappaB activation. *Cell Growth Differ* 1999;10:819-28.
85. Yamada Y, Fausto N. Deficient liver regeneration after carbon tetrachloride injury in mice lacking type 1 but not type 2 tumor necrosis factor receptor. *Am J Pathol* 1998;152:1577-89.
86. Rai RM, Lee FY, Rosen A, Yang SQ, Lin HZ, Koteish A et al. Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(23):13829-34.
87. Meissner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful current. *Opin Crit Care* 2005;11: 473-80.
88. Scotte M, Daveau M, Hiron, Tcnikre P, Lebreton P. Absence of expression of interleukin-6 (IL-6) mRNA in regenerating rat liver. *FEBS Lett* 1993;315(2):159-62.
89. Debonera F, Aldeguer X, Shen X, Gelman A, E Gao, F Que et al. Activation of interleukin-6/STAT3 and liver regeneration following transplantation. *J Surg Res* 2001;96:289-95.
90. Akcan A, Kucuk C, Ok E. The effect of amrinone on liver regeneration in experimental hepatic resection model. *J Surg Res* 2006;130:66-72.
91. Salahudeen AK, Clark EC, Nath KA. Hydrogen peroxide-induced renal injury. A protective role for pyruvate in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1991;88:1886- 93.
92. Hashimoto M, Kothary BC, Raper S. The effects of transforming growth factor alpha and somatostatin on regenerating hepatocytes in the rat. *Regul Pept* 1993;44:49-59.
93. Francavilla A, Polimeno L, Barone M. Hepatic regeneration and growth factors. *J Surg Oncol* 1993;13:1-7.

94. Van Thiel DH, Stauber R, Gavalier JS. Hepatic regeneration; Effects of age, sex hormone status, prolactine and cyclosporine. *Dig Dis Sci* 1991;36:1309-12.
95. Svonos GW, Eagon PK, Elm M. Effect of antiandrogen flutamide on measures of hepatic regeneration in rats. *Dig Dsi Sci* 1989;34:1916-23.
96. Hatiboğlu C, Alyanak A, Çetin B, Aslan S, Çetin A. The In Vivo Effect Of Granulocyte Macrophage-colony Stimulating Factor On Kupffer Cell Function After Partial Hepatectomy. *J Med Sci* 2006;26:56-61.
97. Ekberg S, Luther M, Nakamura T. 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.
98. Goss JA, Mangino MJ, Callery MP. Prostaglandin E 2 down regulates kupffer cell production of IL-1 and IL-6 during hepatic regeneration. *Am J Physiol* 1993;601-8.
99. Tsujii H, Okamoto Y, Kikuchi E. Prostaglandin E 2 and liver regeneration. *Gastroenterology* 1993;105:495-9.
100. Negoescu A, Lorimier P, Labant- Moleur F, Drouet C, Robert C, Guillermet C. In situ apoptotic labeling by the TUNEL method: Improvement and evaluation on cell preparations. *J Histochem Cytochem* 1999;44(9):959-68.
101. Sgonc R, Wick G. Methods fort the detection of apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105:327.
102. Bravo R, Frank R, Blundell Pa, Macdonald- Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 1987;326(6112):515-7.
103. Fernandez EB, Sesterhenn IA, McCarthy WF, Mostofi FK, Moul JW. Proliferating cell nuclear antigen expression to predict occult disease in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors. *J Urol* 1994;152(4):1133-8.
104. Kelman Z, Hurwitz J. Protein-PCNA interactions: a DNA-scanning mechanism. *Trends Biochem Sci* 1998;23:236-8.
105. Tsurimoto T. PCNA binding proteins. *Front Biosci* 1999;4:849-58.
106. Nakamura T, Tomita Y, Hirai R, Yamaoka K, Kaji K, Ichiara A. Inhibitory effect of transforming growth factor-B on DNA synthesis of adult rat hepatocytes in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;133:1042-50.
107. Selzner M, Clavien PA. Failure of regeneration of the steatotic rat liver: Disruption at two different levels in the regeneration pathway. *Hepatology* 2000;31:35-42.
108. Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz H.R. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. *Mol Call Biochom* 2005;277:73-80.

109. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* 2002;73:53-63.
110. Sud'ina G, Mirzoeva O, Pushkareva M, Korshunova G, Sumbatyan N, Varfolomeev S. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993;329:21-4.
111. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia* 2002;73:21-9.
112. Wang X, Bowman P, Kerwin S, Stavchansky S. Stability of caffeic acid phenethyl ester and its fluorinated derivative in rat plasma. *Biomed Chromatogr* 2007; 21:343-50.
113. Gokalp O, Uz E, Cicek E, Yilmaz HR, Ozer MK, Altunbas A et al. Ameliorating role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against isoniazid-induced oxidative damage in red blood cells. *Mol Cell Biochem* 2006;290:55-9.
114. Palmes D, Spiegel HU. Animal models of liver regeneration. *Biomaterials* 2004;25(9):1601-11.
115. Ankoma-Sey V. Hepatic regeneration. *News Physiol Sci* 1999;14:149-55.
116. Steer CJ. Liver regeneration. *FASEB J* 1995;9:1396-400.
117. Uemoto S, Inomata Y, Sakurai T. Living donor liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Transplantation* 2000;70:152-7.
118. Diehl AM. Liver regeneration. *Front Biosci* 2002;7:301-14.
119. Bismuth H, Houssin D, Castaing D. Major and minor segmentectomies reglees in liver surgery. *World J Surg* 1982;6:10-7.
120. Court FG, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002;89:1089-95.
121. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2001;48(38):556-62.
122. Fausto N. Hepatic regeneration. In: Zakim D, Boyer TD (Eds.). *Hepatology* Philadelphia:WB Saunders; 1996. p.32-58.
123. Hou Z, Yanaga K, Kamohara Y, Eguchi S, Tsutsumi R, Furu J et al. A new suppressive agent against interleukin-1b and tumor necrosis factor-a enhances liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Hepatol Res* 2003;26:40-6.
124. Fukuhara S, Murga C, Zohar M, Igishi T, Gutkind JS. A novel PDR domain containing guanine nucleotide Exchange factor links heterotrimeric G proteins to RHO. *J Biol Chem* 1999; 274:5868-79.
125. Skoyles JR, Sherry M. Pharmacology, mechanisms of action and uses of selective phosphodiesterase inhibitors. *Br J Anaesth* 1992;68:293-302.

126. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26(4):239-57.
127. Searle J, Kerr JF, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis distinct modes death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 1982;17:229-59.
128. Yamamoto H, Ohdan H, Shintaku S, Miyata Y, Marubayashi S, Asahara T et al. Expression of Bcl-2/Bax mRNA in grafted liver during acute rejection after rat liver transplantation. *Transplant Proc* 1998;30(7):2950-1.
129. Sowa JP, Best J, Benko T, Bockhorn M, Gu Y, Niehues EM et al. Extent of liver resection modulates the activation of transcription factors and the production of cytokines involved in liver regeneration. *World J Gastroenterol* 2008;14(46):7093-100.

## **EKLER**

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

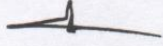
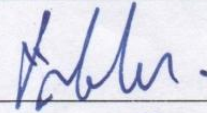
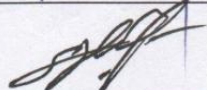
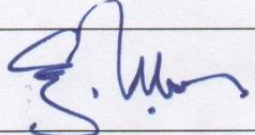
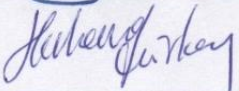
EDİRNE

Oturum Sayısı: 02

Karar Tarihi: 30.03.2012

KARAR NO: 2012.02.02

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Cengiz Erenoğlu'nın yaptığı Dr.Orhan Yağmurkaya'nın Tıpta Uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2012/17 protokol nolu "Deneysel Hepatik Rezeksiyon Modelinde Kafeik Asit Fenetil Esterin Karaciğer Rejenerasyonu Üzerine Etkisi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

| Ünvanı/Adı/Soyadı                                                   | Araştırma ile İlişki                                                    | Toplantı Katılımı                                               | İmza                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Yrd.Doç.Dr. Burhan AKSU<br>Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi              | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA<br>Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi    | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |                                                                                       |
| Vet.Hek. Ziya ÇUKUR<br>Veteriner Hekim                              | <input checked="" type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Hüseyin KOÇ<br>Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye                   | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN<br>Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER<br>Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi          | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |                                                                                       |
| Doç. Dr. Enis ULUÇAM<br>Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi                 | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN<br>Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi              | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |  |
| Osman GÜLTEKİN<br>Sivil Üye                                         | <input type="checkbox"/> var<br><input type="checkbox"/> yok            | <input type="checkbox"/> evet<br><input type="checkbox"/> hayır |                                                                                       |